

장 평활근의 수축성에 대한 berberine의 효과

신 동 호

전남대학교 수의과대학
(1994년 1월 25일 접수)

Effect of berberine on intestinal contractility

Dong-ho Shin

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University
(Received Jan 25, 1994)

Abstract : Berberine(10^{-7} - 10^{-5} M) increased the contractility dose-dependently in isolated rabbit ileal and jejunal segments. Atropine and hemicholinium abolished this response but not mecamylamine. Berberine(10^{-8} - 10^{-5} M) enhanced the transmurally-stimulated(80 V, 0.5 ms, 0.05 Hz) twitch response in the isolated guinea-pig ileal segments. Atropine and hemicholinium also abolished this response but not mecamylamine. Effect of KCl, carbachol and histamine were not affected by pretreatment with berberine(10^{-5} M).

The results of our study suggest that berberine increases the intestinal contractility by increasing a small amount of acetylcholine release from the postganglionic parasympathetic nerve terminal but not by a direct activation of muscarinic receptors.

Key words : berberine, intestinal contractility, muscarinic receptor, transmurally-stimulated twitch response

서 론

Berberine은 *Berberis aristata*, *Coptis chinensis* 등과 같은 식물에 함유되어 있는 일종의 alkaloid이며 고대로부터 Asia지역의 여러나라들에서는 사람과 동물의 설사증을 치료하기 위해 널리 사용되어 왔다.¹⁻⁵ 그동안 berberine의 antisecretory,^{6,9} antimicrobial,¹⁰⁻¹² sedative,¹³ hypotensive,¹⁴ cardiotoxic^{15,16} 및 antitumor¹⁷ 효과 등이 보고 되었지만, berberine이 장 평활근의 운동성에 영향을 미치지 때문에 항설사약으로 응용되었으리라는 보고는 없었다. Berberine의 여러가지 효과 가운데 antisecretory, sedative 및 hypotensive 효과 등이 α_2 -adrenoceptor agonists인 xylazine이나^{18,19} clonidine의^{20,21}

작용과 비슷하며, 특히 최근에는 berberine이 human platelet의 α_2 -adrenoceptor를 흥분시켜, cAMP의 농도를 감소시킨다는 보고도 있었다.²²

장 평활근에서 α_2 -adrenoceptor의 흥분은 장의 운동성을 감소시킬 수 있다.^{23,28} Antisecretory 및 antimicrobial 효과 등이 berberine의 항설사작용의 일부를 증대할 수 있으리라 추측할 수도 있겠지만, 장 평활근의 운동성 감소 역시 항설사작용의 기전과 밀접하게 관련될 수 있기 때문에 고대로부터 사람과 동물의 설사증을 치료하기 위해 널리 사용되어 온 berberine의 항설사작용이 장의 운동성 감소에 기인한 것이라 기대하면서 직접 장 평활근의 운동성에 대한 berberine의 효과를 집중적으로 추구해 볼 필요가 절실하다고 생각

*이 논문은 1992년도 전남대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

재료 및 방법

조직표본 : 가토(1.5-2.0kg)를 경동맥을 통하여 실험 사시킨 후 개복하여 공장편 및 회장편을 척출하여 2cm 길이로 절제하여 사용하였다. 전기자극 실험성적을 얻기 위한 실험에서는 guinea-pig(500-600g)를 두부 타격에 의해 죽인 후 회장편을 척출하여 2-3cm 길이로 절제하여 사용하였다.

실험조건 : 가토의 공장편 및 회장편을 modified Krebs solution(120 mM NaCl, 5.9 mM KCl, 2.5 mM CaCl₂, 1.2 mM MgCl₂, 15.4 mM NaHCO₃, 1.2 mM NaH₂PO₄, 11.5 mM dextrose, pH 7.4)이 들어 있는 10ml 용적의 water-jacketed tissue bath 내에 매달았다. Tissue bath 내의 온도는 37℃로 유지하였으며 95% O₂와 5% CO₂의 혼합 gas를 계속 공급하였다. 실험은 2g의 resting tension하에서 실시하였으며, 조직을 매단 후 30-60분을 기다려 자동운동이 일정하게 되었을 때 실험을 시작하였다. 장편의 contractile force는 Grass FT 03 force displacement transducer를 통해 Grass model 79 recorder 상에 기록하였다. Tension vs. time curve 하의 2분 동안의 면적을 Sigma-Scan V3. program을 이용하여 적분함으로써 contractile force의 비교치로 삼았다. Agonist의 투여는 cumulative concentration schedule로 하였으며 antagonists는 agonist 투여 15분 전에 투여하였다.

