

小檗碱对骨缺损的修复作用及机制研究进展

李梦琦¹, 吴蔡王尘², 付晶晶², 郑延延², 刘英^{1*}, 刘吕花^{2*}

1. 川北医学院口腔医学院, 四川 南充 637000

2. 川北医学院药学院, 四川 南充 637000

摘要: 从天然中草药中提取活性成分已成为治疗骨缺损修复的新方案。小檗碱作为一种异喹啉生物碱, 广泛存在于黄连等植物根茎中。近年来研究发现小檗碱可以通过促进成骨细胞的骨形成、抑制破骨细胞的骨吸收、发挥抗菌能力、降低氧化应激反应、调节巨噬细胞的免疫反应减轻炎症等多种途径促进骨缺损修复。据研究报告, 小檗碱的促成骨能力已被证实, 但具体的作用机制尚未完全阐明。因此, 通过整理、分析总结国内外相关文献, 对小檗碱治疗骨缺损修复的作用机制、药理学、改良应用等研究进行综述, 为小檗碱的开发和临床应用提供理论依据。

关键词: 小檗碱; 骨缺损; 抗菌活性; 抗炎活性; 成骨活性

中图分类号: R286 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)22-7914-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.22.034

Repair effect and mechanism of berberine on bone defect

LI Mengqi¹, WU Caiwangchen², FU Jingjing², ZHENG Yanyan², LIU Ying¹, LIU Lyuhua²

1. School of Stomatological, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China

2. School of Pharmacy, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China

Abstract: Extracting active ingredients from natural Chinese herbal medicines has become a new treatment for bone defect repair. Berberine, as an isoquinoline alkaloid, is widely found in rhizomes of plants such as *Coptis chinensis*. Recent studies have found that berberine can promote bone defect repair by promoting bone formation of osteoblasts, inhibiting bone resorption of osteoclasts, exerting antibacterial ability, reducing oxidative stress, regulating immune response of macrophages and reducing inflammation. According to research reports, the osteogenic ability of berberine has been confirmed, but the specific mechanism of action has not been fully elucidated. Therefore, through the collation, analysis and summary of relevant literatures at home and abroad, the mechanism of action, pharmacokinetics, and improved application of berberine in the treatment of bone defect repair were reviewed to provide a theoretical basis for the development and clinical application of berberine.

Key words: berberine; bone defect; antibacterial activity; anti-inflammatory activity; osteogenic activity

骨缺损是指由于先天性或后天性因素导致正常的骨结构完整性遭受破坏的一类情况。临床上常见的造成骨缺损的后天性因素包括创伤、感染、肿瘤切除、系统性疾病如骨质疏松、糖尿病等情况, 这些原因会导致骨稳态失衡, 减弱骨的再生修复能力, 从而增加骨缺损修复的难度。目前, 骨移植作为骨再生修复的最佳方法, 但由于供体来源有限、供骨区发病率高及存在相关免疫排斥反应等问题严重限

制了其临床应用^[1]。研究发现骨缺损修复过程中应用一些具有骨诱导性的外源性生长因子比如骨形态发生蛋白-2、血管内皮生长因子等有利于调动成骨细胞的迁移、黏附、增殖与分化等生物学行为促进骨修复^[2-3]。然而, 外源性生长因子的医疗成本较高、体内稳定性差、作用时间短、剂量无统一标准, 而且临床使用过程中发现存在异位成骨、炎症等安全问题^[4-5]。因此, 寻找安全有效的新方案促进骨缺损

收稿日期: 2024-03-03

基金项目: 四川省科技厅项目(2022YFSY0043); 四川省科技厅项目(2022NSFSC1537); 南充市科技局项目(22SXCXTD0001); 南充市科技局项目(22SXQT0382); 四川省大学生创新创业项目(S202310634106)

作者简介: 李梦琦, 女, 硕士研究生, 研究方向为药物控释与骨再生。E-mail: limengqi998@163.com

*通信作者: 刘英, 教授, 从事药物缓控释与骨组织工程研究。E-mail: liuying08_nsmz@163.com

刘吕花, 高级实验师, 从事药物缓控释与骨组织工程研究。E-mail: mosheng1025@163.com

的再生与修复是当下关注的热点^[6]。

中草药运用于人体健康方面的历史悠久，其作用机制引起了广大学者的关注。小檗碱，又称黄连素，是从黄连等植物根茎中提取的天然药物成分。据研究报道，小檗碱具有多重药理作用，包括促进成骨细胞的骨形成、抑制破骨细胞的骨吸收、抗菌、降低氧化应激反应、调节巨噬细胞的免疫反应减轻炎症等作用，在骨缺损修复领域具有独特优势^[7-10]。因此，本文通过整理、分析总结国内外相关文献，对小檗碱治疗骨缺损修复的作用机制、药动学、改良应用等研究进行综述，为小檗碱的开发和临床应用提供理论依据。

1 小檗碱促进骨缺损修复的直接作用机制

1.1 促进成骨细胞增殖分化促进骨缺损修复

成骨细胞是骨形成的主要功能细胞，主要负责骨基质的合成、分泌和矿化，在骨形成过程中起关键作用。然而在骨缺损的病理条件下，成骨细胞的骨生成能力受到影响，仅依靠骨组织自身的成骨能力往往不能实现骨缺损修复，常需借助药物增强骨缺损的修复能力。小檗碱不仅具有良好的促进成骨细胞增殖能力，还能够诱导干细胞成骨向分化，有利于骨修复。李善昌等^[11]发现小檗碱浓度在 1×10^{-5} mol/L 时小鼠成骨细胞 MC3T3-E1 增殖和成骨分化均有促进作用。Zhang 等^[12]研究了不同浓度的小檗碱对骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 的增殖和成骨活性的影响，结果表明小檗碱对 BMSCs 的增殖和成骨活性均有促进作用，且其浓度在 3×10^{-6} mol/L 时最能显著促进 BMSCs 的增殖和矿化结节沉积。

