

李泓宇, 兰瑞, 王漫漫, 等. 小檗碱在缺血性脑卒中神经保护领域的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(2): 129-136.
Li HY, Lan R, Wang MM, et al. Research progress of berberine in the field of neuroprotection in ischemic stroke [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(2): 129-136.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.02.016

小檗碱在缺血性脑卒中神经保护领域的研究进展

李泓宇^{1,2}, 兰瑞^{1*}, 王漫漫^{1,2}, 王玮玮^{1,2}, 张勇³, 唐琛^{1,2}, 刘双^{1,2}

(1.河南中医药大学第一附属医院脑病中心, 郑州 450000; 2.河南中医药大学第一临床医学院, 郑州 450000;
3.郑州大学第三附属医院, 郑州 450000)

【摘要】 小檗碱是一种天然的异喹啉生物碱, 最初可作为广谱抗菌药应用于临床治疗肠炎、消化性溃疡、慢性胃炎、肺炎等疾病。近年来随着对小檗碱药理作用的深入研究, 越来越多证据证明, 小檗碱对缺血性脑卒中具有神经保护作用。在本综述中, 我们介绍了小檗碱对缺血性脑卒中危险因素的干预, 还详细论述了小檗碱在缺血性脑卒中不同机制的神经保护作用, 旨在对本领域的临床和基础研究提供一定的参考。

【关键词】 缺血性脑卒中; 小檗碱; 危险因素; 神经保护; 脑损伤机制

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2024) 02-0129-08

Research progress of berberine in the field of neuroprotection in ischemic stroke

LI Hongyu^{1,2}, LAN Rui^{1*}, WANG Manman^{1,2}, WANG Weiwei^{1,2}, ZHANG Yong³, TANG Chen^{1,2}, LIU Shuang^{1,2}

(1. Encephalopathy Center, the First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China. 2 the First Clinical Medical College of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450000.
3. the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000)

【Abstract】 Berberine is a natural isoquinoline alkaloid that was initially used as a broad-spectrum antibacterial agent in clinical treatment of enteritis, peptic ulcers, chronic gastritis, pneumonia, and other diseases. In recent years, in-depth study of the pharmacological effects of berberine has provided increasing evidence that berberine has neuroprotective effects on ischemic stroke. In this review, we introduce the effect of berberine on risk factors of ischemic stroke and discuss the neuroprotective effects of berberine on various mechanisms of ischemic stroke in detail to provide a reference for clinical and basic research in this field.

【Keywords】 ischemic stroke; berberine; risk factors; neuroprotection; mechanisms of brain injury

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

缺血性脑卒中 (ischemic stroke, IS) 是一种残疾率、复发率和死亡率都很高的脑血管疾病, 它主要是由于脑血管阻塞, 导致局部脑供血功能障碍^[1]。

它的发病率占有所有脑卒中患者的 87%^[2]。目前 IS 的治疗多选用溶栓治疗, 然而, 组织纤溶酶原激活剂有非常窄的治疗时间窗口 (<4.5 h)、选择性疗

【基金项目】 国家自然科学基金 (81973618, 81503422); 河南省中医药科学研究专项课题 (2022JDZX090); 河南省自然科学基金资助项目 (2023000410399)。

【作者简介】 李泓宇 (1999—), 女, 硕士, 研究方向: 中西医结合脑病方向的基础研究。E-mail: lihongyu03042022@163.com

【通信作者】 兰瑞 (1984—), 女, 博士, 副主任医师, 硕士生导师, 研究方向: 中西医结合神经病学相关临床及实验研究。

E-mail: lanrui0312@163.com

效、出血性并发症等缺点。因此,我们迫切需要探索并开发有效治疗 IS 的相关药物。而中草药在治疗 IS 及其后遗症方面有着悠久的历史。小檗碱是一种存在于多种中草药根茎中的异喹啉生物碱,可以治疗包括 IS 在内的多种疾病并在神经保护中发挥着至关重要的作用。本文综述了小檗碱在缺血性脑卒中神经保护领域的现有证据,从而指出其在神经保护方面的潜力。

1 小檗碱的概述

小檗碱是一种黄色结晶粉末状的异喹啉生物碱,它广泛存在于多种草药的根、根茎、茎或树皮中,化学式为 $C_{20}H_{18}NO_4^+$ (图 1),易溶于沸水,微溶于冷水,几乎不溶于乙醇、氯仿和乙醚,2000 多年来,小檗碱一直被中国传统医学用于治疗各种疾病^[3]。最常见的是用作抗菌药,它对痢疾杆菌、大肠杆菌、肺炎双球菌、金黄葡萄球菌、链球菌、伤寒杆菌及阿米巴原虫均有抑制作用,临床主要用于肠道感染及菌痢等。然而,随着研究的不断进展,越来越多证据表明,小檗碱很容易穿透血脑屏障(blood brain barrier, BBB),对帕金森、阿尔茨海默病和蛛网膜下腔出血损伤等多种神经系统疾病具有强大的神经保护作用^[4]。但小檗碱在 IS 的神经保护机制尚不明确,有研究认为,小檗碱对 IS 的神经保护机制和调控自噬反应、抗炎、抑制氧化应激、抑制细胞凋亡、促进血管新生、保护血脑屏障等机制有关。