전기자극 실험성적을 얻기 위한 실험은 guinea-pig 회장편을 80 V rectangular pulse, 0.5 ms duration, 0.05 Hz frequency로 장벽을 통하여(transmurally) 전기 자극하였으며, 1g의 resting tension 하에서 실시하였다.

약물 : 사용한 약물은 berberine HCl, atropine sulfate, hemicholinium-3, mecamlamine HCl, KCl, carbachol chloride, histamine dihydrochloride, verapamil HCl(all from Sigma) 등 이었으며 모든 약물은 증류수에 용해시켜 10⁻³ M의 stock solution을 만들었으며, 0.9% 식염수를 이용해서 필요한 농도로 희석하여 사용하였다. 약물의 1회 투여 volume은 100μl로 하였다.

통계처리 : 결과는 mean±S.E.M.으로 표시하였다. 각 실험군 간의 유의성 검정은 paired Student's t-test로 하였다.

장편의 contractility에 대한 berberine의 효과 : Berberine(10⁻⁷-10⁻⁵M)은 가토의 회장편 및 공장편에서 용량의존적으로 contractility를 증가시켰다(Table 1). 가토의 공장편에서 berberine 10⁻⁵ M에 의한 수축성 증가반응(69.28±2.52%, n=8)이 atropine 10⁻⁵ M의 전처치에 의해 완전히 억제되었다(0, n=8). 또한 가토 공장편에서 berberine 10⁻⁵ M에 의한 수축성 중간반응(97.36±13.56%, n=4)이 verapamil 10⁻⁸ M의 전처치에 의해서도 완전히 억제되었다(0, n=4).

전기자극 실험을 한 guinea-pig 회장편에서도 berberine(10⁻⁸-10⁻⁵ M)은 용량의존적으로 transmurally-stimulated twitch response를 증가시켰으며(Table 3), 이 증가반응을 atropine(10⁻⁷ M)이 완전히 소실시켰다(Fig 1).

Berberine에 의한 가토 장편의 수축반응 증가에 대한 mecamlamine과 hemicholinium의 효과 : 공장편에서 berberine 10⁻⁵ M에 의한 수축성 증가반응이 hemicholinium 10⁻⁵ M의 전처치에 의해서 완전히 억제되었으나, mecamlamine 10⁻⁵ M의 전처치에 의해서는 영향을 받지 않았다(Table 2).

전기자극 실험을 한 guinea-pig 회장편에서도 berberine(10⁻⁷-10⁻⁵ M)에 의한 transmurally-stimulated twitch response가 mecamlamine 10⁻⁵ M의 전처치에 의해서 영향받지 않았으나(Table 3), hemicholinium 3x10⁻⁵M의 전처치에 의해서는 억제되었다(Table 4).

KCl, carbachol, histamine에 의한 가토 장편의 수축에 대한 berberine의 효과 : 공장편에서 KCl 40 mM,

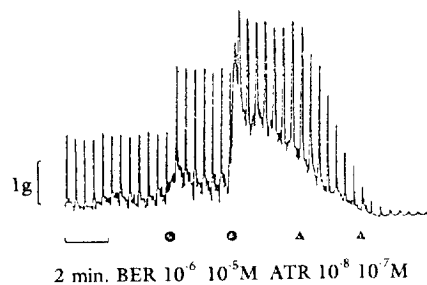


Fig 1. Effect of atropine on berberine(BER)-induced transmurally-stimulated(80 V, 0.5 ms, 0.05 Hz) twitch response in the isolated guinea-pig ileum(representative tracings from n=6 trials). ATR=atropine.