Wnt/ β -连环蛋白 (β -catenin) 信号通路通过调控成骨细胞的分化、骨的生长和修复调控骨的发育和维持稳态平衡，其作用机制是 Wnt 蛋白与卷曲蛋白以及特异性受体 LRP5 的结合能够激活细胞内的信号转导，使 GSK3 β 磷酸化而失活，从而维持 β -catenin 的稳定。大量聚集的 β -catenin 从细胞质内转移入细胞核内并与转录因子 TCF/LEF 结合，从而启动细胞靶基因成骨细胞特异性转录因子 (osterix, *osx*)、Runt 相关转录因子 2 (Runt-related transcription factor 2, *Runx2*) 等的转录调控成骨分化^[13]。小檗碱能够激活 Wnt/ β -catenin 信号通路，促进细胞核内 β -catenin 的积累，同时增强 β -catenin/TCF 的转录活性，进而激活下游靶基因的表达，调控 BMSCs 的成骨分化^[12]。

丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase, MAPK) 由细胞外调节蛋白激酶、c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 和 p38 激酶构成，参与调控细胞增殖、成骨分化等活动。研究结果显示小檗碱能够与细胞膜上的表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 结合，从而激活细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 信号通路相关的级联反应 (EGFR \rightarrow Ras \rightarrow Raf \rightarrow MAPK/ERK)，并引起 FOS 核相关基因改变，促进成骨细胞的增殖及分化^[14]。朱陈元等^[15]发现小檗碱作用脂肪干细胞后能够通过激活 JNK 信号通路，上调成骨相关蛋白 Runx2 和 OCN 表达，促进脂肪干细胞的成骨向分化。除此以外，小檗碱还能够通过激活 p38/MAPK 信号通路参与成骨转录因子 Runx2 的磷酸化过程，上调下游成骨相关基因的表达水平，同时诱导环氧化酶-2 的表达进一步刺激成骨细胞分化^[16]。

环磷酸腺苷/蛋白激酶 A/环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 (cyclic adenosine monophosphate/protein kinase A/cAMP-responsive element binding protein, cAMP/PKA/CREB) 信号通路涉及骨的形成、成骨分化等过程，其被激活后能够调控成骨相关标志物的表达水平上调，促进矿化结节的生成^[17]。研究发现小檗碱处理后，BMSCs 的 cAMP 和 PKA 的浓度以及 p-CREB 的表达水平均上调，体外体内矿化程度增强，说明小檗碱能够通过调控 cAMP/PKA/CREB 信号通路促进新骨形成^[18]。

微小 RNA (microRNA, miRNA) 参与调控骨骼发育、稳态和修复过程中的许多方面，特定 miRNA 水平的变化可影响细胞的增殖、代谢、凋亡和分化过程。小檗碱能够通过调控 miRNA 的表达水平来调节不同类型细胞的成骨能力，促进骨缺损修复。研究证实 miR-214 的表达会抑制成骨分化，而小檗碱能够通过下调 miR-214 的表达水平促进成骨细胞的增殖与分化^[19]。此外，赵利华等^[20]发现小檗碱能够提高 BMSCs 的增殖与成骨分化能力，究其作用机制可能与小檗碱参与调控 miR-328-3p 的表达水平有关，通过过表达和沉默 miR-328-3p 的表达观察小檗碱对 BMSCs 的增殖及成骨分化能力的影响，发现小檗碱可能通过上调 miR-328-3p 的表达来促进 BMSCs 增殖和成骨分化。

综上所述，小檗碱不仅能够通过 Wnt/ β -catenin、

MAPK、cAMP/PKA/CREB 等信号通路，而且能够通过调控特定的 miRNA 表达水平为新骨生成提供有利条件，促进骨的生成。

1.2 抑制破骨细胞的骨吸收促进骨缺损修复

破骨细胞是从骨髓中的骨髓祖细胞分化而来的单核巨噬细胞融合的多核巨细胞，在骨吸收过程中发挥重要作用，与成骨细胞共同参与骨的重建。破骨细胞过度活跃会导致骨微结构破坏和骨密度下降，从而影响缺损区的骨修复活动^[21]。因此，如何抑制过度的骨吸收成为了目前亟待解决的难题。据报道，小檗碱能够抑制破骨细胞活性从而减少骨吸收，促进骨修复^[22]。

核因子- κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 是近些年骨再生领域研究较为广泛的信号传导通路，其介导核因子- κ B 受体激活因子配体 (receptor activator for nuclear factor- κ B ligand, RANKL) 诱导破骨细胞生成。抑制性 κ B 激酶 beta (inhibitory kappa B kinase beta, IKK β) 是负责 NF- κ B 激活的关键调节激酶经典途径，磷酸化 Ser177 和 Ser181，促进核易位，激活 NF- κ B 靶基因，在破骨细胞的分化过程中起着重要作用^[23]。而小檗碱能够通过抑制 IKK β 的磷酸化和降解以及 P65 核易位，从而抑制 RANKL 诱导的 NF- κ B 的激活^[24]。RANK 是 NF- κ B 在破骨细胞的膜受体激活剂，当 RANKL 与细胞表面的 RANK 结合后激活 NF- κ B 信号通路，活化下游 T 细胞活化因子 (nuclear factor of activating T cell, NFAT)，促进破骨细胞及其前体细胞的分化与形成，调控破骨细胞相关的特异性基因的表达水平。硫酸小檗碱是小檗碱常用的一种盐形式，研究表明 $0.25 \times 10^{-6} \sim 1.00 \times 10^{-6}$ mol/L 的硫酸小檗碱能够通过抑制 RANKL 诱导的 NF- κ B 信号通路的激活以及核转录因子 NFAT 的活性来抑制破骨细胞分化，降低破骨相关基因表达水平^[25]。

磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)-蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 途径是一种细胞内信号转导途径，与细胞的存活和凋亡有密切关系。RANKL 通过诱导 PI3K 激活 Akt 通路，并在破骨细胞存活的调控中起核心作用。Hu 等^[24]发现 RANKL 诱导的 Akt 激活对小檗碱治疗高度敏感，显著抑制了破骨细胞的增殖及分化，同时小檗碱还能够作用于 RANKL 诱导的 PI3K 上游信号通路，促进破骨细胞的凋亡，减轻骨吸收破坏。

肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis

factor receptor associated factor 6, TRAF6) 常参与 RANKL 有关的信号通路，发挥信号开关的功能。其下游因子 NFAT1 是体内调节破骨活动的主要因子，主要受钙振荡信号通路影响，钙离子内流能够激活钙调神经磷酸酶，促使 NFAT1 进入细胞核内，调控破骨相关基因的表达。研究发现小檗碱通过抑制钙调神经磷酸酶的表达水平，从而避免 NFAT1 的激活，降低破骨相关特异性基因的表达水平，实现抑制破骨细胞生成，减少骨吸收的目的^[26]。

目前，临床上主要使用双膦酸盐等药物抑制破骨细胞的过度骨吸收。但临床数据显示，双膦酸盐药物在使用过程中可能出现肌肉骨骼系统损害、颌骨坏死等不良事件^[27]。小檗碱作为一类安全性好的中草药成分能够通过作用于经典的破骨分化相关的 RANKL 信号通路促进破骨细胞的凋亡，抑制破骨细胞的分化，减少骨吸收，有望为治疗提供新方案。

2 小檗碱促进骨缺损修复的间接作用机制

2.1 发挥抗菌能力促进骨缺损修复

感染是阻碍骨缺损修复的重要原因之一，可导致极高的治疗失败率。金黄色葡萄球菌是骨缺损感染时最常见的病原体之一，它能够侵入成骨细胞，在成骨细胞内存活增殖，抑制成骨细胞的增殖及成骨相关蛋白的合成并最终诱导成骨细胞凋亡。此外，细菌酶如蛋白酶、胶原酶和透明质酸酶等，可降解骨组织中的细胞外基质成分，影响成骨细胞的募集和黏附。细菌分泌的一些毒力因子如肽聚糖、脂磷壁等进一步促进破骨细胞的分化，加重骨吸收^[28]。传统治疗策略包括手术方式清除感染坏死的骨组织以及全身应用抗生素治疗。手术方式治疗此类骨缺损虽然效果显著，但手术方式会进一步加重骨丢失。而大量抗生素的使用加剧了细菌的耐药性，抗菌治疗仍然面临着巨大的挑战。传统中草药成分因其良好的安全性成为新药开发的资源，为抗感染提供了替代方案。研究报道小檗碱对革兰阳性菌、革兰阴性菌及真菌均有抑制作用，且不易产生耐药性^[29-30]。王礼^[31]通过微量肉汤稀释法测定营养肉汤中小檗碱对金黄色葡萄球菌的影响，实验结果提示其最低抑菌浓度和最低杀菌浓度分别为 $62.5 \sim 125 \mu\text{g/mL}$ 和 $125 \sim 250 \mu\text{g/mL}$ ，当实验浓度达到最低抑菌浓度的 2 倍时，小檗碱作用 24 h 后即可杀死全部处于稳定期内的金黄色葡萄球菌。此外，小檗碱的抗菌能力与培养液 pH 值有关，当 pH 值处于中性范围时，小檗碱具有较强的抗金黄色葡萄球

菌的能力,其原因可能与小檗碱的化学结构式有关。在中性或者碱性条件下,小檗碱的主要结构式由原来酸性条件下的季胺碱式转变为具有较强的抗菌作用的醇式或者醛式。不同 pH 值下小檗碱能转变自身化学结构发挥更强的抗菌作用,这一特性为未来的研究方向提供了新思路。

Tan 等^[32]认为小檗碱不是通过直接杀死金黄色葡萄球菌发挥抗菌作用的,而是通过抑制细菌发挥作用。即使在小檗碱浓度较高的环境中仍然可存活一定数量的细菌,而随着小檗碱的浓度逐渐下降,存活的细菌重新获得了有利的生存环境。这说明小檗碱虽然具有良好的抑制金黄色葡萄球菌的能力,但单独使用小檗碱不足以控制感染,这与 Xia 等^[33]实验结论一致。以上结果提示在实际的临床应用过程中,可以考虑联合其他药物进行辅助治疗,获取更佳的治疗效果。铜绿假单胞菌是一类常见于慢性感染伤口中的革兰阴性细菌,其形成的生物膜能够抵抗抗生素的渗入并产生耐药性,这一特性是引发骨髓炎症疾病的致病机制之一,从而导致骨修复困难。一定浓度的小檗碱可抑制铜绿假单胞菌的生长,而当小檗碱联合阿奇霉素应用时较单独应用时有利于增强抗菌效果,同时显著降低了阿奇霉素的最小抑菌浓度^[34],说明两者对于抗铜绿假单胞菌具有显著的协同作用,同时也避免细菌产生耐药性。