2 小檗碱对 IS 危险因素的干预

IS 的可干预危险因素包括动脉粥样硬化、高血压、糖尿病、肥胖、血脂异常等,这些危险因素极易引起脑血管持续损伤,诱导神经退行性病变,加重 IS 的发生发展。

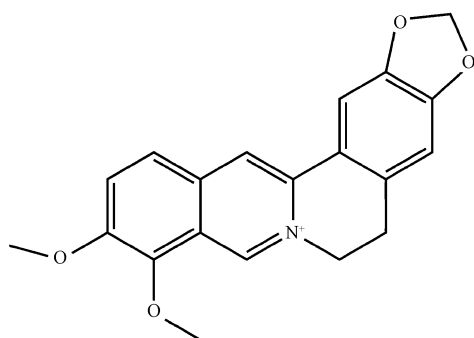


图 1 小檗碱化学式

Figure 1 Chemical formula of berberine

2.1 动脉粥样硬化

动脉粥样硬化是多种心脑血管疾病发病的主要原因之一^[5],也是 IS 发生最常见的诱因。动脉粥样硬化的发病机制很复杂。有研究发现,它与低密度脂蛋白胆固醇氧化、炎症机制、内皮细胞损伤等多种因素有关^[6]。小檗碱可以通过抗炎、抗氧化应激反应、减少内皮细胞损伤等机制来发挥抗动脉粥样硬化的作用。最近研究发现,小檗碱减少了主动脉中活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生,降低了血浆丙二醛(malondialdehyde, MDA)和白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)水平,从而预防了动脉粥样硬化的发生^[7]。而且它还可以通过降低肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 和血清中 IL-6 的表达,来抑制动脉粥样硬化的形成^[8]。除此之外,小檗碱对内皮细胞损伤也具有保护作用。它可以通过激活腺苷 5'-单磷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)信号通路来改善内皮损伤,增强内皮血管舒张^[9]。因此,小檗碱可以有效地改善动脉粥样硬化,从而干预 IS 的发生发展。

2.2 高血压

高血压是所有 IS 患者中最常见的危险因素。它通常被认为是脑血管疾病最重要且可改变的危险因素^[10]。小檗碱的降压作用是通过抑制血管紧张素转换酶活性和调节信号通路来实现的。动物实验证实,小檗碱显著缓解了血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)诱导的高血压小鼠血压的升高、血管功能障碍和病理重塑,从而达到血管保护的作用^[11]。同样,小檗碱还可以通过 ROS/Erk1/2/iNOS 通路降低大鼠的高血压,激活交感系统,达到保护神经的作用^[12]。此外,在临床试验中,小檗碱可以通过增加 CXC 趋化因子受体 4(CXC chemokine receptor 4, CXCR4)信号的传导来增加高血压患者早期内皮祖细胞的内皮修复能力,从而降低血压和预防心脑血管疾病^[13]。

2.3 糖尿病

糖尿病是 IS 的危险因素之一,有糖尿病的患者患 IS 的风险是无糖尿病患者的两倍^[14]。大多数 II 型糖尿病患者都会出现胰岛素抵抗(insulin resistance, IR),这种情况会导致 IS 疾病加重和发展^[15]。而小檗碱可以通过糖酵解、抑制炎症、调节信号通路等途径来改善糖尿病患者的胰岛素抵抗。有研究表明,小檗碱通过增加葡萄糖激酶的活性来

刺激糖酵解,抑制了肝中的糖异生和脂肪生成,从而改善胰岛素抵抗^[16]。同样,小檗碱可以降低白三烯 B4(leukotriene B4,LTB4)诱导的胰岛素抵抗和肝细胞炎症,以及巨噬细胞的趋化性,来达到抗炎和抗糖尿病的功能^[17]。此外,调控信号通路也是改善胰岛素抵抗的重要途径,有丝分裂原/细胞外信号调节激酶激酶 1 (MEK kinase-1, MEKK1) 被认为是小檗碱的靶标,而小檗碱可以通过靶向 MEKK1 途径来改善 TNF- α 诱导的肝胰岛素抵抗^[18]。因此,小檗碱可以通过不同途径改善糖尿病的胰岛素抵抗,从而控制 IS 疾病的加重和发展。

2.4 肥胖

肥胖会诱发多种疾病,特别是心脑血管疾病。有研究表明,小檗碱是一种有效的降胆固醇药物,它可以降低血清胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇,而不影响血清高密度脂蛋白胆固醇水平^[19]。动物实验证实,小檗碱可明显降低小鼠脂肪细胞脂滴的数量和大小,抑制脂肪的生成,从而预防肥胖的发生^[20]。小檗碱预防肥胖的途径还与 AMPK 途径有关,如小檗碱可通过激活脂肪组织和肌肉中的 AMPK 活性,调节代谢基因的表达,抑制脂肪生成,诱导能量消耗,从而使体重减轻^[21];也可以通过增强 AMPK 依赖性脂肪组织甘油三酯脂肪酶的表达,达到预防肥胖的作用^[22]。此外,小檗碱还可以增强脂肪细胞中的基础甘油三酯脂肪分解,并通过过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferators-activated receptor γ , PPAR γ) 和 CCAAT/增强子结合蛋白 α (CCAAT/enhancer binding protein α , CEBP α) 途径抑制前脂肪细胞和脂肪细胞的分离,从而达到减肥作用^[23]。总之,小檗碱可以有效抑制肥胖的发生,从而达到预防 IS 的作用。

