

بررسی نقش کانال‌های پتاسیمی در اثرات رفع انقباضی کوئرستین بر انقباضات عضلات صاف روده

حسن صدراپی^۱، فائزه بهرامی^۲، مائده قاسمی^{۳*}

^۱گروه فارماکولوژی و سم‌شناسی، دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

^۲دانشکده داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

^۳گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

*نویسنده‌ی مسئول: گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران. ایمیل: ghasemi.m.ph@gmail.com

دریافت: ۱۴۰۳/۰۸/۲۴ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۲

چکیده

مقدمه: کوئرستین یک پلی‌فنول گیاهی طبیعی است که دارای اثرات دارویی متعددی از جمله فعالیت شل‌کنندگی روی عضلات صاف دستگاه گوارش است.

اهداف: هدف این مطالعه بررسی این موضوع است که کانال‌های پتاسیمی به چه میزان در اثرات رفع انقباضی کوئرستین بر انقباضات عضلات صاف روده نقش دارند.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از بافت ایزوله ایلئوم از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (۲۲۰ - ۲۰۰ گرم) در گروه‌های مختلف آزمایشی (n = ۶) استفاده شد. انقباضات ایلئوم توسط دستگاه اسیلوگراف ثبت شد. اثر آنتی‌اسپاسمی دیازوکساید و کوئرستین بر عضلات ایلئوم در پاسخ به اسپاسموژن‌های استیل‌کولین و کلریدپتاسیم (KCl) در حضور مهارکننده کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP (گلی‌بنکلامید) و همچنین مهارکننده غیرانتخابی کانال‌های پتاسیمی (تترااتیل‌آمونیموم) مورد بررسی قرار گرفت. دامنه انقباض عضلات صاف ایلئوم اندازه‌گیری شد و به صورت درصد انقباضات ثبت‌شده قبل از افزودن دارو بیان و با روش‌های آماری تحلیل شد.

نتایج: دیازوکساید اثرات رفع انقباضی بر انقباضات ناشی از KCl (۲۰ میلی‌مولار) و استیل‌کولین داشت. در حضور گلی‌بنکلامید اثر مهاردی دیازوکساید روی اسپاسموژن‌ها به‌طور معنی‌دار مهار شد. تترااتیل‌آمونیموم به‌صورت وابسته به غلظت سبب افزایش انقباض اسپاسموژن‌های KCl و استیل‌کولین گردید. کوئرستین به‌صورت وابسته به غلظت انقباضات ایلئوم ناشی از KCl و استیل‌کولین را مهار کرد. تترااتیل‌آمونیموم (۱ میلی‌مولار) و گلی‌بنکلامید (۵۰ میکرومولار) اثر مهاردی کوئرستین بر انقباضات ناشی از KCl و استیل‌کولین را بلوکه کردند.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان می‌دهد که کوئرستین دارای اثرات رفع انقباضی است و قسمتی از مکانسیم رفع انقباضی کوئرستین روی عضله صاف ایلئوم، از طریق فعال شدن کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP است.

کلمات کلیدی: کوئرستین، رفع انقباض، کانال‌های پتاسیمی، ایلئوم

۱. مقدمه

چای یافت (۲). کوئرستین (2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one) با فرمول شیمیایی C₁₅H₁₀O₇ به‌عنوان یکی از شش زیر مجموعه ترکیبات فلاونوئید طبقه‌بندی می‌شود. کوئرستین در آب به‌طور کامل غیرقابل‌حل یا کم‌محلول است اما در الکل و لیپیدها بسیار محلول است. گلیکوزید کوئرستین (یک گروه گلیکوزیل‌گلوکز، رامنوز یا روتینوز به‌جای گروه‌های OH) حلالیت و جذب بالاتری را در مقایسه با کوئرستین آگلیکون نشان می‌دهد (۲).

مطالعات تجربی امیدوارکننده‌ای در مورد مصرف مکمل

در زندگی امروزه با توجه به استرس‌های موجود و الگوهای نادرست تغذیه‌ای بسیاری از افراد دچار برخی اختلالات گوارشی مانند نفخ، دردهای شدید شکمی، افزایش یا کاهش تحرکات روده، التهابات روده و ... می‌شوند. در سال‌های اخیر توجه بسیاری از محققان به فلاونوئیدها در بهبود یا درمان اختلالات گوارش معطوف شده است (۱). فلاونوئیدها بزرگترین گروه پلی‌فنول‌ها هستند، از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان از کوئرستین نام برد. کوئرستین یک ماده پلی‌فنول گیاهی است که می‌توان آن را به شکل گلیکوزید در سبزیجات مختلف، میوه‌ها، آجیل‌ها، دانه‌های روغنی، شراب قرمز و

بگیرد. در میان انواع مختلف کانال‌های K^+ ، کانال‌های پتاسیم حساس به ATP (KATP) و کانال‌های پتاسیم فعال شده با کلسیم (BKCa) به‌طور ویژه‌ای در تعدیل فعالیت حرکتی عضله صاف روده‌ای مهم هستند (۲۲). استفاده از داروهایی مانند بازکننده‌های کانال پتاسیم (مانند دیازوکسید) به تنظیم انقباضات عضله صاف دستگاه گوارش در شرایطی مانند سندرم روده تحریک‌پذیر، رد شکم و اسپاسم‌های روده‌ای کمک می‌کنند. با این حال، داروهایی مانند دیازوکسید با عوارض جانبی مانند هایپرگلیسمی، افت فشار خون و احتباس مایعات همراه هستند که محدودیت‌هایی در کاربرد بالینی آن‌ها در این اختلالات ایجاد می‌کند.

برخی تحقیقات نشان داده‌اند که کوئرستین یک داروی موثر روی فعالیت کانال‌های یونی است و می‌تواند روی کانال‌های پتاسیم نیز تاثیر بگذارد و به تنظیم فعالیت الکتریکی سلول‌ها کمک کند (۲۳).

۲. اهداف

با توجه به اینکه کانال‌های پتاسیمی در فرایند حفظ پلاریته غشا سلول‌ها، دیپلاریزاسیون یا هایپرپلاریزه شدن غشا اهمیت بالایی دارند (۲۴)، در این مطالعه این فرضیه بررسی شد که آیا اثرات مهارتی کوئرستین روی عضلات صاف ایلهوم می‌تواند از طریق فعال کردن کانال‌های پتاسیمی باشد؟ در این راستا، اثرات کوئرستین روی انقباضات ایلهوم القاشده توسط اسپاسموژن‌های استیل‌کولین و کلریدپتاسیم (KCl) ارزیابی شد. علاوه بر این، حضور و دخالت کانال‌های KATP و کانال‌های پتاسیم فعال شده با کلسیم در مکانیسم شل‌کنندگی کوئرستین با استفاده از مهارکننده‌های خاص، گلی‌بن‌کلامید و تترا اتیل‌آمونیم به ترتیب، بررسی شد. درک این مکانیسم‌ها می‌تواند بینش‌هایی در زمینه کاربردهای درمانی بالقوه کوئرستین در مدیریت اختلالات حرکتی دستگاه گوارش ارائه دهد.

۳. مواد و روش‌ها

۱.۳. دارو و محلول‌ها

محلول فیزیولوژیک تیروید حاوی (میلی مولار): $NaCl = ۱۳۶/۹$ ، $NaHCO_3 = ۱۱/۹$ ، $MgCl_2 = ۱/۰۵$ ، $Glucose = ۵/۵۵$ ، $CaCl_2 = ۰/۴۲$ ، $NaH_2PO_4 = ۲/۶۸$ بود. محلول تیروید روزانه در آب مقطر دوبار تقطیر و اشباع شده با اکسیژن تهیه شد. اسپاسموژن‌های مورد استفاده شامل KCl (۲۰ میلی مولار و ۱۶۰