50%骨关节感染病例可以从其感染的骨组织中分离出耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(methicillin-resistant staphylococcus aureus, MRSA)。万古霉素是目前临床上治疗 MRSA 感染的首选药物,但由于抗生素的滥用,造成细菌耐药性的产生,细菌清除变得困难。研究发现小檗碱对 MRSA 的最低抑菌浓度为 0.2 mg/mL,最低杀菌浓度为 0.4 mg/mL^[35]。Xia 等^[33]从临床上收集 MRSA 分离株样本并进行多位点序列型的检测,评估小檗碱的抗菌活性。结果表明小檗碱的抗 MRSA 能力与它能够抑制细胞生物膜的形成、破坏细胞壁有关。也有研究证实小檗碱能够通过抑制 DNA 和蛋白质的合成进而阻断细菌的分裂和发育,发挥抗菌活性^[36]。此外,小檗碱还能作为细菌脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)的拮抗剂,抑制机体 LPS/Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)信号转导通路,发挥抗菌作用^[37]。

如前所述,小檗碱不仅能通过破坏细胞壁、损伤细胞膜、抑制 DNA 和蛋白质的合成、影响细菌的生长代谢发挥抗菌作用,也能与其他药物协同抗

菌,从而在骨缺损感染时治疗感染,促进骨修复。

2.2 降低氧化应激反应促进骨缺损修复

氧化应激是指在外界环境刺激或病理条件下,体内氧化与抗氧化活动失衡,导致体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)含量增加的一种状态。骨缺损区域常伴有局部微血管破裂,营养运输受到影响,局部缺氧微环境中供血中断导致 ROS 的升高不仅会损伤成骨细胞的骨生成,还会刺激破骨细胞的生长和分化,加重骨吸收,延迟骨缺损的愈合^[38]。低水平的 ROS 可以促进生理性血管生成,提供充足的营养物质运输,有利于营造一个良好的骨愈合微环境。

氧化应激会抑制成骨细胞分化,刺激破骨细胞分化,引起骨稳态失衡,促进骨质疏松的发展。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)是一组金属酶,能够催化超氧自由基分解为过氧化氢和氧,对抗 ROS 介导的细胞及组织损伤。在动物体内实验中,小檗碱处理组与骨质疏松模型组相比显著降低了氧化应激产物丙二醛的表达,增加了 SOD 和谷胱甘肽水平的表达,为骨组织的修复与重建提供有利的条件^[39]。

高血糖诱导 ROS 的积累,促使自由基的持续产生,最终使得炎症标志物的过度增加以及晚期糖基化终末产物的产生,进而增加了骨折愈合延迟的风险,影响骨的再生修复^[40]。Xie 等^[41]使用小檗碱处理糖尿病大鼠 12 周后发现,大鼠体内的 SOD、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽巯基转移酶等酶氧化剂的活性显著改善,ROS 水平降低,成骨标记物如碱性磷酸酶、骨钙素等表达上调,骨稳态恢复,骨密度增加。

高水平的 ROS 不利于骨缺损的修复,小檗碱能够增强 SOD 及相关代谢酶的活性,从而减少丙二醛的产生,降低微环境的 ROS 水平,为骨缺损的修复创造有利条件。

2.3 调节巨噬细胞的免疫反应减轻炎症促进骨缺损修复

骨修复过程是一个复杂而有序的过程,主要包括炎症免疫反应期、骨痂形成期和骨板塑形期。研究表明早期炎症免疫反应对后期的成骨具有重要作用,炎症的及时消退能营造有利于骨再生的免疫微环境^[42]。巨噬细胞在早期的免疫炎症反应中发挥着重要作用,其可极化为促炎的 M₁ 表型或抗炎促愈合的 M₂ 表型。LPS 是革兰阴性菌外膜的主要成分

之一，细菌死亡后，所释放的 LPS 分子会被 TLR4 识别，进而促使巨噬细胞极化为 M₁ 表型^[43]。M₁ 表型分泌白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等多种促炎因子募集炎性细胞，在炎症早期起着重要作用。而 M₂ 表型分泌 IL-4、IL-10 等抗炎因子，在炎症反应的转归和骨愈合中发挥关键作用。持续高水平的炎症状态促使骨稳态失衡，从而影响骨组织修复。因此，如何调控巨噬细胞由 M₁ 表型向 M₂ 表型及时有效转变，及时清退炎症并营造有益的骨再生免疫微环境，成为骨修复领域新的研究热点。

小檗碱能显著减少 LPS 诱导的 M₁ 表型巨噬细胞的 IL-6、TNF- α 和干扰素- β (interferon- β , IFN- β) 等促炎因子的分泌量，减轻炎症介导的组织损伤^[37]。类风湿性关节炎是一类以持续性滑膜炎为基础，进而造成软骨和骨缺损破坏的自身免疫性疾病。Zhou 等^[44]使用关节炎大鼠模型研究发现小檗碱呈剂量依赖性显著减轻炎症造成的组织破坏程度，同时实验结果表明 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等促炎因子水平下降，转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 和 IL-10 等抗炎因子的分泌增加，进一步研究发现 M₁ 表型标记物诱导型一氧化氮合酶表达下调，M₂ 表型标记物精氨酸酶表达上调，提示小檗碱可能通过恢复 M₁ 和 M₂ 表型的平衡来调节炎症免疫反应促进骨缺损修复。

