

生物碱防治非酒精性脂肪肝病药理作用与机制的研究进展

黄艳飞, 梁金秀, 宋慧鹏, 庞汉青, 杨华, 李萍*

(中国药科大学中药学院, 江苏 南京 210009)

[摘要] 随着国民生活水平的提高, 非酒精性脂肪肝病的发病率和死亡率不断增加。非酒精性脂肪肝病的发病机制复杂, 针对该疾病的药物研发进程缓慢。由于生物碱具有抗氧化和抗炎等多种生物活性, 近年来其防治非酒精性脂肪肝病的药理作用与机制受到广泛关注。围绕近年来的研究热点, 对有机胺类、哌啶类、异喹啉类、黄嘌呤类生物碱防治非酒精性脂肪肝病的药理作用与机制研究进展进行综述, 旨在为非酒精性脂肪肝病治疗药物的研发或先导化合物的发现提供参考和依据。

[关键词] 生物碱; 非酒精性脂肪肝病; 药理作用; 作用机制

[中图分类号] R575.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2018) 10-0780-08

Research Progress in Pharmacological Effects and Action Mechanisms of Alkaloids for the Prevention and Treatment of Non-alcoholic Fatty Liver Diseases

HUANG Yanfei, LIANG Jinxiu, SONG Huipeng, PANG Hanqing, YANG Hua, LI Ping

(School of Traditional Chinese Medicine, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] The morbidity and mortality of non-alcoholic fatty liver diseases (NAFLD) are continuously increasing with the improvement in living standards. The pathogenesis of NAFLD is very complex, leading to retarded progress in the development of NAFLD drugs. Recently, due to the prominent bioactivities of alkaloids such as anti-oxidation and anti-inflammation, researches on their pharmacological effects and action mechanisms in the prevention and treatment of NAFLD have gained widespread attention. With a focus on recent hot topics, this article reviewed the research progress in pharmacological effects and action mechanisms of alkaloids for the prevention and treatment of NAFLD, including organic amine alkaloids, piperidine alkaloids, isoquinoline alkaloids and xanthine alkaloids, so as to provide insights into the development of NAFLD drugs and discovery of lead compounds.

[Key words] alkaloid; non-alcoholic fatty liver disease; pharmacological effect; action mechanism

非酒精性脂肪肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是排除酒精和其他因素 (如药物、病毒等) 导致的长期脂肪肝病。NAFLD 的发展阶段包括单纯性脂肪肝病、非酒精性脂肪肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH)、肝硬化乃至肝癌。目前, 广泛认可的 NAFLD 的发病机制是 1998 年由英国 Day 等^[1] 提出的“二次打击”学说: 肝脏中三酰甘油 (TG) 的异位沉积及其所导致的胰岛素抵抗 (IR) 是“一次打击”; 而在“一次打击”的基础上, 多种细胞因子或炎症因子介导的脂肪酸的过氧化所导致的炎症和氧化应激反应是“二次打击”。据统计, 成年人的 NAFLD 患病率约为 30%, 而肥胖人群或糖尿病患者的发病率甚至高达 70%~80%^[2]。目前, NAFLD 的治疗仍以体质量和饮食控制为主, 针对该疾病的药物研发缓慢。

生物碱是天然产物中的一类含氮的碱性化合物, 除极少数生物碱在体内以游离态形式存在外, 多数以盐的形式存在。生物碱结构多样, 多具复杂的氮杂环, 可分为有机胺类、哌啶类、异喹啉类和黄嘌呤类等, 具有抗癌、降压、抗菌、镇咳平喘等多种活性。近年来, 生物碱防治 NAFLD 的研究常有报道, 但其作用机制不尽相同。本文将综述生物碱防治 NAFLD 的药理作用和机制进展, 为 NAFLD 治疗药物的研发提供参考。

1 有机胺类

甜菜素 (betaine, BET), 又名甜菜碱, 因从藜科植物甜菜 *Beta vulgaris* L. 的叶和根中分离出来而得名。NAFLD 患者的血清 BET 水平较低^[3], 口服补充 BET 可以降低 NASH 患者的血清谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 和谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 水平, 改善肝脏的脂肪变性、坏死性炎症和纤维化损伤^[4-5]。BET 的作用机制可能为: 1) BET 是胆碱的氧化代谢产物, 是一种甲基供体, 与

接受日期: 2018-03-29

***通讯作者:** 李萍, 教授, 博士生导师;

研究方向: 中药药效物质与作用机制研究;