2.5 血脂异常

血脂异常是冠状动脉粥样硬化疾病和 IS 的重要危险因素^[24]。已有研究表明,小檗碱可以有效治疗血脂异常。在临床实验中,口服小檗碱 3 个月就可以调节肠道菌群,降低血清甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇的水平^[25],并可以通过促进细胞内胆固醇外排和降低肠细胞对胆固醇的摄取显著缓解血脂异常^[26]。小檗碱还可以通过激活 AMPK 途径来增强脂肪酸氧化和缓解脂质沉积,从而在脂质代谢紊乱的调节中发挥作用。因此,小檗碱被证实可以通过不同机制和途径调控血脂异常,从而达到预防 IS 的作用。

3 小檗碱在 IS 中神经保护的作用机制

3.1 小檗碱参与自噬反应

自噬是溶酶体内重要的分解代谢过程,是 IS 中必不可少的促生存途径^[27]。自噬的作用是双向的,它通常有益于脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia reperfusion injury, CIRI),但是被过度激活后则会加剧 CIRI^[28]。研究发现,小檗碱对 IS 后自噬反应的调节是双向的。LC3 和 p62 是自噬中的重要蛋白质,自噬发生时,细胞质型 LC3-I 会转化为自噬体膜 LC3-II, LC3-II/LC3-I 比值增大^[29]。而自噬相关基因 Beclin-1 与 Bcl-2 家族蛋白持续结合会抑制自噬发生^[30]。用小檗碱治疗后, Bcl-2 与 Beclin-1 持续性结合,过度的自噬反应被降低,随后产生了对大鼠脑神经的保护作用^[31]。相反,小檗碱也可通过促进自噬反应达到神经保护的作用。在动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)大鼠模型大脑中,小檗碱通过激活蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路,增加 LC3-II/LC3-I、Beclin-1 以及降低 p62 的表达来抑制雷帕霉素靶蛋白 (mechanistic target of rapamycin, mTOR) 磷酸化,从而促进自噬并有利于 MCAO 大鼠神经元的恢复^[27]。基于上述研究,小檗碱对自噬的作用比较复杂,一方面抑制自噬,另一方面却促进自噬发挥神经保护作用。虽然近年来关于小檗碱在自噬调控方面具体机制还有待阐明,但无论促进自噬或者抑制自噬,均有利于改善疾病发生发展并有良好的预后。

3.2 小檗碱抑制炎症反应

炎症反应是细胞死亡的主要原因之一,它会导致脑缺血再灌注损伤和继发性损伤^[32]。高迁移率组 1 (high mobility group box 1, HMGB1)、肺腺癌转录本 1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, Malat1) 和 NF- κ B 等促炎介质的表达,直接或间接地促进神经炎症,并使脑梗死和脑水肿面积增加,加重神经功能的损伤^[33]。小檗碱可通过下调 Malat1 和 HMGB1 的表达,减弱神经炎症反应,保护神经元细胞免受脑缺血再灌注损伤^[34]。除此之外,小檗碱的神经保护作用还与靶向信号通路有关。研究发现,小檗碱可以通过靶向丝裂原激活的蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 途径和 AMPK 非依赖性方式下调促炎细胞因子 iNOS、COX-2、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 的水平,并上调抗炎细胞因子 IL-10 的表达,减轻大鼠缺血再灌注

所致的炎症反应,进而发挥脑神经保护作用^[16]。有趣的是,外泌体 miR-182-5p 也参与小檗碱的神经保护作用。它的作用机制可能是小檗碱携带 miR-182-5p 到受伤的神经元,通过抑制神经炎症并改善缺血性脑卒中后的脑损伤,发挥神经保护作用^[35]。由此可见,小檗碱有望成为 IS 的神经保护剂并且有广阔的治疗空间。

3.3 小檗碱调控氧化应激反应

氧化应激反应与 IS 的发病机制密切相关,它是由于 ROS 过度积累导致氧化剂和抗氧化剂失衡,最终导致多种神经系统疾病发生^[36]。有研究表明,ROS 的生成与谷胱甘肽、超氧化物歧化酶、叔丁基过氧化氢等化学物质有关^[36-37]。而小檗碱具有降低 ROS 生成和保护神经细胞免受氧化损伤的潜能,并且在 50 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度下可以显著降低 ROS 生成和脂质过氧化,同时改善谷胱甘肽含量和细胞中的超氧化物歧化酶的活性,并通过抗氧化机制对谷氨酸诱导的 N2a 和 PC12 细胞发挥神经保护作用^[37]。同样,叔丁基过氧化氢 (tert-butyl hydroperoxide, t-BHP) 也会使 ROS 过量产生,随后导致氧化应激,线粒体和溶酶体功能障碍,并激活 PC12 细胞产生凋亡级联反应。小檗碱给药后,过量 ROS 诱导的氧化应激和线粒体自噬反应受到明显抑制,从而恢复部分中枢神经系统的神经功能^[38]。除此之外,小檗碱抗氧化应激的作用还与转录因子 PPAR 有关。PPAR 是配体诱导的转录因子,PPARs 激活会发挥抗氧化作用,而小檗碱可以激活 PPAR δ 来清除 ROS,减轻 CIRI 小鼠的氧化损伤,从而赋予神经保护作用^[39]。综上所述,小檗碱可以通过不同机制使 ROS 的产生和清除间保持平衡,而小檗碱很有可能为 IS 的神经保护提供新的研究方向。