کوئرستین در بسیاری از کارآزمایی‌های بالینی وجود دارد و نشان داده شده است که دریافت مکمل کوئرستین به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی باعث کاهش فشار خون در بیماران مبتلا به فشار خون بالا، در افراد سیگاری و بیماران دیابتی نوع ۲ شده است (۵-۳). علاوه بر این اثرات درمانی کوئرستین در سرطان‌های دستگاه گوارش از جمله سرطان لوزالمعده، معده، کولورکتال، مری، سلول‌های کبدی و دهان نیز نشان داده شده است (۶). کوئرستین تجمع چربی در سلول‌های بسیار بزرگ چربی انسان را مهار می‌کند و باعث آپوپتوز سلول‌های چربی بزرگ می‌شود (۷). علاوه بر این کوئرستین به دلیل کاهش ترشح اسید معده و افزایش تولید موکوس معده اثر ضد زخم معده دارد (۸). در مطالعات مختلف نشان داده شده است که کوئرستین باعث شل شدن عضلات صاف می‌شود. این ماده انقباض عضلات صاف روده کوچک خرگوش‌ها را با افزایش غلظت نیتریک‌اکسید و ورود کلسیم خارج سلولی مهار می‌کند (۹). در عضله صاف آئورت، کوئرستین به‌عنوان آنتاگونیست کلسیم عمل می‌کند و عضله دیپلاریزه شده را شل می‌کند (۱۰). اثرات ضدفشارخون کوئرستین ممکن است شامل چندین مکانیزم باشد، از جمله کاهش استرس اکسیداتیو، بهبود عملکرد اندوتلیال و عمل مستقیم روی عضلات صاف عروقی (۱۱). کوئرستین به همراه سایر فلاونوئیدها می‌تواند شل شدن وابسته به اندوتلیوم را از طریق افزایش تولید نیتریک‌اکسید و شل شدن مستقل از اندوتلیوم را با مسدود کردن کانال‌های کلسیم و پتاسیم القا کند (۱۲). همچنین کوئرستین عضلات صاف راه‌های هوایی را شل کرده و شل شدن ناشی از بتا-آگونیست را از طریق مهار فسفودی‌استرازها تقویت می‌کند (۱۳). کوئرستین به‌طور مستقیم عضلات صاف معده انسان را از طریق کانال‌های پتاسیم حساس به ATP شل می‌کند (۱۴). علاوه بر این، کوئرستین انقباض آنافیلاکتیک عضله صاف ایلهوم کوچکه هندی را مهار می‌کند، گرچه مکانیزم دقیق آن هنوز مبهم است (۱۵). این مطالعات به‌طور جمعی پتانسیل کوئرستین را به‌عنوان یک شل‌کننده عضلات صاف از طریق مکانیزم‌های مختلف نشان می‌دهد (۱۴، ۱۶-۱۹).

کانال‌های یونی نقش مهمی در تنظیم حرکت دستگاه گوارش دارند (۲۰). بنابراین، عوامل تنظیم‌کننده فعالیت کانال یونی ممکن است بر عملکرد حرکتی دستگاه گوارش تأثیر بگذارند (۲۱). به‌طور کلی پذیرفته شده است که فعال‌سازی کانال پتاسیمی از توسعه پتانسیل‌های عمل در ماهیچه‌های صاف جلوگیری می‌کند، بنابراین برای تنظیم تغییرات در پتانسیل غشا عمل می‌تواند مورد هدف قرار

پایه رسید، برحسب نیاز آزمایش مورد نظر، (۲۰ میلی مولار یا ۱۶۰ میلی مولار) KCl و استیل کولین (۵/۰ میکرومولار) به حمام بافت اضافه و انقباضات ثبت شد.

۴.۳. طراحی مطالعه

این مطالعه شامل گروه‌های زیر بود. گروه‌های کنترل برای ارزیابی انقباضات اولیه ایلئوم در حضور اسپاسموژن‌ها و در نظر گرفتن اثرات احتمالی حلال‌های مورد استفاده برای تهیه داروها (آب مقطر و DMSO) ایجاد شدند. بدین ترتیب بعد از ایجاد انقباض تونیک با KCl (۲۰ میلی مولار و ۱۶۰ میلی مولار) یا انقباض فازیک استیل کولین (۵/۰ میکرومولار)، حجم‌های مساوی از آب مقطر و DMSO مشابه گروه‌های آزمایشی به حمام اضافه شد و تغییرات فعالیت انقباضی مورد بررسی قرار گرفتند. برای گروه‌های مداخله دارویی، گروه کوئرتستین: اثر آنتی اسپاسمی کوئرتستین (۶۴-۵/۰ نانوگرم بر میلی لیتر) روی انقباضات حاصل از اسپاسموژن KCl (۲۰ میلی مولار و ۱۶۰ میلی مولار) مورد بررسی قرار گرفت. پس از ۱۵ دقیقه زمان انقباض تونیک پایدار با KCl کوئرتستین با غلظت‌های فزاینده در فواصل ۵ دقیقه‌ای به حمام بافت اضافه شد. گروه دیازوکساید: اثر آنتی اسپاسمی دیازوکساید (۲۸/۱- میلی گرم بر میلی لیتر، ۲۰ میکروگرم بر میلی لیتر) روی اسپاسموژن KCl (۲۰ میلی مولار و ۱۶۰ میلی مولار) مورد بررسی قرار گرفت. پس از ۱۵ دقیقه زمان انقباض تونیک پایدار با KCl، دیازوکساید به‌طور تجمعی در فواصل ۵ دقیقه‌ای به حمام بافت اضافه شد. گروه‌های مهارکننده: بافت‌ها به مدت ۱۰ دقیقه قبل از افزودن کوئرتستین یا دیازوکساید با گلی بنکلامید (۵۰ میکرومولار) یا تترا اتیل آمونیوم (۱۰ میکرومولار) پیش درمان شده بودند تا از مسدود شدن کامل کانال‌های پتاسیمی اطمینان حاصل شود. همچنین اثرات داروهای فوق روی انقباضات فازیک ایلئوم ناشی از استیل کولین (۵/۰ میکرومولار) هم مورد بررسی قرار گرفت. استیل کولین به مدت ۳۰ ثانیه با بافت در تماس بود. بررسی اثرات کوئرتستین و سایر داروها نیز بر پاسخ‌های استیل کولین به صورت غیر تجمعی مورد بررسی قرار گرفت. هر گروه آزمایشی روی حداقل ۶ بافت ایلئوم جدا شده از ۶ حیوان مختلف انجام شد (تصویر ۱). حجم مواد افزوده شده به حمام از ۵ درصد حجم حمام تجاوز نمی‌کرد و غلظت‌های مناسب پس از یک سری آزمایشات مقدماتی انتخاب شدند (۲۵).

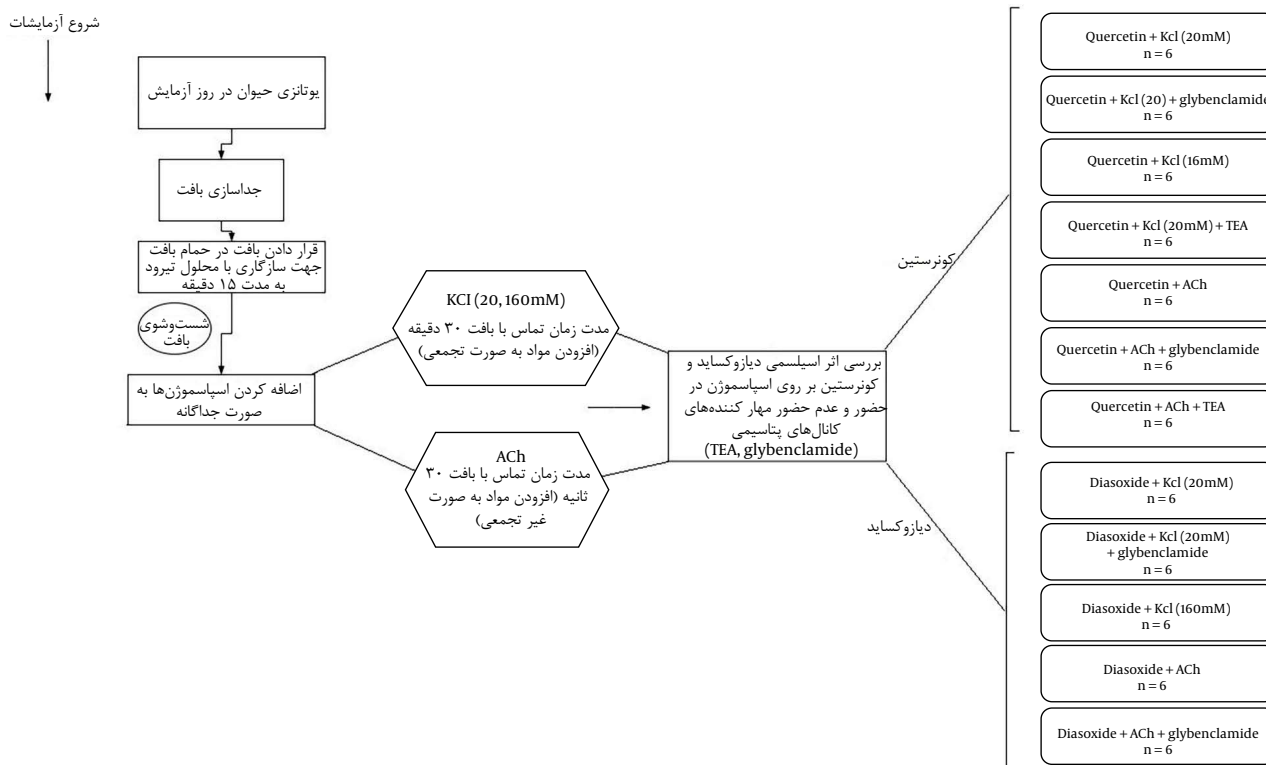
میلی مولار) و استیل کولین (۱/۰ میکرومولار) بودند. دیازوکساید به صورت محلول ۸ میکرومولار در حلال آب مقطر دوبار تقطیر تهیه شد. تترا اتیل آمونیوم به صورت محلول ۱۰ میکرومولار در آب مقطر دوبار تقطیر تهیه شد. گلی بنکلامید به صورت محلول ۵۰ میکرومولار در حلال (۱/۰ درصد) DMSO تهیه شد. کوئرتستین نیز با حلال DMSO با غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر تهیه شد.