大量研究表明糖尿病与牙周炎之间具有双向联系^[45]。糖尿病的存在会加重患者牙槽骨组织的吸收破坏并导致新骨形成受损，而牙周组织的炎症也会影响糖尿病的治疗，构成骨缺损的危险因素。巨噬细胞极化不仅能够调控炎症反应，还参与了糖尿病的发病机制，影响胰岛细胞的功能和死亡。Xia 等^[46]通过建立糖尿病伴牙周炎小鼠模型发现小檗碱能够显著改善模型组的牙槽骨丢失量并降低糖尿病相关指标水平，结果提示小檗碱可能通过调控 NF- κ B 信号通路促使牙周炎症微环境中的巨噬细胞由 M₁ 表型转变为 M₂ 表型，进而促进骨组织修复再生。

究其免疫调节减轻炎症的作用机制，王青竹等^[47]认为小檗碱可能促进载脂蛋白与极低密度脂蛋白受体结合，进而诱导巨噬细胞由 M₁ 表型转化为 M₂ 表型。Gong 等^[48]发现小檗碱能够通过 LTB₄-BLT1 轴降低 LTB₄ 激活的 M₁ 表型巨噬细胞的基因表达，减少炎症因子的分泌，降低炎症水平。此外，

Qin 等^[49]研究发现经小檗碱处理后的人骨髓间充质干细胞的上清液中含有能够抑制巨噬细胞 M₁ 表型极化并促进巨噬细胞向 M₂ 表型极化的活性物质，在进一步体内实验研究中发现，小檗碱能够通过 M-CSF/Akt 轴调节巨噬细胞的极化，减少促炎因子的分泌，促进牙槽骨缺损中新骨的形成。

虽然目前研究发现小檗碱能够诱导巨噬细胞由 M₁ 表型转变为 M₂ 表型，为骨组织修复再生创造有利的条件，但由此产生的免疫微环境促进骨修复的相关研究甚少，还需进一步研究其作用机制。此外，小檗碱调控巨噬细胞由 M₁ 表型向 M₂ 表型转化的潜在作用亦需要进一步研究。

骨组织是一个高度活跃的动态组织，在成骨细胞和破骨细胞共同调控下维持骨的改建平衡。而在骨缺损的病理情况下，骨稳态失衡，骨的自我再生修复能力受损。小檗碱可通过不同的信号通路促进成骨细胞的骨形成、抑制破骨细胞的骨吸收来维持骨稳态，直接为骨缺损提供良好的修复条件。此外，小檗碱的抗菌、抗氧化应激、调节免疫反应减轻炎症等能力也与骨缺损的修复密切相关，间接提供了良好的骨形成条件 (图 1)。