3.4 小檗碱抑制细胞凋亡反应

CIRI 诱导的细胞凋亡是神经细胞死亡的重要途径,它明显加剧了 IS 患者的神经功能缺损^[40]。因此,细胞凋亡在 CIRI 的病理过程中起着至关重要的作用。近几年的研究表明,内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS) 介导的细胞凋亡途径在 IS 的发病机制中是比较经典的,小檗碱可以通过调控 ERS 途径来抑制细胞凋亡,从而达到神经保护的作用^[41-43]。国内学者研究发现,在 MCAO 大鼠模型中,内质网分子伴侣蛋白葡萄糖调节蛋白 78 (glucose regulation protein 78, GRP78) 和冠层成纤维细胞生长因子信号调节器 2 (Canopy 2, CNPY2) 的

表达水平可以反映 ERS 细胞凋亡途径的激活程度^[44]。小檗碱处理后,GRP78 和 CNPY2 的表达水平显著降低,ERS 细胞凋亡途径被抑制,随后促进 CIRI 大鼠神经功能恢复。同样,小檗碱还可以通过抑制 ERS 途径来逆转 PC12 细胞中氧-葡萄糖剥夺/再灌注 (oxygen-glucose deprivation/reoxygenation, OGD/R) 诱导的细胞凋亡,促进 OGD 后的神经恢复^[45]。这表明小檗碱可以通过 ERS 介导的细胞途径抑制细胞凋亡反应,从而促进神经元修复,达到神经保护的作用。

3.5 小檗碱促进血管新生

血管新生是通过刺激血管的生长来实现的,血管的生成可使脑灌注趋于稳定,继而促进神经元的生存,提高大脑可塑性及恢复神经功能^[46]。小檗碱可激活 AMPK 信号通路并在促进血管新生过程中发挥着至关重要的作用。有研究证实,AMPK 信号通路被激活后可介导小胶质细胞从 M1 表型转变为 M2 表型随后促进血管新生。在体内,用小檗碱治疗大脑动脉闭塞小鼠 14 d 后,AMPK 信号通路被激活,促进了 M2 极化并抑制了 M1 极化^[47]。在体外,被小檗碱处理后的脂多糖会诱导小胶质细胞激活 AMPK 信号通路,随后小胶质细胞极化为 M2 表型并促进血管生成^[48]。另外,小檗碱通过激活 HIF-1 α /VEGF 信号转导途径,可增加微血管密度、内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、缺氧诱导生长因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α) 的表达,促进脑缺血再灌注损伤大鼠的血管生成,从而达到神经保护的作用^[49]。

3.6 其他

小檗碱可以减轻兴奋性毒性和保护血脑屏障,并对 IS 发挥神经保护作用。兴奋性毒性会诱导 Ca^{2+} 内流,受损细胞中的 Ca^{2+} 穿过质膜后会导致细胞内 Ca^{2+} 积累,触发各种有害过程,从而导致不可逆的细胞损伤,最终导致细胞凋亡和死亡^[50]。小檗碱具有抑制 Ca^{2+} 内流的作用,可以直接保护 OLN-93 少突胶质细胞免受脑缺血再灌注损伤。在此过程中,细胞内 Ca^{2+} 过载的衰减,使 OLN-93 少突胶质细胞免于兴奋性毒性损伤^[51]。

BBB 是一种极度复杂的结构,它主要是由脑微血管内皮细胞、周细胞、星形胶质细胞和基底膜组成^[52]。它在维持中枢神经系统稳态中起重要作用^[53],IS 后,BBB 紧密连接结构的完整性被破坏,导致细胞通透性增加,继而导致脑水肿、出血和死

亡率增加^[54]。而小檗碱通过调节闭锁小带蛋白 1 (zonula occludens protein 1,ZO-1) 很容易穿过血脑屏障,并对保护血脑屏障的完整性有一定的作用。据报道,小檗碱可以显著性上调 ZO-1、紧密连接蛋白 occludin 的表达量,抑制 NF-κB 的产生,降低炎症因子的释放量,从而发挥对 BBB 的保护作用^[55]。

小檗碱也可以通过调节 SH-SY5Y 细胞表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)激活 JNK/c-Jun 信号通路,促进 JNK/c-Jun 的磷酸化,从而调节 ZO-1 的再分布和闭塞,最终降低 BBB 的通透性,减轻缺血性再灌注损伤达到神经保护的作用^[4](表 1)。

表 1 小檗碱在缺血性脑卒中神经保护领域的意义
Table 1 Significance of berberine in neuroprotection of ischemic stroke