۲.۳. حیوانات مورد مطالعه

در این تحقیق اثرات ضد اسپاسم کوئرتستین روی بافت ایلئوم ایزوله شده از ۷۲ موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار جهت مطالعات *in vitro* مورد بررسی قرار گرفت. حیوانات از مرکز پرورش حیوانات دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تهیه شدند. جهت نگهداری و جابه‌جایی حیوانات به نکات زیر توجه شد: حیوانات در قفس‌های تمیز استاندارد و مناسب با اندازه حیوانات که کف آن با پوشال پوشیده شده نگهداری شدند. حیوانات دسترسی کامل به آب و غذا داشتند. شرایط تنظیم دما و هوای تنفسی برای حیوان فراهم بود. حیوانات تحت کمترین استرس، آسیب و جراحی جابه‌جا می‌شدند. تمام روش‌های تجربی بر اساس دستورالعمل‌های اخلاقی که توسط کمیته اخلاق مؤسسه تأیید شده بود، انجام شد (IR.MUI.AEC.1401.008).

۳.۳. آماده‌سازی بافت

در هر روز آزمایش، یک عدد موش صحرایی به وسیله گاز دی‌اکسید کربن قربانی گردید و حفره شکمی کاملاً باز شد. بافت ایلئوم با دقت جدا شد و در محلول فیزیولوژیک تیروید اکسیژن‌دار در دمای اتاق قرار گرفت. ایلئوم به قطعات ۱-۲ سانتی‌متری برش داده شده و بافت‌های چربی همراه بافت ایلئوم از آن جدا گردید و در حمام بافت قرار داده شد که حاوی محلول تیروئید با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بود و به صورت مداوم با اکسیژن گازدهی می‌شد. یک سر بافت ثابت شد و سر دیگر به یک حسگر نیروی ایزوتونیک متصل شد که به یک اسیلوگراف برای ثبت انقباضات متصل بود. مبدل ایزوتونیک تحت کشش استراحتی به مقدار ۱ گرم بود. انقباضات بافتی قلم‌کالیبره شده اسیلوگراف هاروارد روی کاغذ مدرج مخصوص ثبت گردید. قبل از شروع آزمایش، ابتدا بافت با محلول تیروید چند مرحله شسته شد و اجازه داده شد حداقل ۲۰ دقیقه با شرایط جدید سازگار شود. هنگامی که بافت به پایداری رسید و انقباضات آن به سطح



تصویر ۱. در این تصویر الگوی زمانی انجام آزمایشات، گروه بندی بافتها در آزمایشات *EX VIVO* و حجم نمونه های مورد آزمایش نمایش داده شده است.

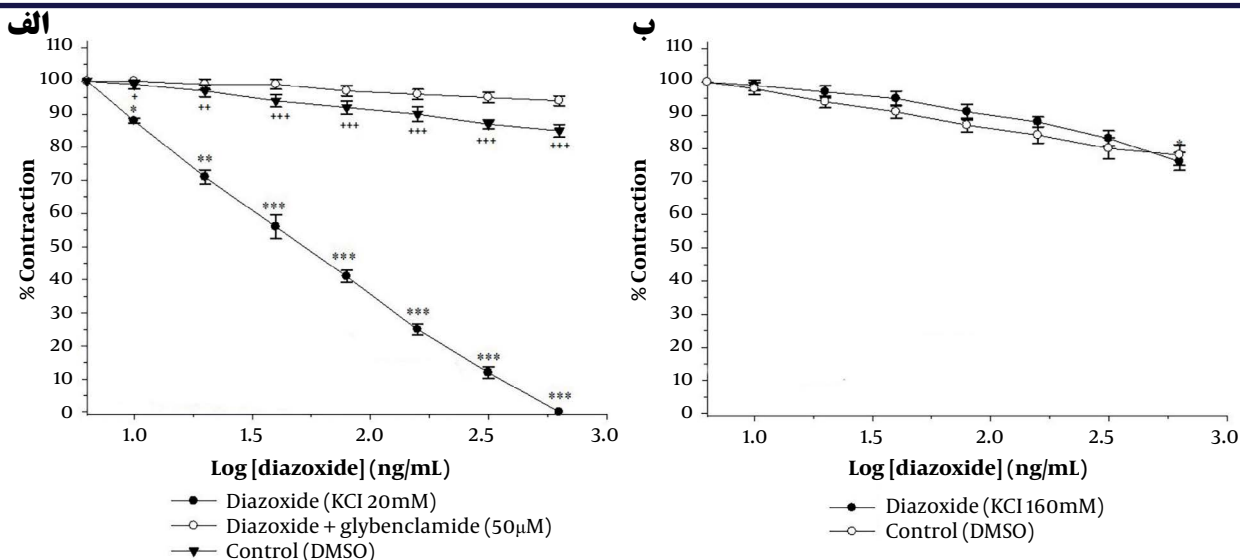
۴. نتایج

۱.۴. اثرات دیازوکساید و کوئرستین بر انقباضات القاشده توسط KCl

بافت ایلیوم ایزوله قرار گرفته تحت کشش یک گرم در حمام بافت، انقباضات ریتمیک خودبه خودی ایجاد کرد. افزودن KCl (۱۶ و ۲۰ میلی مولار) به داخل حمام، انقباض تونیک ایلیوم را ایجاد کرد که در طول آزمایش حفظ شد. دیازوکساید (بازکننده کانال K_{ATP}) به صورت وابسته به غلظت، پاسخ القاشده توسط (۲۰ میلی مولار) KCl را مهار کرد اما روی اسپاسم ناشی از (۱۶۰ میلی مولار) KCl اثر مهاری نداشت (تصویر ۲ الف و ب). اثر مهاری دیازوکساید به طور معنی دار ($P < 0.001$) از غلظت ۲۰ نانوگرم بر میلی لیتر مشاهده گردید (تصویر ۲). گلی بنکلامید اثر آنتی اسپاسمی دیازوکساید بر اسپاسم ناشی از (۲۰ میلی مولار) KCl را مهار کرد (تصویر ۲ الف).

۵.۳. آنالیز یافته ها

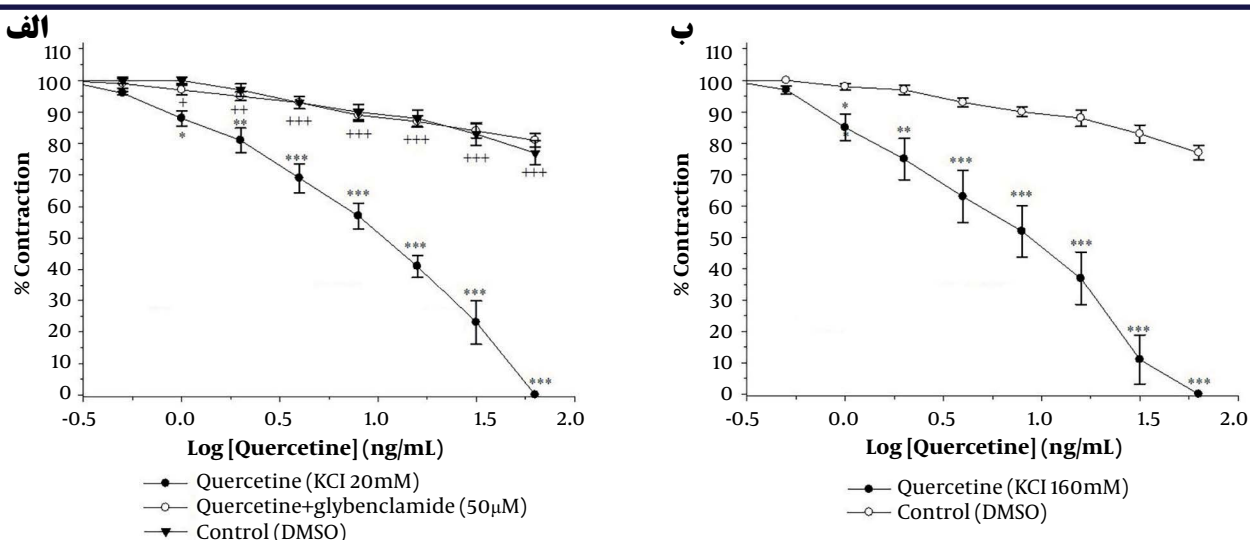
انقباض ایلیوم ثبت شده با سنجش ارتفاع انقباض از نقطه تونوسیتته پایه اولیه اندازه گیری شد و به عنوان درصدی از انقباض ثبت شده قبل از افزودن کوئرستین بیان شد. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد میانگین (SEM) بیان شده و به صورت منحنی غلظت-پاسخ نیمه لگاریتمی ترسیم شدند. همچنین، غلظتی از دارو که منجر به ۵۰ درصد حداکثر اثر مهاری (IC_{50}) شده بود نیز محاسبه شد. برای تجزیه و تحلیل آماری داده های غلظت پاسخ از آنالیز واریانس دوطرفه برای مقایسه درون و برون گروهی، از آزمون آماری t و آنالیز واریانس یک طرفه با آزمون تعقیبی توکی برای مقایسه تفاوت های بین گروهی در غلظت های معینی استفاده شد. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد. برای تجزیه و تحلیل آماری و رسم نمودارها از برنامه کامپیوتری GraphPad Prism (نسخه ۸) استفاده شد.