Table 1. Effect of berberine(BER) on the contractility of isolated rabbit intestinal strips

Preparations	n	Concentration of berberine(M)		
		10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵
ileum	4	36.81±4.86	74.00±15.54	175.50±27.38
jejunum	7	33.83±3.37	59.30±8.76	148.10±21.82

Values are expressed as a percentage increase of the pre-BER area under the tension vs. time curve (mean±S.E.M.).

Table 2. Effect of mecamlamine(MEC) and hemicholinium(HEM) on berberine-induced increase in contractile response in the isolated rabbit jejunum

Pretreatment	n	Berberine 10 ⁻⁵ M
Control	5	115.28±27.15
MEC(10 ⁻⁵ M)	5	66.84±12.35
HEM(10 ⁻⁵ M)	5	0*

* P<0.05 compared with control.

Table 3. Effect of mecamlamine(MEC) on berberine-induced increase in transmurally-stimulated twitch response in the isolated guinea-pig ileum

Pretreatment	n	Concentration of berberine(M)			
		10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵
Control	5	9.7±3.3	34.0±10.3	100.1±23.3	170.7±28.2
MEC(10 ⁻⁵ M)	5	-	22.6±12.5	88.6±11.8	167.9±25.2

Values are expressed as a percentage increase of the pre-agonist contractile amplitude(mean±S.E.M.).

Table 4. Effect of hemicholinium(HEM) on berberine-induced increase in transmurally-stimulated twitch response in the isolated guinea-pig ileum

Pretreatment	n	Concentration of berberine(M)		
		10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵
Control	5	30.2±10.3	113.0±30.9	232.3±36.8
HEM(3x10 ⁻⁵ M)	5	0*	1.7±1.6*	17.2±7.0*

Values are expressed as a percentage increase of the pre-agonist contractile amplitude(mean±S.E.M.). *P<0.05 compared with control.

Table 5. Effect of berberine(BER) on KCl, carbachol(CAR) and histamine(HIS)-induced contraction in the isolated rabbit jejunum

Pretreatment	n	KCl(40 mM)	CAR(10 ⁻⁶ M)	HIS(10 ⁻⁵ M)
Control	4	323.12±14.39	328.14±47.13	99.33±12.52
BER(10 ⁻⁵ M)	4	352.46±42.93	350.13±64.11	106.36±2.91

Values are expressed as a percentage increase of the pre-BER area under the tension vs. time curve(mean±S.E.M.).

carbachol 10⁻⁶ M, histamine 10⁻⁵ M 등은 심한 수축반응을 일으켰으며, berberine 10⁻⁵ M의 전처치가 이들의 수축반응에 아무런 영향도 미치지 못 하였다(Table 5).

고 찰

Berberine의 여러가지 효과 가운데 antisecretory,

sedative, hypotensive 효과 등이 α_2 -adrenoceptor의 흥분에 따른 작용과 비슷하며, 특히 최근에 berberine이 human platelet의 α_2 -adrenoceptor를 흥분시켜, cAMP 농도를 감소시킨다는 보고도 있었다.²² 장 평활근에서 α_2 -adrenoceptor의 흥분은 장의 운동성을 감소시킬 수 있기 때문에,^{23,28} berberine이 α_2 -adrenoceptor에 작용하여 장의 운동성 감소를 일으킬 것이고, 이는 곧 berberine의 항설사작용 기전을 설명할 수 있는 근거를 제시할 수 있으리라 기대하였다. 그러나 우리의 기대와는 달리 가토의 회장편 및 공장편에서 berberine(10^{-7} - 10^{-5} M)은 용량의존적으로 수축반응을 일으켰으며, transmurally-stimulated guinea-pig 회장편에서도 berberine(10^{-8} - 10^{-5} M)이 twitch response를 용량의존적으로 증가시켰다. 가토의 공장편에서 berberine 10^{-5} M에 의한 수축성 증가반응이 atropine의 전처치에 의해 완전히 억제되었으며, transmurally-stimulated guinea-pig 회장편에서도 berberine에 의한 twitch response의 증가가 atropine에 의해 완전히 소실되었다. 또한 mecamlamine은 가토 공장편에서나 transmurally-stimulated guinea-pig 회장편에서의 berberine 반응에 별다른 영향을 미치지 못 하였다. 따라서 본 실험에서 나타난 berberine에 의한 수축성 증가반응을 증대하는 데는 nicotinic ganglionic receptor가 관여하는 것이 아니고 postganglionic muscarinic receptor가 관여한 것으로 생각된다.