机制 Mechanism	实验对象 Experimental subject	实验结果 Experimental result
抑制自噬 ^[31] Inhibition of autophagy	雄性 SD 大鼠 Male Sprague-Dawley rats	用小檗碱治疗后大鼠脑组织自噬相关因子 LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ 比值、Beclin-1 蛋白表达水平降低,抑制自噬,从而发挥神经保护作用。 Berberine treatment can reduce the ratio of autophagy-related factor LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ and the expression level of Beclin-1 protein in rat brain tissue, which inhibits autophagy and plays a neuroprotective role.
促进自噬 ^[27] Autophagy promotion	雄性 SD 大鼠 Male Sprague-Dawley rats	小檗碱治疗后可以促进自噬并有益于神经元的恢复。 Berberine treatment can promote autophagy and benefit the recovery of neurons.
抑制炎症 ^[33] Suppression of inflammation	雄性 C57BL/6J 小鼠 Male C57BL/6J mice	小檗碱可以减少 HMGB1 分泌和 NF-κB 的核易位,直接或间接地通过减少神经炎症。 Berberine can reduce HMGB1 secretion and nuclear translocation of NF-κB, directly or indirectly by reducing neuroinflammation.
抑制炎症 ^[34] Suppression of inflammation	雄性 C57BL/6J 小鼠 Male C57BL/6J mice	小檗碱可以下调 Malat1 和 HMGB1 表达,然后减弱炎症反应,保护神经元细胞免受 CIRI 损伤。 Berberine can down-regulate the expression of Malat1 and HMGB1, then attenuate the inflammatory response and protect neuronal cells from CIRI injury.
抑制炎症 ^[35] Suppression of inflammation	SD 大鼠 Sprague-Dawley rats	小檗碱还可以通过靶向丝裂原激活的蛋白激酶途径和 AMPK 非依赖性方式下调促炎细胞因子来减少炎症,从而抑制促炎细胞因子的表达。 Berberine can also reduce inflammation by targeting the mitogen-activated protein kinase pathway and down-regulating proinflammatory cytokines in an AMPK-independent manner, thereby inhibiting the expression of proinflammatory cytokines.
抑制炎症 ^[36] Suppression of inflammation	雄性 C57BL/6 小鼠 Male C57BL/6J mice	小檗碱可以携带 miR-182-5p 到受伤的神经元,从而抑制神经炎症并改善缺血性脑卒中后的脑损伤。 Berberine can carry miR-182-5p to injured neurons, thereby inhibiting neuroinflammation and improving brain damage after ischemic stroke.
抗氧化应激 ^[37] Anti-oxidative stress	N2a 和 PC12 细胞 N2a and PC12 cells	小檗碱可以通过抗氧化机制对谷氨酸诱导的 N2a 和 PC12 细胞发挥神经保护作用。 Berberine can exert a neuroprotective effect on glutamate-induced N2a and PC12 cells through an antioxidant mechanism.
抗氧化应激 ^[38] Anti-oxidative stress	PC12 细胞 PC12 cells	小檗碱给药后,过量 ROS 诱导的氧化应激和线粒体自噬反应会受到明显抑制,从而恢复部分中枢神经系统的神经功能。 After berberine administration, excessive ROS-induced oxidative stress and mitophagy can be significantly inhibited, thereby restoring part of the neurological function of the central nervous system.
抗氧化应激 ^[39] Anti-oxidative stress	雄性 C57BL/6 小鼠 Male C57BL/6J mice	小檗碱可以激活 PPARδ 来清除 ROS,减轻大脑氧化损伤反应,从而赋予神经保护作用。 Berberine can activate PPARδ to scavenge ROS and reduce the oxidative damage response in the brain, thus conferring neuroprotection.
抗细胞凋亡 ^[44] Antiapoptosis	SD 大鼠 Sprague-Dawley rats	小檗碱处理后,GRP78 和 CNPY2 的表达水平显著降低,随后 ERS 细胞凋亡途径被抑制。 After berberine treatment, the expression levels of GRP78 and CNPY2 were significantly decreased, followed by inhibition of the apoptotic pathway in ERS cells.