تصویر ۲. اثر رفع انقباضی دیازوکساید بر انقباضات ناشی از KCl در ایلئوم جداشده رت. الف، اثر رفع انقباضی دیازوکساید بر انقباضات ناشی از KCl (۲۰ میلی مولار) در حضور و عدم حضور گلی بنکلامید (۵۰ میکرومولار)؛ ب، اثر رفع انقباضی دیازوکساید بر انقباضات ناشی از KCl (۱۶۰ میلی مولار). محور عمودی نمودار نشان دهنده درصد پاسخ انقباضی و محور افقی نمودار نشان دهنده 10_{-log} غلظت دیازوکساید است. نقاط روی منحنی، میانگین \pm SEM را نشان می دهند ($n=6$). * تفاوت معنی دار نسبت به کنترل را نشان می دهد ($P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$) و + نشان دهنده معنی داری بین دو گروه KCl است ($P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$).

میلی مولار و ۱۶۰ میلی مولار) توسط کوئرسستین در غلظت ۰/۵ میکروگرم بر میلی لیتر مشاهده شد ($P < 0.05$) و با غلظت ۶۴ میکروگرم بر میلی لیتر انقباضات به طور کامل مهار گردید ($P < 0.001$) (تصویر ۳ الف و ب). معادل حجمی حامل (DMSO)، اثر مهاری معنی داری روی انقباضات ناشی از KCl نداشت (ANOVA).

کوئرسستین انقباضات ناشی از اسپاسموژن ها را بلوکه کرد. اثر کوئرسستین در شرایط مشابهی با دیازوکساید مقایسه گردید. اثر مهاری کوئرسستین روی انقباضات تونیک ناشی از (۲۰ میلی مولار) KCl به صورت وابسته به غلظت بود و برخلاف دیازوکساید، کوئرسستین اسپاسم ناشی از KCl (۱۶۰ میلی مولار) را هم مهار کرد. شروع اثر مهاری انقباضات ناشی از KCl (۲۰

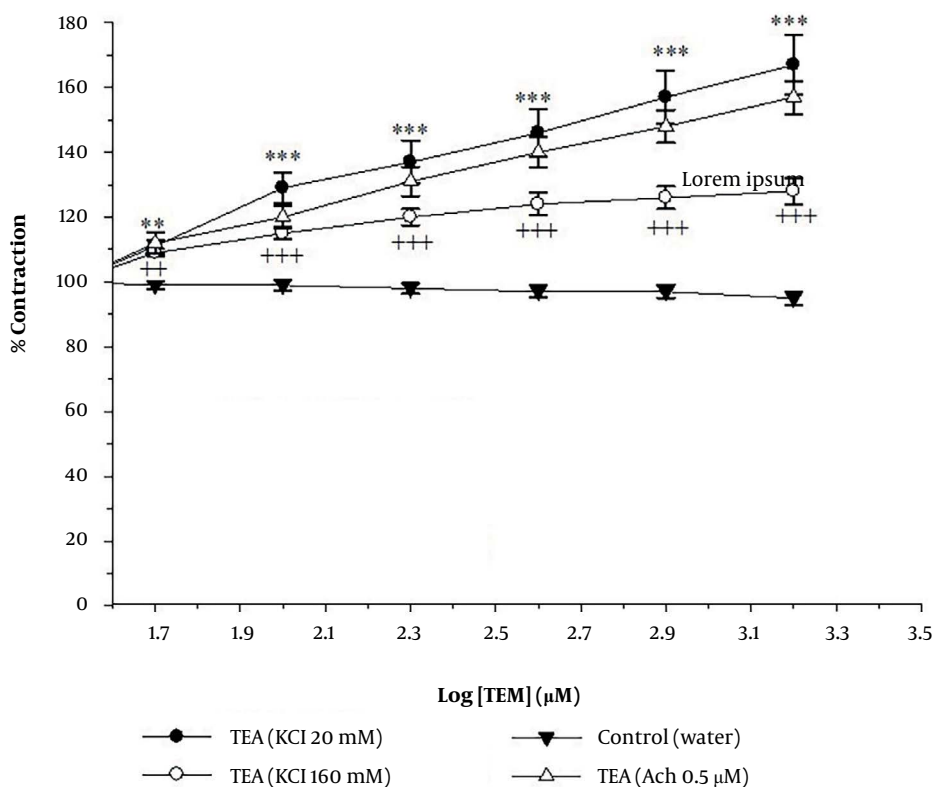


تصویر ۳. اثر رفع انقباضی کوئرسستین بر انقباضات ناشی از KCl در ایلئوم جداشده رت. الف، اثر رفع انقباضی کوئرسستین بر انقباضات ناشی از KCl (۲۰ میلی مولار) در حضور و عدم حضور گلی بنکلامید (۵۰ میکرومولار)؛ ب، اثر رفع انقباضی کوئرسستین بر انقباضات ناشی از KCl (۱۶۰ میلی مولار). محور عمودی نمودار نشان دهنده درصد پاسخ انقباضی و محور افقی نمودار نشان دهنده 10_{-log} غلظت کوئرسستین است. نقاط روی منحنی، میانگین \pm SEM را نشان می دهند ($n=6$). * تفاوت آماری معنی دار نسبت به گروه کنترل است ($P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$) و + تفاوت آماری معنی دار بین اثر کوئرسستین بر انقباض ناشی از KCl (۲۰ میلی مولار) در حضور و عدم حضور گلی بنکلامید است ($P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، $P < 0.001$).

۲.۴. مهار کانال‌های پتاسیم حساس به PTA بر اثرات آنتی‌اسپاسمی ديازوکسید و کوئرستین

گلی‌بنکلامید (۵۰ میکرومولار) اثر آنتی‌اسپاسمی کوئرستین روی اسپاسم ناشی از KCl (۲۰ میلی‌مولار) را به‌طور کامل مهار کرد (تصویر ۳ الف). در بررسی میزان دخالت کانال‌های پتاسیمی وابسته به کلسیم (BK channels) در رفع انقباض

ناشی از کوئرستین، از تترا اتیل‌آمونیم استفاده گردید. اضافه کردن تترا اتیل‌آمونیم در حمام بافت به‌صورت وابسته به غلظت باعث افزایش اثر اسپاسم بافت ایلئوم در اثر KCl (۲۰ میلی‌مولار و ۱۶۰ میلی‌مولار) شد. همچنین شروع اثر تترا اتیل‌آمونیم با غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد ($P < 0.05$) و در غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بیشترین انقباضات مشاهده گردید ($P < 0.001$) (تصویر ۴).