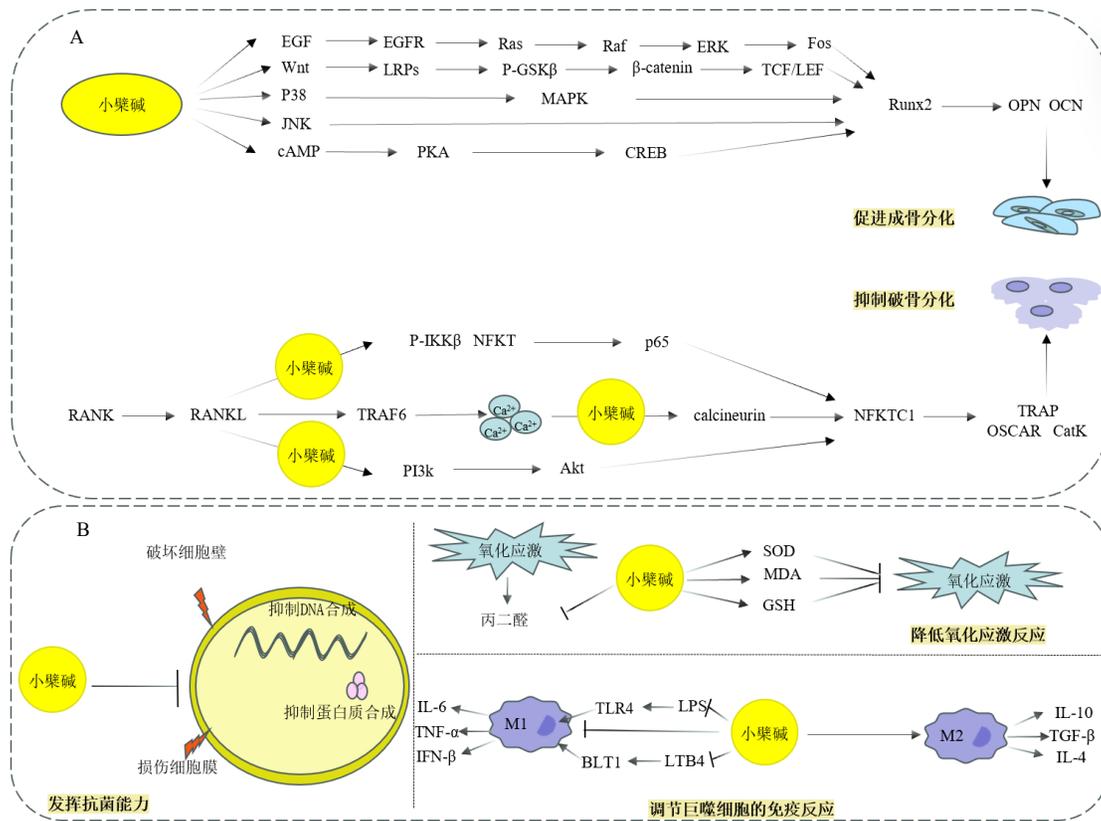
3 小檗碱的药动学及改良应用研究

3.1 小檗碱的药动学研究

小檗碱的水溶性低、胃肠道吸收差、生物利用度低，限制了其临床应用。尽管研究发现通过口服小檗碱后，其广泛分布于肝脏、肾脏、肌肉、肺、大脑、心脏等多类器官组织中，但小檗碱在血液中的含量最低，其生物利用度不足 1%^[50]。在一项人体口服实验研究中，通过给予 10 名志愿者 500 mg 口服剂量的小檗碱检测其在人体内的血药浓度，结果报告其血药浓度仅为 (0.07 \pm 0.01) ng/mL^[51]。动物体内代谢研究发现口服 400 mg/kg 剂量小檗碱后，大鼠的最大血药浓度值为 0.260 ng/mL，药-时曲线下总面积为 0.681 μ g·h/mL，其代谢产物主要通过胆汁及尿液排出^[52]。骨组织富含丰富的血管组织，在骨缺损修复过程中，骨缺损区域的血药浓度水平与修复过程密切相关^[53]。因此，如何提高小檗碱的生物利用度促进骨缺损修复成为当下学者的研究热点。

3.2 小檗碱的改良应用研究

骨缺损区域的药物浓度是影响骨修复再生的一个重要因素，而药物与生物材料的组装应用方式为改善药物的生物利用度低、提高局部的药物浓度等



A-直接作用机制；B-间接作用机制。

A-direct mechanism of action; B-indirect mechanism of action.

图1 小檗碱促进骨缺损修复的作用机制

Fig. 1 Mechanism of berberine in promoting bone defect repair

问题提供了新策略。Sang 等^[54]选择了富含羧基的丝素蛋白负载小檗碱，通过羧基对小檗碱的共价吸附作用不仅能够增加小檗碱在聚醚醚酮上的载药量，而且能够促进小檗碱在感染的骨组织中的持续释放，提高骨的修复再生能力。Zou 等^[55]发现负载小檗碱及羟基磷灰石的壳聚糖/骨水泥药物递送给药系统在治疗感染骨缺损的修复过程中随着载体材料的逐渐降解能够实现该区域持续可控的药物释放，为感染部位提供长期治疗，达到骨缺损区域修复再生的目的。Ma 等^[56]通过静电纺丝制备了一种新的给药系统负载小檗碱的聚己酸内酯/胶原支架，该系统不仅能长期缓慢释放小檗碱，而且能促进成骨细胞的黏附、生长与分化，加速骨缺损的愈合。小檗碱本身具有多种药理功能，与生物材料的结合有利于提高其利用度，在骨缺损区域更好地发挥生物学功能。这些能够发挥多重功能的组装形式不仅利于满足临床需要，也为中药在现代临床中的应用开辟了新的途径，但是现阶段还需要更多的体内实验研

究数据来支持观点，提供体内代谢安全性评价。

4 结语与展望

骨缺损严重影响患者的生活质量，其修复与再生的机制影响患者的预后情况。添加外源性生长因子有利于促进骨缺损的修复，但其存在医疗成本较高、体内稳定性差、作用时间短、剂量没有统一标准等缺点，同时临床使用过程中的安全问题也引发了担忧。小檗碱作为天然中草药中的主要成分，其价格便宜，来源广泛，同时它具有促进成骨细胞的骨形成、抑制破骨细胞的骨吸收、抗菌、抗氧化应激、调控巨噬细胞的免疫反应减轻炎症等多重药理作用，且不易产生耐药性，能够有效的发挥骨保护作用及促进骨缺损修复再生。

小檗碱的多重药理作用对于骨的修复再生具有重要意义，有利于提供充分的修复条件。动物及人体实验研究结果提示，小檗碱在体内具有良好的安全性。但口服小檗碱的水溶性差，生物利用度低，使得骨缺损部位无法达到有效的药物浓度水平。目