续表1

机制 Mechanism	实验对象 Experimental subject	实验结果 Experimental result
抗细胞凋亡 ^[45] Antiapoptosis	PC12 细胞 PC12 cells	小檗碱可以抑制 ERS 途径来逆转 PC12 细胞中 OGD/R 诱导的细胞凋亡,促进 OGD 后的神经恢复。 Berberine can inhibit ERS pathway to reverse OGD/R-induced apoptosis in PC12 cells and promote neurological recovery after OGD.
促进血管新生 ^[47-48] Promote angiogenesis	雄性 C57BL/6 小鼠 和小胶质细胞 Male C57BL/6 mice and microglia	小檗碱可以通过 AMPK 信号通路激活促进小胶质细胞 M2 极化并抑制 M1 极化来促进血管新生,从而减少 CIRI 达到神经保护的作用。 Berberine can promote the M2 polarization of microglia and inhibit the M1 polarization through the activation of AMPK signaling pathway to promote angiogenesis, thereby reducing CIRI to achieve neuroprotection.
促进血管新生 ^[49] Promote angiogenesis	SD 大鼠 Sprague-Dawley rats	小檗碱通过激活 HIF-1 α / VEGF 信号转导途径,可促进脑缺血再灌注损伤大鼠的血管生成。 Berberine can promote angiogenesis in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury by activating HIF-1 α / VEGF signal transduction pathway.
抑制兴奋性毒性 ^[51] Inhibition of excitotoxicity	OLN-93 少突胶质 细胞 OLN-93 oligodendrocytes	小檗碱保护 OLN-93 少突胶质细胞免受缺血诱导的兴奋性毒性损伤,其机制可能是细胞内 Ca ²⁺ 过载的衰减使 OLN-93 免于兴奋性毒性损伤。 Berberine protects OLN-93 oligodendrocytes from ischemia-induced excitotoxic injury, and the mechanism may be that the attenuation of intracellular Ca ²⁺ overload protects OLN-93 from excitotoxic injury.
保护血脑屏障 ^[55] Protect the blood-brain barrier	大鼠脑微血管内皮 细胞 Rat brain microvascular endothelial cells	小檗碱可以显著性上调 ZO-1、occludin 表达量,抑制 NF- κ B 产生、降低炎性因子释放量,从而发挥对 BBB 的保护作用。 Berberine can significantly up-regulate the expression of ZO-1 and occludin, inhibit the production of NF- κ B, and reduce the release of inflammatory factors, so as to play a protective role in BBB.
保护血脑屏障 ^[4] Protect the blood-brain barrier	人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞 Human neuroblastoma SH-SY5Y cells	小檗碱可以调节 ZO-1 的再分布和闭塞降低 BBB 的通透性,减轻缺血性再灌注损伤达到神经保护的作用。 Berberine can regulate the redistribution of ZO-1 and reduce the permeability of BBB after occlusion, thus reducing ischemic reperfusion injury and achieving neuroprotection.

4 总结与展望

小檗碱广泛存在于多种传统草药的根、根茎、茎或树皮中,具有广泛的生理活性,特别在神经保护方面作用独特,深入研究小檗碱的药理作用机制,从细胞水平、分子水平或基因水平来揭示小檗碱的药理作用机制,将为小檗碱作为神经保护剂的进一步开发利用提供重要科学依据。已有研究发现,小檗碱作为廉价的传统药物,可通过多种机制对缺血性脑卒中发挥神经保护作用,包括参与自噬、抗细胞凋亡、抗炎、抗氧化应激、促进血管新生、保护血脑屏障等。然而,以前的研究有几个局限性。首先,现有关于小檗碱潜在神经保护机制的实验研究并不全面,实验涉及的观察指标和通路都比较单一。而且参与自噬和血管生成的重要信号通路很少被研究。此外,小檗碱对兴奋性毒性几乎没有研究,为了更客观地评估小檗碱对 IS 的影响,应在未来的研究中应用基因组学、转录组学、蛋白质

组学、代谢组学、影像组学等综合组学技术,去探索参与小檗碱神经保护作用的基因、蛋白质、代谢物和信号通路,从而有助于对小檗碱及其生物活性成分的潜在机制的理解。总之,小檗碱对于治疗缺血性脑卒中极具潜力,其在缺血性脑卒中的神经保护作用值得我们进一步探索和研究,下一步应以临床与基础相结合为导向,通过更严谨的临床和基础实验,探索小檗碱能否成为治疗缺血性脑卒中的突破点。

参考文献:

[1] POUSTCHI F, AMANI H, AHMADIAN Z, et al. Combination therapy of killing diseases by injectable hydrogels: from concept to medical applications [J]. Adv Healthc Mater, 2021, 10(3): e2001571.

[2] BUI T A, JICKLING G C, WINSHIP I R. Neutrophil dynamics and inflammaging in acute ischemic stroke: a transcriptomic review [J]. Front Aging Neurosci, 2022, 14: 1041333.