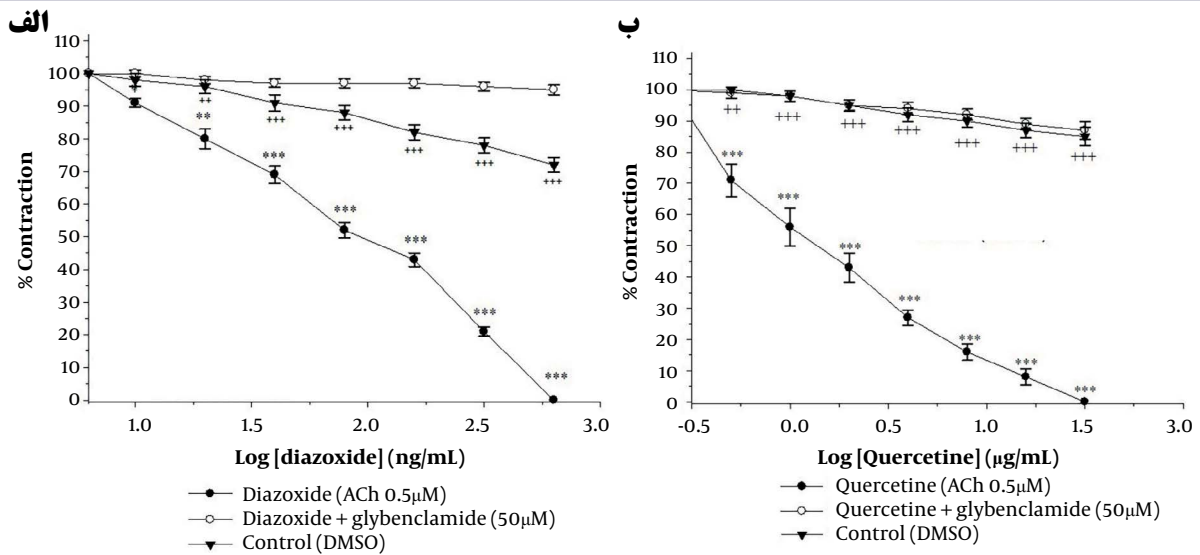


تصویر ۴. اثر تترا اتیل‌آمونیم بر انقباضات ناشی از KCl (۲۰ میلی‌مولار یا ۱۶۰ میلی‌مولار) و استیل‌کولین (۵۰ میکرومولار) در ایلئوم رت. محور عمودی نمودار نشان‌دهنده درصد پاسخ انقباضی و محور افقی نمودار نشان‌دهنده غلظت تترا اتیل‌آمونیم است. نقاط روی منحنی، میانگین \pm SEM را نشان می‌دهند ($n=6$). * تفاوت آماری معنی‌دار با گروه کنترل است ($P < 0.001$), ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. + تفاوت آماری معنی‌دار با گروه KCl (۱۶۰ میلی‌مولار) در حضور تترا اتیل‌آمونیم است ($P < 0.01$ و $P < 0.001$).

۳.۴. اثرات ديازوکسید و کوئرستین بر انقباضات القاشده توسط استیل‌کولین

افزودن استیل‌کولین (۵۰ میکرومولار) به حمام بافت باعث انقباض فازیک در مدت زمان تماس با بافت شد و پس از شست‌وشو به تونوسیتة پایه بازگشت. پاسخ انقباضی استیل‌کولین در آزمایش‌های جداگانه، توسط ديازوکساید یا کوئرستین به‌طور معنی‌دار مهار گردید (ديازوکساید $P < 0.01$ و کوئرستین $P < 0.05$) (تصویر ۵ الف و ب). اثر مهاری کوئرستین و ديازوکساید بر پاسخ فازیک ناشی از استیل‌کولین (۵۰ میکرومول) به‌صورت وابسته به غلظت بودند. شروع اثر کوئرستین در غلظت

۰/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده و انقباضات در غلظت ۳۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌طور کامل مهار گردید (تصویر ۵ ب) و گلی‌بنکلامید اثر آنتی‌اسپاسمی کوئرستین (۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) بر اسپاسم ناشی از استیل‌کولین را (۵۰ میکرومولار) را به‌طور معنی‌دار ($P < 0.05$) بلوکه کرد (تصویر ۵ ب). اثر ضداسپاسمی ديازوکساید با غلظت ۲۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر در حمام بافت شروع شده و در غلظت ۶۲۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر حداکثر مهار انقباضات مشاهده شد (تصویر ۵ الف). گلی‌بنکلامید ۵۰ میکروگرم اثر آنتی‌اسپاسمی ديازوکساید (۸ نانوگرم بر میلی‌لیتر) را به‌طور معنی‌دار ($P < 0.01$) بلوکه کرد (تصویر ۵ الف).

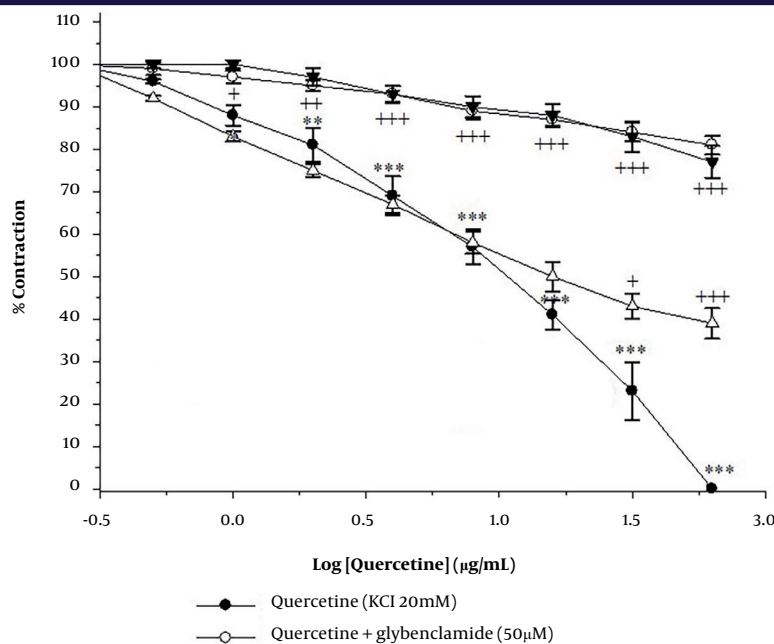


تصویر ۵. اثر رفع اسپاسمی دیازوکساید بر اسپاسم ناشی از استیل کولین در حضور و عدم حضور گلی بنکلامید در ایلئوم جدا شده رت. الف، اثر رفع اسپاسمی دیازوکساید بر اسپاسم ناشی از استیل کولین (۵/۰ میکرومولار) در حضور و عدم حضور گلی بنکلامید (۵۰ میلی مولار)؛ ب، اثر رفع اسپاسمی کوئرستین بر اسپاسم ناشی از استیل کولین (۵/۰ میکرومولار) در حضور و عدم حضور گلی بنکلامید (۵۰ میلی مولار). محور عمودی نمودار نشان دهنده درصد پاسخ انقباضی است. * تفاوت آماری معنی دار نسبت به گروه کنترل است ($P < 0.001$). در گراف ۴ الف تفاوت آماری معنی دار بین گروه دیازوکساید در حضور گلی بنکلامید با گروه دیازوکساید در عدم حضور گلی بنکلامید است ($P < 0.001$ و $P < 0.01$). در بخش ب تفاوت آماری معنی دار بین گروه کوئرستین در حضور گلی بنکلامید با گروه کوئرستین در عدم حضور گلی بنکلامید است ($P < 0.01$ و $P < 0.001$).

اسپاسم ناشی از KCl (۲۰ میلی مولار) را بلوکه کرد (تصویر ۶، $P < 0.001$) معادل حجمی حامل تترا اتیل آمونیوم (آب مقطر دوبار تقطیر)، اثر معنی داری روی انقباضات ناشی از KCl نداشت.

۴.۴. مهار کانال های پتاسیمی با تترا اتیل آمونیوم (AET) بر اثرات آنتی اسپاسمی دیازوکساید و کوئرستین

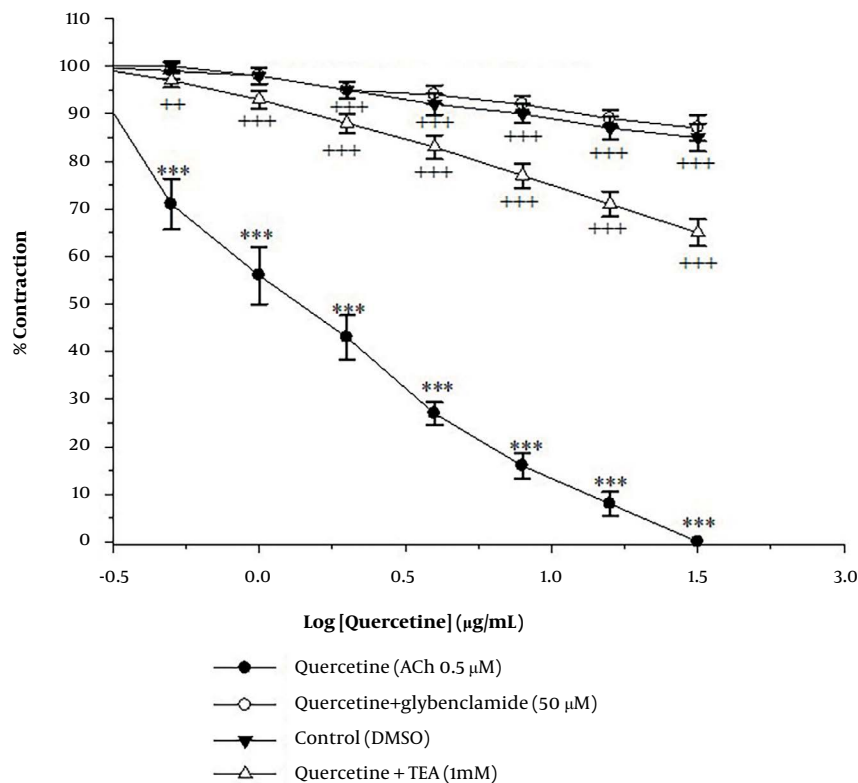
تترا اتیل آمونیوم (۱ میلی مولار) اثر مهاری کوئرستین بر



تصویر ۶. مقایسه اثر رفع اسپاسمی کوئرستین بر اسپاسم ناشی از KCl (۲۰ میلی مولار) در غیاب و حضور تترا اتیل آمونیوم (۱ میلی مولار) در ایلئوم موش صحرایی. محور عمودی نمودار نشان دهنده درصد پاسخ انقباضی است. * نشان دهنده تفاوت آماری معنی دار نسبت به گروه کنترل است ($P < 0.001$ ، $P < 0.01$). تفاوت آماری معنی دار با گروه کوئرستین و KCl (۲۰ میلی مولار) در حضور تترا اتیل آمونیوم و گلی بنکلامید است ($P < 0.05$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.001$).