한편 acetylcholine의 합성을 억제하는 약물인 hemicholinium은 berberine에 의한 수축성 증가작용을 완전히 억제하였다. 또한 매우 소량의 verapamil의 전처치에 의해서도 berberine의 작용이 억제되었다. 이러한 결과는 berberine이 직접 muscarinic receptor를 흥분시켜서 수축성 증가효과를 일으키는 것이 아니라, 간접적으로 postganglionic parasympathetic nerve terminal로부터 소량의 acetylcholine의 유리를 증가시킴으로써 작용하는 것임을 시사한다.

또한 본 실험에서 berberine이 장 평활근의 수축성 감소반응을 일으키지 못하고 수축성 증가반응을 일으켰으며, berberine이 KCl, carbachol 및 histamine 등의 다른 agonists들에 의한 수축반응에도 별다른 영향을 미치지 못 하였다. 이러한 결과는 berberine의 항설사작용 기전이 우리가 기대했던 대로 장 평활근의 운동성 감소에 기인하는 것이 아니고, 오히려 antisecretory 및 antimicrobial 효과가 berberine의 항설사작용과 연관될 수 있음을 시사하고 있다.

가토의 회장편 및 공장편에서 berberine은 용량의존적으로 수축성 증가반응을 일으켰으며 이 반응은 atropine 및 hemicholinium 전처치에 의해서는 완전히 억제되었다. 그러나 mecamlamine은 별다른 영향을 미치지 못 하였다. Transmurally-stimulated guinea-pig 회장편에서도 berberine은 용량의존적으로 twitch response를 증가시켰으며, 이 반응이 atropine 및 hemicholinium에 의해서 완전히 억제되었다. 그러나 역시 mecamlamine은 별다른 영향을 미치지 못 하였다. KCl, carbachol 및 histamine 등과 같은 다른 agonists에 의한 장 평활근의 수축반응에도 berberine이 별다른 효과를 나타내지 못 하였다.

결론적으로 berberine은 장 평활근의 수축성 억제를 일으키는 것이 아니라 오히려 수축성 증가를 일으키며, muscarinic receptor를 직접 흥분시켜 작용하는 것이 아니라 간접적으로 postganglionic parasympathetic nerve terminal로부터 소량의 acetylcholine을 유리시킴으로써 작용한다고 추론하였다.

References

1. Kamath SA. Clinical trials with berberine hydrochloride for the control of diarrhea in acute gastroenteritis. *J Assoc Phys Ind* 1967;15:55-59.
2. Lahiri SC, Dutta NK. Berberine and chloramphenicol in the treatment of cholera and severe diarrhea. *J Ind Med Assoc* 1967;48:1-11.
3. Sharda DC. Berberine in the treatment of diarrhoea in infancy and childhood. *J Ind Med Assoc* 1970;54:22-24.
4. Dutta NK, Marker PH, Rao NR. Berberine in toxin-induced experimental cholera. *Br J Pharmacol* 1972;44:153-159.
5. Yang JZ, Zhang WF. Clinical trials with crude preparations of some Chinese medicinal herbs for the control of diarrhea of neonatal piglets. *Chin J Vet Med* 1980;6:32-33.
6. Sabir M, Akhter MH, Bhide NK. Antagonism of cholera toxin by berberine in the gastrointestinal tract of adult rats. *Ind J Med Res* 1977;65:305-313.
7. Zhu B, Ahrens F. Antisecretory effects of berberine with morphine, clonidine, Lphenylephrine, yohim-