[3] FAN D, LIU L, WU Z, et al. Combating neurodegenerative

- diseases with the plant alkaloid berberine; molecular mechanisms and therapeutic potential [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2019, 17(6): 563–579.
- [4] SONG K, SUN Y, LIU H, et al. Network pharmacology and bioinformatics methods reveal the mechanism of berberine in the treatment of ischaemic stroke [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 5160329.
- [5] CAI Y, XIN Q, LU J, et al. A new therapeutic candidate for cardiovascular diseases: berberine [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 631100.
- [6] ZHAO H, XING C, ZHANG J, et al. Comparative efficacy of oral insulin sensitizers metformin, thiazolidinediones, inositol, and berberine in improving endocrine and metabolic profiles in women with PCOS: a network meta-analysis [J]. *Reprod Health*, 2021, 18(1): 171.
- [7] TAN W, WANG Y, WANG K, et al. Improvement of endothelial dysfunction of berberine in atherosclerotic mice and mechanism exploring through TMT-based proteomics [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 8683404.
- [8] WAN Q, LIU Z, YANG Y, et al. Suppressive effects of berberine on atherosclerosis via downregulating visfatin expression and attenuating visfatin-induced endothelial dysfunction [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(4): 1939–1948.
- [9] SONG D, HAO J, FAN D. Biological properties and clinical applications of berberine [J]. *Front Med*, 2020, 14(5): 564–582.
- [10] OPARIL S, ACELAJADO M C, BAKRIS G L, et al. Hypertension [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2018, 4: 18014.
- [11] WANG Z, WU F, ZHOU Q, et al. Berberine improves vascular dysfunction by inhibiting trimethylamine-N-oxide *via* regulating the gut microbiota in angiotensin II-induced hypertensive mice [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 814855.
- [12] TIAN H, KANG Y M, GAO H L, et al. Chronic infusion of berberine into the hypothalamic paraventricular nucleus attenuates hypertension and sympathoexcitation via the ROS/Erk1/2/iNOS pathway [J]. *Phytomedicine*, 2019, 52: 216–224.
- [13] SHAO Y J, TAO J, YU B B, et al. Berberine-promoted CXCR4 expression accelerates endothelial repair capacity of early endothelial progenitor cells in persons with prehypertension [J]. *Chin J Integr Med*, 2018, 24(12): 897–904.
- [14] CASTILLA-GUERRA L, FERNANDEZ-MORENO M D C, LEON-JIMENEZ D, et al. Antidiabetic drugs and stroke risk. Current evidence [J]. *Eur J Intern Med*, 2018, 48: 1–5.
- [15] DING P F, ZHANG H S, WANG J, et al. Insulin resistance in ischemic stroke: mechanisms and therapeutic approaches [J]. *Front Endocrinol*, 2022, 13: 1092431.
- [16] OCH A, OCH M, NOWAK R, et al. Berberine, a herbal metabolite in the metabolic syndrome: the risk factors, course, and consequences of the disease [J]. *Molecules*, 2022, 27(4): 1351.
- [17] GONG M, DUAN H, WU F, et al. Berberine alleviates insulin resistance and inflammation *via* inhibiting the LTB4-BLT1 axis [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 722360.
- [18] LI Y, CHEN X, CHEN Y, et al. Berberine improves TNF- α -induced hepatic insulin resistance by targeting MEKK1/MEK pathway [J]. *Inflammation*, 2022, 45(5): 2016–2026.
- [19] YI J, WU S, TAN S, et al. Berberine alleviates liver fibrosis through inducing ferrous redox to activate ROS-mediated hepatic stellate cells ferroptosis [J]. *Cell Death Discov*, 2021, 7(1): 374.
- [20] LI C, GUAN X M, WANG R Y, et al. Berberine mitigates high glucose-induced podocyte apoptosis by modulating autophagy via the mTOR/P70S6K/4EBP1 pathway [J]. *Life Sci*, 2020, 243: 117277.
- [21] PARK H J, JUNG E, SHIM I. Berberine for appetite suppressant and prevention of obesity [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 3891806.
- [22] WANG M, XU R, LIU X, et al. A co-crystal berberine-ibuprofen improves obesity by inhibiting the protein kinases TBK1 and IKK? [J]. *Commun Biol*, 2022, 5(1): 807.
- [23] MIRHADI E, REZAEE M, MALAEKEH-NIKOUEI B. Nano strategies for berberine delivery, a natural alkaloid of Berberis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104: 465–473.
- [24] ABDUL-RAHMAN T, BUKHARI S M A, HERRERA E C, et al. Lipid lowering therapy: an era beyond statins [J]. *Curr Probl Cardiol*, 2022, 47(12): 101342.
- [25] WU C, ZHAO Y, ZHANG Y, et al. Gut microbiota specifically mediates the anti-hypercholesterolemic effect of berberine (BBR) and facilitates to predict BBR's cholesterol-decreasing efficacy in patients [J]. *J Adv Res*, 2022, 37: 197–208.
- [26] XING L, ZHOU X, LI A H, et al. Atheroprotective effects and molecular mechanism of berberine [J]. *Front Mol Biosci*, 2021, 8: 762673.
- [27] ZHANG Q, FU X, WANG J, et al. Treatment effects of ischemic stroke by berberine, baicalin, and jasminoidin from Huang-Lian-Jie-du-decoction (HLJDD) explored by an integrated metabolomics approach [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 9848594.
- [28] ONORATI A V, DYCCZYNSKI M, OJHA R, et al. Targeting autophagy in cancer [J]. *Cancer*, 2018, 124(16): 3307–3318.
- [29] LEVINE B, KROEMER G. Biological functions of autophagy genes: a disease perspective [J]. *Cell*, 2019, 176(1/2): 11–42.
- [30] KLIONSKY D J, PETRONI G, AMARAVADI R K, et al. Autophagy in major human diseases [J]. *EMBO J*, 2021, 40(19): e108863.
- [31] 丁实, 赵学荣, 赵亮, 等. 黄连素通过 B 细胞淋巴瘤-2/自噬相关基因复合体抑制自噬减轻脑缺血再灌注损伤的研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(9): 1094–1097.
- DING S, ZHAO X R, ZHAO L, et al. Study of berberine on reducing cerebral ischemia reperfusion injury by inhibiting autophagy through B cell lymphoma 2/Beclin-1 complex [J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2021, 37(9): 1094–1097.