($P < .$) معادل حجمی حامل تترا اتیل آمونیوم (آب مقطر دوبار تقطیر) اثر مهاری معنی داری روی انقباضات ناشی از استیل کولین نداشت.

تترا اتیل آمونیوم (۱ میلی مولار) باعث افزایش اسپاسم اولیه ناشی از استیل کولین (۵/۰ میکرومولار) شد (تصویر ۷). تترا اتیل آمونیوم اثر مهاری کوثرستین روی اسپاسم ناشی از استیل کولین (۱/۰ میکرومولار) را بلوکه کرد (تصویر ۷، ۰/۰۱).



تصویر ۷. مقایسه اثر تترا اتیل آمونیوم (۱ میلی مولار) روی اسپاسم ناشی از استیل کولین (۵/۰ میکرومولار) در حضور و غیاب کوثرستین و گلی بنکلامید در ایلئوم موش صحرایی. محور عمودی نمودار نشان دهنده درصد پاسخ انقباضی است. * نشان دهنده تفاوت آماری معنی دار نسبت به گروه کنترل است ($P < 0.001$). تفاوت آماری معنی دار بین گروه کوثرستین در حضور تترا اتیل آمونیوم و گروه کوثرستین در عدم حضور تترا اتیل آمونیوم و گلی بنکلامید است ($P < 0.001$ و $P < 0.001$).

۵. بحث

یا لیگاند آغاز شود، همچنین با انتشار یون Ca^{2+} از شبکه سارکوپلاسمی به واسطه اینوزیتول تری فسفات (IP_3) هم این روند ایجاد می شود (۲۷، ۲۸). در مطالعه حاضر از دو محرک انقباضی KCl و استیل کولین در شرایط *in vitro* استفاده گردید. افزودن KCl به حمام بافت منجر به دپلاریزاسیون سلول های ماهیچه ای صاف می شود و در نتیجه کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ فعال می شود (۲۹).

استیل کولین گیرنده های موسکارینی را روی ماهیچه های صاف فعال می کند که به نوبه خود آنزیم فسفولیپاز C را فعال کرده و تولید IP_3 را افزایش می دهد (۳۰). همچنین گزارش شده است که تحریک گیرنده های موسکارینی، کانال های پتاسیمی حساس به ATP را در عضلات صاف روده مهار می کند؛ در نتیجه به دپلاریزاسیون غشا و انقباض عضلات صاف کمک می کند (۳۱). نیروی محرکه یون ها برای حرکت در سراسر غشای سلولی، توسط گرادیان غلظت

ایلئوم بخش بزرگی از روده باریک را تشکیل می دهد (۲۶). دو لایه از سلول های ماهیچه ای صاف که در دیواره های ایلئوم قرار دارند، مسئول فعالیت های انقباضی آن هستند. انقباضات خودبه خودی بافت ایلئوم جدا شده از موش صحرایی نشان می دهد که عضله صاف ایلئوم دارای انقباضات غیرارادی است و سلول های ماهیچه ای صاف ایلئوم پیام های عصبی مداومی را از سیستم عصبی انتریک دریافت می کنند که حرکت و ترشحات دستگاه گوارش را تنظیم می کند. فعالیت انقباضی در عضله صاف با یک برهمکنش توسط Ca^{2+} -calmodulin برای تحریک فسفوریلاسیون زنجیره سبک میوزین آغاز می شود (۲۱). در ماهیچه های صاف، روند انقباض می تواند با ورود یون های Ca^{2+} از طریق کانال های کلسیمی وابسته به ولتاژ

ایلتوم دارد و بخشی از مکانسیم عملکردی کوئرتستین از طریق کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP به انجام می‌رسد.

از ویژگی‌های مشخص کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP، مهارشدن این کانال‌ها توسط سولفونیل اوره‌هایی مانند گلی‌بنکلامید است (۳۷، ۳۸). اثرات مهارتی و رفع انقباضی دیازوکساید و کوئرتستین روی انقباضات عضلات صاف بافت ایلتوم جداشده از موش صحرایی توسط گلی‌بنکلامید به‌طور قابل توجهی مسدود شد؛ در نتیجه دخالت کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP در روند ضدانقباضی کوئرتستین را تایید کرد.

تترا اتیل آمونیوم از مهارکننده‌های غیرانتخابی کانال‌های پتاسیمی وابسته به ولتاژ است انواع مختلفی از زیرگروه‌های کانال‌های K⁺ (خانواده‌های Kv1، Kv2 و Kv3) را مسدود می‌کند. همچنین می‌تواند جریان‌های پتاسیم فعال شده با کلسیم را مسدود کند. این مهارکننده با مسدود کردن کانال‌های پتاسیمی طول مدت فعال بودن پتانسیل عمل را افزایش می‌دهند و در نتیجه می‌توانند منجر به افزایش تحریک‌پذیری سلول‌ها شوند (۳۹). اثر مهارتی ترا اتیل آمونیوم روی کانال‌های پتاسیم وابسته به غلظت است. در غلظت پایین، کانال‌های پتاسیم BK را مهار می‌کند، درحالی‌که غلظت‌های بالاتر تمامی کانال‌های پتاسیم وابسته به ولتاژ را مسدود می‌کنند (۴۰). اثرات مهارتی و رفع انقباضی دیازوکساید و کوئرتستین روی انقباضات عضلات صاف بافت ایلتوم جداشده از موش صحرایی، توسط ترا اتیل آمونیوم بلوکه شد. این آزمایش نیز دخالت کانال‌های پتاسیمی فعال شونده توسط کلسیم را در روند ضد انقباضی کوئرتستین تایید می‌کند. اگرچه علاوه بر دخالت کانال‌های KATP و BK در مکانسیم اثر ضداسپاسمی کوئرتستین، بایستی به مسیرهای دیگر از جمله کانال‌های کلسیمی نیز توجه کرد. این ادعا ناشی از اثر مهارتی کوئرتستین بر انقباض ناشی از اسپاسموژن KCl در غلظت ۱۶۰ میلی‌مول است که نیاز به تحقیقات بیشتری دارد.

۱.۵. نتیجه‌گیری

درحالی‌که یافته‌های ما دخالت کانال‌های پتاسیم حساس به ATP و کلسیم فعال شده را در اثرات شل‌کننده کوئرتستین نشان می‌دهد، مطالعات بیشتری برای تأیید این مکانسیم‌ها و کشف سایر مسیرهای بالقوه مورد نیاز است. بنابراین، قبل از اینکه بتوان آن را به‌عنوان یک عامل درمانی جایگزین برای اختلالات حرکتی دستگاه گوارش معرفی کرد، ارزیابی مناسب سایر اثرات فارماکولوژیک آن توصیه می‌شود.

یون پتاسیم و پتانسیل استراحت غشا سلول کنترل می‌شود (۳۲). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد دیازوکساید از انقباض عضلات صاف ایلتوم ناشی از غلظت (۲۰ میلی‌مولار) KCl جلوگیری می‌کند اما در غلظت بالای KCl (۱۶۰ میلی‌مولار) این اثر را ندارد.

دیازوکساید گروه خاصی از کانال‌های پتاسیمی را در غشای سلولی ماهیچه صاف باز می‌کند که به نام کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP (K_{ATP}) معروف هستند (۳۳). این روند منجر به هایپرپلاریزه شدن غشای سلولی و شل شدن بافت می‌شود. هایپرپلاریزاسیون ناشی از دیازوکساید از ورود Ca²⁺ از طریق کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ جلوگیری می‌کند (۳۴).