前实验已有关于小檗碱的各种生物组装模式，如支架、涂层等多种形式积极尝试解决这一短板，这些组装模式具有良好的控释能力及生物相容性、可降解性，能够有效提高提高小檗碱的生物利用度，实现骨缺损修复再生。骨缺损的修复与再生是一个较为漫长的过程，尤其是大段骨缺损，生物材料的药物释放浓度和降解是否足够贯穿整个修复过程，其调控的免疫微环境在体内能否实现同样的修复效果，仍缺乏有力的临床证据支持，需要深入探讨。因此，加强药物设计与临床实际需求的结合，充分挖掘小檗碱在骨缺损修复过程中的潜力，对开发新的安全有效的促进骨缺损修复再生策略具有重要意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Migliorini F, la Padula G, Torsiello E, *et al.* Strategies for large bone defect reconstruction after trauma, infections or tumour excision: A comprehensive review of the literature [J]. *Eur J Med Res*, 2021, 26(1): 118.
- [2] Safari B, Davaran S, Aghanejad A. Osteogenic potential of the growth factors and bioactive molecules in bone regeneration [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 175: 544-557.
- [3] Xu Y M, Yang Y, Hua Z Y, *et al.* BMP2 immune complexes promote new bone formation by facilitating the direct contact between osteoclasts and osteoblasts [J]. *Biomaterials*, 2021, 275: 120890.
- [4] Tannoury C A, An H S. Complications with the use of bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) in spine surgery [J]. *Spine J*, 2014, 14(3): 552-559.
- [5] James A W, LaChaud G, Shen J, *et al.* A review of the clinical side effects of bone morphogenetic protein-2 [J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2016, 22(4): 284-297.
- [6] 董心雨, 董馨月, 王婉婷, 等. 中药有效成分结合支架材料促进骨组织再生 [J]. *中国组织工程研究*, 2024, 28(20): 3240-3245.
- [7] Zhang Y H, Ma J L, Zhang W F. Berberine for bone regeneration: Therapeutic potential and molecular mechanisms [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 277: 114249.
- [8] Mohammadian Haftcheshmeh S, Momtazi-Borojeni A A. Berberine as a promising natural compound for the treatment of periodontal disease: A focus on anti-inflammatory properties [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(24): 11333-11337.
- [9] Khan S, Hussain A, Attar F, *et al.* A review of the berberine natural polysaccharide nanostructures as potential anticancer and antibacterial agents [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 146: 112531.
- [10] 陈美琳, 李芝奇, 范琦琦, 等. 小檗碱药理作用及其相关作用机制研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(18): 5861-5872.
- [11] 李善昌, 赵刚, 王飞飞, 等. 小檗碱对小鼠成骨细胞增殖和成骨活性的影响 [J]. *黑龙江医药科学*, 2016, 39(6): 24-26.
- [12] Zhang R, Yang J, Wu J, *et al.* Berberine promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells with therapeutic potential in periodontal regeneration [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 851: 144-150.
- [13] Vlashi R, Zhang X G, Wu M R, *et al.* Wnt signaling: Essential roles in osteoblast differentiation, bone metabolism and therapeutic implications for bone and skeletal disorders [J]. *Genes Dis*, 2023, 10(4): 1291-1317.
- [14] Liu J, Zhao X D, Pei D D, *et al.* The promotion function of Berberine for osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells via ERK-FOS pathway mediated by EGFR [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2848.
- [15] 朱陈元, 徐玲, 于卫强. 小檗碱通过 JNK 信号通路调控大鼠脂肪干细胞成骨向分化 [J]. *上海口腔医学*, 2021, 30(3): 258-262.
- [16] Lee H W, Suh J H, Kim H N, *et al.* Berberine promotes osteoblast differentiation by Runx2 activation with p38 MAPK [J]. *J Bone Miner Res*, 2008, 23(8): 1227-1237.
- [17] Kim J M, Choi J S, Kim Y H, *et al.* An activator of the cAMP/PKA/CREB pathway promotes osteogenesis from human mesenchymal stem cells [J]. *J Cell Physiol*, 2013, 228(3): 617-626.
- [18] Chen Q C, Pu Y L, Bi J, *et al.* Protective effects of berberine on senile osteoporosis in mice [J]. *J Bone Miner Metab*, 2021, 39(5): 748-756.
- [19] Liu M, Xu Z M. Berberine promotes the proliferation and osteogenic differentiation of alveolar osteoblasts through regulating the expression of miR-214 [J]. *Pharmacology*, 2021, 106(1/2): 70-78.
- [20] 赵利华, 徐兴才, 杨鑫. 小檗碱联合 miR-328-3p 对骨髓间充质干细胞增殖和成骨分化能力的影响 [J]. *中国药师*, 2021, 24(7): 262-266.
- [21] 董世武, 胡文辉. 破而后立: 骨骼系统中破骨细胞新功能解析 [J]. *陆军军医大学学报*, 2022, 44(1): 79-88.
- [22] Han S Y, Kim Y K. Berberine suppresses RANKL-induced osteoclast differentiation by inhibiting c-fos and NFATc1 expression [J]. *Am J Chin Med*, 2019, 47(2): 439-455.
- [23] Zhang J, Zhang R, Li W, *et al.* I κ B kinase β (IKK β): Structure, transduction mechanism, biological function, and discovery of its inhibitors [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(13): 4181-4203.