- [32] JURCAU A, SIMION A. Neuroinflammation in cerebral ischemia and ischemia/reperfusion injuries: from pathophysiology to therapeutic strategies [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 23(1): 14.
- [33] ZHU J R, LU H D, GUO C, et al. Berberine attenuates ischemia-reperfusion injury through inhibiting HMGB1 release and NF- κ B nuclear translocation [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(11): 1706–1715.
- [34] CAO D W, LIU M M, DUAN R, et al. The lncRNA Malat1 functions as a ceRNA to contribute to berberine-mediated inhibition of HMGB1 by sponging miR-181c-5p in poststroke inflammation [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(1): 22–33.
- [35] DING W, GU Q, LIU M, et al. Astrocytes-derived exosomes pre-treated by berberine inhibit neuroinflammation after stroke via miR-182-5p/Rac1 pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 118: 110047.
- [36] JIANG W, LI S, CHEN X, et al. Berberine protects immortalized line of human melanocytes from H₂O₂-induced oxidative stress via activation of Nrf2 and Mitf signaling pathway [J]. *J Dermatol Sci*, 2019, 94(1): 236–243.
- [37] SADEGHNIA H R, KOLANGIKHAH M, ASADPOUR E, et al. Berberine protects against glutamate-induced oxidative stress and apoptosis in PC12 and N2a cells [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2017, 20(5): 594–603.
- [38] LI Z, JIANG T, LU Q, et al. Berberine attenuated the cytotoxicity induced by t-BHP via inhibiting oxidative stress and mitochondria dysfunction in PC-12 cells [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2020, 40(4): 587–602.
- [39] SHOU J W, LI X X, TANG Y S, et al. Novel mechanistic insight on the neuroprotective effect of berberine: the role of PPAR δ for antioxidant action [J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 181: 62–71.
- [40] UZDENSKY A B. Apoptosis regulation in the penumbra after ischemic stroke: expression of pro-and antiapoptotic proteins [J]. *Apoptosis*, 2019, 24(9–10): 687–702.
- [41] VAN OPDENBOSCH N, LAMKANFI M. Caspases in cell death, inflammation, and disease [J]. *Immunity*, 2019, 50(6): 1352–1364.
- [42] ZHU Q, ZHENG M, BALAKRISHNAN A, et al. Gasdermin D promotes AIM2 inflammasome activation and is required for host protection against *Francisella novicida* [J]. *J Immunol*, 2018, 201(12): 3662–3668.
- [43] VAN GORP H, VAN OPDENBOSCH N, LAMKANFI M. Inflammasome-dependent cytokines at the crossroads of health and autoinflammatory disease [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2019, 11(1): a028563.
- [44] ZHAO L, LI H, GAO Q, et al. Berberine attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury induced neuronal apoptosis by down-regulating the CNPY2 signaling pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 609693.
- [45] XIE P, REN Z K, L V J, et al. Berberine ameliorates oxygen-glucose deprivation/reperfusion-induced apoptosis by inhibiting endoplasmic reticulum stress and autophagy in PC12 cells [J]. *Curr Med Sci*, 2020, 40(6): 1047–1056.
- [46] YANG Y, TORBEY M T. Angiogenesis and blood-brain barrier permeability in vascular remodeling after stroke [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2020, 18(12): 1250–1265.
- [47] ZHU J, CAO D, GUO C, et al. Berberine facilitates angiogenesis against ischemic stroke through modulating microglial polarization via AMPK signaling [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2019, 39(6): 751–768.
- [48] CHEN G, LIU S, PAN R, et al. Curcumin attenuates gp120-induced microglial inflammation by inhibiting autophagy via the PI3K pathway [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2018, 38(8): 1465–1477.
- [49] LIU H, REN X, MA C. Effect of berberine on angiogenesis and HIF-1 α /VEGF signal transduction pathway in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2018, 28(10): 753–757.
- [50] VERMA M, LIZAMA B N, CHU C T. Excitotoxicity, calcium and mitochondria: a triad in synaptic neurodegeneration [J]. *Transl Neurodegener*, 2022, 11(1): 3.
- [51] NADJAFI S, EBRAHIMI S A, RAHBAR-ROSHANDEL N. Protective effects of berberine on oxygen-glucose deprivation/reperfusion on oligodendrocyte cell line (OLN-93) [J]. *Int J Prev Med*, 2014, 5(9): 1153–1160.
- [52] XU L, NIRWANE A, YAO Y. Basement membrane and blood-brain barrier [J]. *Stroke Vasc Neurol*, 2019, 4(2): 78–82.
- [53] PROFACI C P, MUNJI R N, PULIDO R S, et al. The blood-brain barrier in health and disease: important unanswered questions [J]. *J Exp Med*, 2020, 217(4): e20190062.
- [54] JIANG X, ANDJELKOVIC A V, ZHU L, et al. Blood-brain barrier dysfunction and recovery after ischemic stroke [J]. *Prog Neurobiol*, 2018, 163/164: 144–171.
- [55] 王美华, 王甲, 韩丹, 等. 小檗碱对氧糖剥夺/复氧诱导的大鼠体外血脑屏障损伤的保护作用 [J]. *中国医药导报*, 2020, 17(9): 16–20.
- WANG M H, WANG J, HAN D, et al. Protective effect of berberine on *in vitro* blood-brain barrier injury induced by oxygen glucose deprivation/reoxygenation in rats [J]. *China Med Her*, 2020, 17(9): 16–20.

〔收稿日期〕2023-06-16