تحقیقات تاکنون نشان داده‌اند که یکی از مکانسیم‌های تحریکی استیل کولین و فعال‌کننده پروتئین کیناز C بر حرکت گوارش، از طریق مهار فعالیت کانال پتاسیمی وابسته به ATP است که باعث دپلاریزاسیون غشاء و افزایش ورود کلسیم توسط کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ (L type) می‌گردد. مسدودکننده‌های کانال پتاسیمی وابسته به ATP مانند گلی‌بنکلامید نیز ریتم امواج آهسته و فرکانس تولید پتانسیل عمل عضلات صاف دستگاه گوارش را افزایش می‌دهد. از سوی دیگر دیازوکساید، با فعال کردن کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP باعث کاهش میزان کلسیم سلولی و کاهش حرکات گوارشی می‌شود (۳۵). آزمایش‌ها و تحقیقات نشان می‌دهد که فعال‌سازی کانال‌های پتاسیمی وابسته به ATP توسط پروستاگلاندین E₂ از طریق گیرنده EP₂ در روده کوچک موش باعث آرامش عضلات صاف و کاهش فعالیت حرکتی دستگاه گوارش می‌شود (۳۶). در مطالعه‌ای، اثرات شل‌کنندگی کوئرتستین روی عضلات صاف معده بررسی شد. در نتیجه، این مطالعه نشان داد که شل شدن عضلات صاف معده انسان با کوئرتستین مستقیماً از طریق کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP و مستقل از مسیرهای NO رخ می‌دهد اما مسیرهای NO به‌طور غیرمستقیم می‌توانند باعث افزایش cGMP و در نتیجه فعال شدن کانال‌های پتاسیمی (K_{ATP}⁺ و BK_{Ca}) شوند که منجر به شل شدن عضلات صاف می‌شود (۱۴).

نارنژنین، فلاونوئیدی مشابه کوئرتستین، خواص دارویی مشابه دیازوکساید بر ایلتوم روده موش صحرایی نشان داده است. یافته‌ها نشان داده‌اند که اثرات شل‌کنندگی نارنژنین بر عضله صاف ایلتوم، مشابه دیازوکساید، از طریق فعال‌سازی کانال‌های پتاسیمی حساس به ATP اعمال می‌شود (۲۵). در آزمایشات *in vitro* حاضر نیز مشخص شد که کوئرتستین اثر ضدانقباضی و شل‌کنندگی مستقیم بر ماهیچه صاف

References

1. Yao Y, Habib M, Bajwa HF, Qureshi A, Fareed R, Altaf R, et al. Herbal therapies in gastrointestinal and hepatic disorders: An evidence-based clinical review. *Front Pharmacol.* 2022;13:962095. [PubMed ID:36278240]. [PubMed Central ID:PMC9581220]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.962095>.
2. Uyanga VA, Aमेvor FK, Liu M, Cui Z, Zhao X, Lin H. Potential Implications of Citrulline and Quercetin on Gut Functioning of Monogastric Animals and Humans: A Comprehensive Review. *Nutrients.* 2021;13(11). [PubMed ID:34836037]. [PubMed Central ID:PMC8621968]. <https://doi.org/10.3390/nu13113782>.
3. Harwood M, Danielewska-Nikiel B, Borzelleca JF, Flamm GW, Williams GM, Lines TC. A critical review of the data related to the safety of quercetin and lack of evidence of in vivo toxicity, including lack of genotoxic/carcinogenic properties. *Food Chem Toxicol.* 2007;45(11):2179-205. [PubMed ID:17698276]. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.05.015>.
4. Roghani M, BalochMojarad T. [Endothelium-dependent and-independent vascular effect of the flavonoid quercetin in thoracic aorta of diabetic rats]. *Koomesh.* 2005;6(3):223-8. Persian.
5. Dadpey M, Ghorban K, Dadmanesh M. [Histopathological effects of quercetin on liver tissue damage induced by iron oxide and iron oxide nanoparticles in Wistar rats]. *Koomesh.* 2019;21(3):525-34. Persian.
6. Mirazimi SMA, Dashti F, Tobeiha M, Shahini A, Jafari R, Khoddami M, et al. Application of Quercetin in the Treatment of Gastrointestinal Cancers. *Front Pharmacol.* 2022;13:860209. [PubMed ID:35462903]. [PubMed Central ID:PMC9019477]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.860209>.
7. Forney LA, Lenard NR, Stewart LK, Henagan TM. Dietary Quercetin Attenuates Adipose Tissue Expansion and Inflammation and Alters Adipocyte Morphology in a Tissue-Specific Manner. *Int J Mol Sci.* 2018;19(3). [PubMed ID:29562620]. [PubMed Central ID:PMC5877756]. <https://doi.org/10.3390/ijms19030895>.
8. Shams SGE, Eissa RG. Amelioration of ethanol-induced gastric ulcer in rats by quercetin: implication of Nrf2/HO1 and HMGB1/TLR4/NF-kappaB pathways. *Heliyon.* 2022;8(10):e11159. [PubMed ID:36311358]. [PubMed Central ID:PMC9614827]. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11159>.
9. Zhang J, Shao Z-W, Gao Y, Wang Q-Y. Influences of quercetin on contraction of small intestine smooth muscle of rabbits in vitro and its mechanism. *Chinese J Appl Physiol.* 2013;29(2):162-5.
10. Morales MA, Lozoya X. Calcium-antagonist effects of quercetin on aortic smooth muscle. *Planta Med.* 1994;60(4):313-7. [PubMed ID:7938264]. <https://doi.org/10.1055/s-2006-959491>.
11. Larson AJ, Symons JD, Jalili T. Quercetin: A Treatment for Hypertension?-A Review of Efficacy and Mechanisms.

۲.۵. محدودیت مطالعه

مطالعات حاضر یک مطالعه *ex vivo* در زمینه فارماکولوژی و بررسی مکانیسم اثر کوئرستین روی بافت ایلیوم جدا شده از موش صحرایی نر نژاد ویستار است. مطالعه حاضر به دلیل مزایای خاص خود، کاربردهای زیادی دارد، اما محدودیت‌هایی از جمله: عدم دسترسی به آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های اختصاصی جهت بررسی انواع کانال‌های یونی، محدودیت در شبیه‌سازی شرایط فیزیولوژیکی، عدم بررسی عوامل مؤثر بر متابولیسم کوئرستین و عدم امکان ارزیابی عوارض جانبی کوئرستین در شرایط *ex vivo* را می‌توان در نظر گرفت.

تشکر و قدردانی

این پروژه بخشی از پایان‌نامه دکتری داروسازی فائزه بهرامی به‌عنوان دانشجوی دکترای داروسازی در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بود.

مشارکت نویسندگان:

ح. ص. مدیر پروژه بوده و بر مطالعات فارماکولوژیک نظارت داشت. تهیه کوئرستین به عهده ح. ص. بود و ح. ص. و م. ق. مسئول کار تجربی و تجزیه و تحلیل داده‌ها بودند. ح. ص. مسئول نوشتن مقاله بود. همه نویسندگان نسخه نهایی را برای انتشار تأیید کردند.

تضاد منافع:

نویسندگان هیچ تضاد منافع را اعلام نمی‌کنند و مسئول محتوا و نگارش این مقاله هستند.

بازبایی داده‌ها:

مجموعه داده ارائه شده در مطالعه با درخواست از نویسندگان مربوطه در حین ارسال یا پس از انتشار در دسترس است.

کد اخلاق:

مراقبت از حیوانات و آزمایشات مطابق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. این پروژه توسط کمیته اخلاقی دانشگاه (IR.MUI.AEC.1401.008) تأیید شد.

حمایت مالی و معنوی:

این طرح تحقیقاتی با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان (پروژه: ۳۴۰۱۲۵۰) انجام شد.