- [24] Hu J P, Nishishita K, Sakai E, *et al.* Berberine inhibits RANKL-induced osteoclast formation and survival through suppressing the NF- κ B and Akt pathways [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 580(1/2): 70-79.
- [25] Zhou L, Song F M, Liu Q, *et al.* Berberine sulfate attenuates osteoclast differentiation through RANKL induced NF- κ B and NFAT pathways [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(11): 27087-27096.
- [26] Ye F, Zhou Q Z, Tian L, *et al.* The protective effect of berberine hydrochloride on LPS-induced osteoclastogenesis through inhibiting TRAF6-Ca²⁺-calcineurin-NFATc1 signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(5): 6228-6233.
- [27] 赵玲帆, 叶鑫鑫, 张强. 双膦酸盐颌骨坏死的机制研究进展 [J]. *中华老年口腔医学杂志*, 2023, 21(1): 50-55.
- [28] Masters E A, Ricciardi B F, Bentley K L M, *et al.* Skeletal infections: Microbial pathogenesis, immunity and clinical management [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2022, 20(7): 385-400.
- [29] Yan Y M, Li X, Zhang C H, *et al.* Research progress on antibacterial activities and mechanisms of natural alkaloids: A review [J]. *Antibiotics*, 2021, 10(3): 318.
- [30] 张明发, 沈雅琴. 小檗碱抗真菌药理作用及其机制的研究进展 [J]. *抗感染药学*, 2023, 20(5): 453-457.
- [31] 王礼. 小檗碱抗金黄色葡萄球菌的机制研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2018.
- [32] Tan J Q, Wang J, Yang C, *et al.* Antimicrobial characteristics of Berberine against prosthetic joint infection-related *Staphylococcus aureus* of different multi-locus sequence types [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2019, 19(1): 218.
- [33] Xia S, Ma L Y, Wang G X, *et al.* *In vitro* antimicrobial activity and the mechanism of berberine against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bloodstream infection patients [J]. *Infect Drug Resist*, 2022, 15: 1933-1944.
- [34] Zhao Z J, Guo M Y, Xu X N, *et al.* *In vitro* synergistic inhibitory activity of natural alkaloid berberine combined with azithromycin against alginate production by *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 3858500.
- [35] 李玲, 卢芳国, 陈伶俐, 等. 小檗碱体外抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌活性的研究 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2018, 38(3): 254-256.
- [36] Kang S, Li Z W, Yin Z Q, *et al.* The antibacterial mechanism of berberine against *Actinobacillus pleuropneumoniae* [J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29(23): 2203-2206.
- [37] Chu M, Ding R, Chu Z Y, *et al.* Role of berberine in anti-bacterial as a high-affinity LPS antagonist binding to TLR4/MD-2 receptor [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2014, 14: 89.
- [38] Cerqueni G, Scalzone A, Licini C, *et al.* Insights into oxidative stress in bone tissue and novel challenges for biomaterials [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 130: 112433.
- [39] He X F, Zhang L, Zhang C H, *et al.* Berberine alleviates oxidative stress in rats with osteoporosis through receptor activator of NF- κ B/receptor activator of NF- κ B ligand/osteoprotegerin (RANK/RANKL/OPG) pathway [J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2017, 17(4): 295-301.
- [40] Sheng N, Xing F, Wang J, *et al.* Recent progress in bone-repair strategies in diabetic conditions [J]. *Mater Today Bio*, 2023, 23: 100835.
- [41] Xie H G, Wang Q Q, Zhang X Y, *et al.* Possible therapeutic potential of berberine in the treatment of STZ plus HFD-induced diabetic osteoporosis [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2018, 108: 280-287.
- [42] Xie Y J, Hu C, Feng Y, *et al.* Osteoimmunomodulatory effects of biomaterial modification strategies on macrophage polarization and bone regeneration [J]. *Regen Biomater*, 2020, 7(3): 233-245.
- [43] Ouyang L P, Chen B H, Liu X D, *et al.* Puerarin@Chitosan composite for infected bone repair through mimicking the bio-functions of antimicrobial peptides [J]. *Bioact Mater*, 2023, 21: 520-530.
- [44] Zhou J, Yu Y, Yang X, *et al.* Berberine attenuates arthritis in adjuvant-induced arthritic rats associated with regulating polarization of macrophages through AMPK/NF- κ B pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 852: 179-188.
- [45] Bhuyan R, Bhuyan S K, Mohanty J N, *et al.* Periodontitis and its inflammatory changes linked to various systemic diseases: A review of its underlying mechanisms [J]. *Biomedicine*, 2022, 10(10): 2659.
- [46] Xia S Y, Jing R, Shi M Y, *et al.* BBR affects macrophage polarization via inhibition of NF- κ B pathway to protect against T2DM-associated periodontitis [J]. *J Periodontol Res*, 2024, 59(4): 728-737.
- [47] 王青竹, 石婧, 刘琴, 等. 小檗碱促进巨噬细胞系 RAW264.7 由 M₁ 促炎表型向 M₂ 抗炎表型极化 [J]. *基础医学与临床*, 2019, 39(5): 646-651.
- [48] Gong M M, Duan H Y, Wu F, *et al.* Berberine alleviates insulin resistance and inflammation via inhibiting the LTB4-BLT1 axis [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 722360.
- [49] Qin Z Y, Han Y X, Du Y F, *et al.* Bioactive materials from berberine-treated human bone marrow mesenchymal stem

- cells promote alveolar bone regeneration by regulating macrophage polarization [J]. *Sci China Life Sci*, 2024, 67(5): 1010-1026.
- [50] Mujtaba M A, Akhter M H, Alam M S, *et al.* An updated review on therapeutic potential and recent advances in drug delivery of berberine: Current status and future prospect [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2022, 23(1): 60-71.
- [51] Spinuzzi S, Colliva C, Camborata C, *et al.* Berberine and its metabolites: Relationship between physicochemical properties and plasma levels after administration to human subjects [J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(4): 766-772.
- [52] Yu Q X, Li M H, Chen H B, *et al.* The discovery of berberine erythrocyte-hemoglobin self-assembly delivery system: A neglected carrier underlying its pharmacokinetics [J]. *Drug Deliv*, 2022, 29(1): 856-870.
- [53] Zeng Y W, Huang C, Duan D M, *et al.* Injectable temperature-sensitive hydrogel system incorporating deferoxamine-loaded microspheres promotes H-type blood vessel-related bone repair of a critical size femoral defect [J]. *Acta Biomater*, 2022, 153: 108-123.
- [54] Sang S, Wang S J, Yang C, *et al.* Sponge-inspired sulfonated polyetheretherketone loaded with polydopamine-protected osthole nanoparticles and berberine enhances osteogenic activity and prevents implant-related infections [J]. *Chem Eng J*, 2022, 437: 135255.
- [55] Zou Q, Li Y B, Zhang L, *et al.* Antibiotic delivery system using nano-hydroxyapatite/chitosan bone cement consisting of berberine [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2009, 89(4): 1108-1117.
- [56] Ma L, Yu Y, Liu H, *et al.* Berberine-releasing electrospun scaffold induces osteogenic differentiation of DPSCs and accelerates bone repair [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 1027.

[责任编辑 时圣明]