- bine or neostigmine in pig jejunum. *Eur J Pharmacol* 1983;96:11-19.
8. Butler T, Rabbani G, Knight J, et al. Antisecretory activity of berberine sulfate in acute cholera. *Clin Res* 1984;32:511.
 9. Guandalini S, Fasano A, Migliavacca M, et al. Effects of berberine on basal and secretagogue-modified ion transport in the rabbit ileum in vitro. *J Pediatr Gastroenterol* 1987;6:953-960.
 10. Nair S, Modak MJ, Venkatraman A. Vibriostatic action of berberine. *Ind J Pathol Bacteriol* 1967;10:389-391.
 11. Subbaiah TV, Amin AH. Effect of berberine sulphate on *Entamoeba histolytica*. *Nature* 1967;215:527-528.
 12. Amin AH, Subbaiah TV, Abbasi KM. Berberine sulphate : Antimicrobial activity, bioassay and mode of action. *Can J Microbiol* 1969;15:1067-1076.
 13. Shanbhag SM, Kulkarni HJ, Gaitonde BB. Pharmacological actions of berberine on the central nervous system. *Jpn J Pharmacol* 1970;20:482-487.
 14. Chun YT, Yip TT, Lau KL, et al. A biochemical study on the hypotensive effect of berberine in rats. *Gen Pharmacol* 1979;10:177-182.
 15. Jang CS. The action of berberine on mammalian hearts. *J Pharmacol Exp Ther* 1940;71:178-186.
 16. Shaffer JE. Inotropic and chronotropic activity of berberine on isolated guinea-pig atria. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985;7:307-315.
 17. Nishino H, Kitagawa K, Fujiki H, et al. Berberine sulfate inhibits tumorpromoting activity of teleocidin in two-stage carcinogenesis on mouse skin. *Oncology* 1986;43:131-134.
 18. Hatch RC, Booth NH, Clark JD, et al. Antagonism of xylazine sedation in dogs by 4-aminopyridine and yohimbine. *Am J Vet Res* 1982;43:1009-1014.
 19. Hsu WH, Lu ZX, Hembrough FB. Effect of xylazine on heart rate and arterial blood pressure in conscious dogs, as influenced by atropine, 4-aminopyridine, doxapram, and yohimbine. *J Am Vet Med Assoc* 1985;186:153-156.
 20. Spaulding TC, Fielding S, Venafo JJ, et al. Antinociceptive activity of clonidine and its potentiation of morphine analgesia. *Eur J Pharmacol* 1979;58:19-25.
 21. Tamsen A, Gordh T. Epidural clonidine produces analgesia. *Lancet* 1984;2:231-232.
 22. Hui KK, Yu JL, Chan WFA, et al. Interaction of berberine with human platelet α_2 -adrenoceptors. *Life Sci* 1991;49:315-324.
 23. Nakaki T, Chang PCJ, Tokunaga Y, et al. α_2 -adrenoceptors modulating diarrhea in morphine-dependent rats. *J Pharm Pharmacol* 1981;33:397-399.
 24. Ruffolo RR. Use of isolated physiologically responding tissues to investigate neurotransmitter receptors. In : Cohen MM ed. *Monographs in Neural Sciences*. Karger, Basel, Switzerland, 1984;53-84.
 25. Drew GM. Pharmacological characterization of the presynaptic α -adrenoceptors regulating cholinergic activity in the guinea-pig ileum. *Br J Pharmacol* 1978;64:293-300.
 26. Paton WDM, Vizi ES. The inhibitory action of noradrenaline and adrenaline on acetylcholine output by guinea-pig ileum longitudinal muscle strip. *Br J Pharmacol* 1969;35:10-28.
 27. Kosterlitz HW, Lyndon RJ, Watt AJ. The effects of adrenaline, noradrenaline and isoprenaline on inhibitory α - and β -adrenoceptors in the longitudinal muscle of the guinea-pig ileum. *Br J Pharmacol* 1970;39:398-413.
 28. Broadley KJ, Grassby PF. Alpha- and beta-adrenoceptor-mediated responses of the guinea-pig ileum and the effects of neuronal uptake inhibition. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1985;331:316-323.