- Pharmaceuticals (Basel)*. 2010;**3**(1):237-50. [PubMed ID:27713250]. [PubMed Central ID:PMC3991028]. <https://doi.org/10.3390/ph3010237>.
12. Basir SF. Mechanism of Flavonoids Action in Smooth Muscle Relaxation. *World J Pharm Pharm Sci*. 2017;**6**:514-50. <https://doi.org/10.20959/wjpps20179-9992>.
 13. Townsend EA, Emala CW. Quercetin acutely relaxes airway smooth muscle and potentiates beta-agonist-induced relaxation via dual phosphodiesterase inhibition of PLCbeta and PDE4. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2013;**305**(5):L396-403. [PubMed ID:23873842]. [PubMed Central ID:PMC3763034]. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00125.2013>.
 14. Modzelewska B, Drygalski K, Kleszczewski T, Chomentowski A, Korycinski K, Kielczewska A, et al. Quercetin relaxes human gastric smooth muscles directly through ATP-sensitive potassium channels and not depending on the nitric oxide pathway. *Neurogastroenterol Motil*. 2021;**33**(7):e14093. [PubMed ID:33528064]. [PubMed Central ID:PMC8365708]. <https://doi.org/10.1111/nmo.14093>.
 15. Fanning MJ, Macander P, Drzewiecki G, Middleton E. Quercetin inhibits anaphylactic contraction of guinea pig ileum smooth muscle. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1983;**71**(4):371-3. [PubMed ID:6862666]. <https://doi.org/10.1159/000233423>.
 16. Rivero-Segura NA, Zepeda-Arzate EA, Castillo-Vazquez SK, Fleischmann-delaParra P, Hernandez-Pineda J, Flores-Soto E, et al. Exploring the Geroprotective Potential of Nutraceuticals. *Nutrients*. 2024;**16**(17). [PubMed ID:39275153]. [PubMed Central ID:PMC11396943]. <https://doi.org/10.3390/nu16172835>.
 17. Patel RV, Mistry BM, Shinde SK, Syed R, Singh V, Shin HS. Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent. *Europ J Med Chem*. 2018;**155**:889-904. [PubMed ID:29966915]. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.06.053>.
 18. Sadraei H, Tabesh S. Relaxant effect of quercetin on rabbit isolated bladder smooth muscles contractions. *J Herbm Pharm*. 2020;**10**(1):61-7. <https://doi.org/10.34172/jhp.2021.05>.
 19. Luo X, Xue L, Xu H, Zhao QY, Wang Q, She YS, et al. Polygonum aviculare L. extract and quercetin attenuate contraction in airway smooth muscle. *Sci Rep*. 2018;**8**(1):3114. [PubMed ID:29449621]. [PubMed Central ID:PMC5814568]. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20409-x>.
 20. Beyder A, Farrugia G. Ion channelopathies in functional GI disorders. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2016;**311**(4):G581-G6. [PubMed ID:27514480]. [PubMed Central ID:PMC5142191]. <https://doi.org/10.1152/ajp-gi.00237.2016>.
 21. Perrino BA. Regulation of gastrointestinal motility by Ca²⁺/calmodulin-stimulated protein kinase II. *Arch Biochem Biophys*. 2011;**510**(2):174-81. [PubMed ID:21443856]. [PubMed Central ID:PMC3134147]. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2011.03.009>.
 22. Thorneloe KS, Nelson MT. Ion channels in smooth muscle: regulators of intracellular calcium and contractility. *Can J Physiol Pharmacol*. 2005;**83**(3):215-42. [PubMed ID:15870837]. <https://doi.org/10.1139/y05-016>.
 23. Dabrowska A, Zajac M, Bednarczyk P, Lukasiak A. Effect of Quercetin on mitoBK(Ca) Channel and Mitochondrial Function in Human Bronchial Epithelial Cells Exposed to Particulate Matter. *Int J Mol Sci*. 2022;**24**(1). [PubMed ID:36614079]. [PubMed Central ID:PMC9820441]. <https://doi.org/10.3390/ijms24010638>.
 24. Korn SJ, Trapani JG. Potassium channels. *IEEE Trans Nanobioscience*. 2005;**4**(1):21-33. [PubMed ID:15816169]. <https://doi.org/10.1109/tnb.2004.842466>.
 25. Sadraei H, Ghasemi M, Saranji S. Evaluation of spasmolytic effects of naringenin on ileum contraction and intestinal charcoal meal transit: Involvement of ATP-sensitive K⁺ channels. *J Herbm Pharm*. 2022;**11**(2):262-8. <https://doi.org/10.34172/jhp.2022.31>.
 26. Basile EJ, Launico MV, Sheer AJ. *Physiology, Nutrient Absorption*. Treasure Island (FL): StatPearls; 2025.
 27. Ghosh D, Syed AU, Prada MP, Nystoriak MA, Santana LF, Nieves-Cintrón M, et al. Calcium Channels in Vascular Smooth Muscle. *Adv Pharmacol*. 2017;**78**:49-87. [PubMed ID:28212803]. [PubMed Central ID:PMC5439506]. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2016.08.002>.
 28. Narayanan D, Adebisi A, Jaggar JH. Inositol trisphosphate receptors in smooth muscle cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012;**302**(11):H2190-210. [PubMed ID:22447942]. [PubMed Central ID:PMC3378287]. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.01146.2011>.
 29. Ratz PH, Berg KM, Urban NH, Miner AS. Regulation of smooth muscle calcium sensitivity: KCl as a calcium-sensitizing stimulus. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2005;**288**(4):C769-83. [PubMed ID:15761211]. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00529.2004>.
 30. Tanahashi Y, Komori S, Matsuyama H, Kitazawa T, Unno T. Functions of Muscarinic Receptor Subtypes in Gastrointestinal Smooth Muscle: A Review of Studies with Receptor-Knockout Mice. *Int J Mol Sci*. 2021;**22**(2). [PubMed ID:33477687]. [PubMed Central ID:PMC7831928]. <https://doi.org/10.3390/ijms22020926>.
 31. Elorriaga M, Anselmi E, Hernandez JM, D'Ocon P, Ivorra D. The sources of Ca²⁺ for muscarinic receptor-induced contraction in the rat ileum. *J Pharm Pharmacol*. 1996;**48**(8):817-9. [PubMed ID:8887731]. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1996.tb03980.x>.
 32. Chrysafides SM, Bordes SJ, Sharma S. *Physiology, Resting Potential*. Treasure Island (FL): StatPearls; 2025.
 33. Quast U. Potassium channel openers: pharmacological and clinical aspects. *Fundam Clin Pharmacol*. 1992;**6**(7):279-93. [PubMed ID:1490649]. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.1992.tb00122.x>.
 34. Rhodes HJ, Sutter MC. The Action of Diazoxide on Isolated Vascular Smooth Muscle Electrophysiology and Contraction. *Canadian J Physiol Pharmacol*. 1971;**49**(4):276-87. <https://doi.org/10.1139/y71-030>.
 35. Lee YS. Mechanism of apoptosis induced by diazoxide, a K⁺ channel opener, in HepG2 human hepatoma cells. *Arch Pharm Res*. 2004;**27**(3):305-13. [PubMed ID:15089036].

- <https://doi.org/10.1007/BF02980065>.
36. Meves H. The action of prostaglandins on ion channels. *Curr Neuropharmacol*. 2006;**4**(1):41-57. [PubMed ID:18615137]. [PubMed Central ID:PMC2430679]. <https://doi.org/10.2174/157015906775203048>.
37. Yan FF, Casey J, Shyng SL. Sulfonylureas correct trafficking defects of disease-causing ATP-sensitive potassium channels by binding to the channel complex. *J Biol Chem*. 2006;**281**(44):33403-13. [PubMed ID:16956886]. <https://doi.org/10.1074/jbc.M605195200>.
38. Pompermayer K, Amaral FA, Fagundes CT, Vieira AT, Cunha FQ, Teixeira MM, et al. Effects of the treatment with glibenclamide, an ATP-sensitive potassium channel blocker, on intestinal ischemia and reperfusion injury. *Eur J Pharmacol*. 2007;**556**(1-3):215-22. [PubMed ID:17182029]. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.10.065>.
39. Amano T, Fujii N, Kenny GP, Okamoto Y, Inoue Y, Kondo N. Effects of tetraethylammonium-sensitive K(+) channel blockade on cholinergic and thermal sweating in endurance-trained and untrained men. *Exp Physiol*. 2022;**107**(5):441-9. [PubMed ID:35340063]. <https://doi.org/10.1113/EP090251>.
40. Taglialatela M, Vandongen AM, Drewe JA, Joho RH, Brown AM, Kirsch GE. Patterns of internal and external tetraethylammonium block in four homologous K+ channels. *Mol Pharmacol*. 1991;**40**(2):299-307. [PubMed ID:1875913].

Research Article

Examination of the Role of Potassium Channels in the Relaxant Effects of Quercetin on Intestinal Smooth Muscle Contractions

Hasan Sadraei¹, Faezeh Bahrami², Maedeh Ghasemi^{3,*}

¹Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

²School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

³Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

*Corresponding Author: Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Email: ghasemi.m.ph@gmail.com

Received 14/11/2024; Accepted 02/03/2025

Abstract

Background: Quercetin is a natural compound and a plant polyphenol with multiple pharmacological effects on the gastrointestinal system. Studies have shown that quercetin exhibits relaxant effects on the smooth muscles of the gastrointestinal tract, including the ileum.

Objectives: This study aims to evaluate the extent to which potassium channels contribute to the relaxant effects of quercetin on intestinal smooth muscle contractions.

Methods: This study used isolated ileum tissue from male Wistar rats (200 - 220g) in various experimental groups (n = 6). Ileum contractions were recorded using an oscillography device. The antispasmodic effects of diazoxide and quercetin on the ileum muscles in response to spasmogens acetylcholine and KCl were examined in the presence of ATP-sensitive potassium channel inhibitor (glibenclamide) and a non-selective potassium channel inhibitor (tetraethylammonium). The amplitude of ileum smooth muscle contractions was measured and expressed as a percentage of the contractions recorded before drug administration.

Results: Diazoxide had relaxant effects on contractions induced by KCl (20mM) and acetylcholine. In the presence of glibenclamide, the inhibitory effect of diazoxide on spasmogens was significantly reduced. Tetraethylammonium caused a concentration-dependent increase in KCl and acetylcholine-induced spasmogen contractions. Quercetin inhibited ileum contractions induced by KCl and acetylcholine in a concentration-dependent manner. Tetraethylammonium (10 mM) and glibenclamide (50 μ M) blocked the inhibitory effects of quercetin on contractions induced by KCl and acetylcholine.

Conclusion: This study indicates that quercetin possesses relaxant effects and that part of the relaxant mechanism of quercetin on ileum smooth muscle is through the activation of ATP-sensitive potassium channels.

Keywords: Quercetin, Relaxation, Potassium Channels, Ileum