Tel: 025-83271379; **E-mail:** liping2004@126.com

肝脏的甲基化代谢高度相关, 因此, BET 可以上调肝脏甜菜碱-同型半胱氨酸甲基转移酶和甲硫氨酸腺苷转移酶水平, 下调同型半胱氨酸水平, 提高肝脏 S-腺苷甲硫氨酸和谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 水平, 对抗肝脏氧化应激损伤^[6-9], 同时 BET 可降低肝脏微粒体三酰甘油转移蛋白 (MTTP) 的甲基化水平^[10], 促进肝脏的 TG 组装成极低密度脂蛋白 (VLDL), 从而转运出肝外, 并且 BET 可以抑制肝脏脂肪质量和肥胖相关基因 (fat mass and obesity-associated gene) 表达, 上调 *N*⁶-甲基腺苷的 mRNA 甲基化, 促进肝脏脂解和抑制脂质生成^[11]; 2) BET 可抑制胰岛素受体底物-1 (insulin receptor substrate-1, IRS-1) 的磷酸化, 从而调控下游肝脏糖代谢通路, 促进糖原生成, 抑制糖原生, 改善肝脏 IR^[12]; 3) BET 可抑制肝脏叉头框蛋白 O1 (forkhead box O1) 结合到过氧化物酶体增殖激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR γ) 的启动子上^[13], 上调 PPAR α 基因表达^[14], 激活肝脏的腺苷一磷酸活化的蛋白激酶 (AMPK)^[15], 使其磷酸化, 进而调控下游基因表达, 抑制肝脏脂质生成和促进肝脏脂肪酸的氧化, 改善肝脏脂肪变性; 4) BET 可抑制肝脏高迁移组框 1 (high-mobility group box 1) /Toll 样受体 4 (Toll-like receptor, TLR4) 通路, 抑制下游核因子- κ B (NF- κ B) 通路促炎症因子的分泌, 缓解肝脏炎症损伤^[16]; 5) BET 可以抑制肝脏星形细胞 (hepatic stellate cells, HSCs) 的活化, 进而下调 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA)、I 型胶原 (type I collagen, COL1A1) 和转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF β) 等促纤维蛋白的表达, 从而改善肝脏纤维化^[17]。

地骨皮甲素 (kukoamine A, KuA) 是茄科植物枸杞 *Lycium chinense* Mill. 或宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的根皮, 即中药地骨皮中的一种生物碱。研究显示, KuA 可以下调高脂肪饮食 (HFD) 诱导的 NAFLD 小鼠的血清 ALT 和 AST 水平, 降低肝脏 TG 水平, 改善肝脏的脂肪变性和氧化应激损伤^[18], 作用机制如下: 1) KuA 可以提高肝脏的锰超氧化物歧化酶和铜锌超氧化物歧化酶的活性, 下调肝脏的过氧化氢和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平, 改善肝脏氧化应激损伤; 2) KuA 可降低空腹血糖和胰岛素水平, 改善葡萄糖耐受和 IR; 3) KuA 可通过抑制肝脏固醇调节元件结合蛋白 1c (sterol regulatory element binding protein

1c, SREBP1c) 的表达, 进而下调靶基因乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl-CoA carboxylase, ACC) 和脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FAS) 的表达来抑制肝脏脂质合成, 减少肝脏脂质沉积。

辣椒素即辣椒碱 (capsaicin, CAP), 是茄科植物辣椒 *Capsicum annuum* L. 的果实中的活性成分。CAP 特异性地激活 HFD 诱导的 C57BL/6J 类 NAFLD 小鼠的肝脏瞬时电位辣椒碱受体 1 (transient receptor potential vanilloid 1) 阳离子通道, 增加 Ca^{2+} 内流, 促进肝脏的脂肪酸 β -氧化, 降低肝脏 TG 含量和脂质沉积^[19], 作用机制如下: 1) CAP 可以促进肝脏的肉碱棕榈酰转移酶-1 (carnitine palmitoyltransferase-1, CPT-1) 和解耦联蛋白 2 基因表达^[20]; 2) CAP 通过上调肝脏 PPAR δ 基因表达, 促进轻链 3 (light chain 3)、Beclin I 和 Atg5 自噬相关蛋白的表达^[21]; 3) CAP 通过上调肝脏磷酸化的激素敏感性脂酶 (phosphorylated hormone-sensitive lipase) 水平, 促进脂解, 进而促进肝脏的脂肪酸 β -氧化, 减少肝脏脂质沉积^[21]。Hu 等^[22] 研究表明, 单用 CAP 可以降低 HFD 诱导的 NAFLD 小鼠的肝脏 TG 水平, 与抗生素联用后, 还可以降低肝脏总胆固醇 (TC) 水平, 同时改善肝脏 IR。

2 吡啶类

烟碱即尼古丁 (nicotine, NIC), 为茄科植物烟草 *Nicotiana tabacum* L. 的叶中存在的一种吡啶类生物碱。NIC 可以降低胆碱缺乏的左旋氨基酸 (choline-deficient L-amino acid defined, CDAA) 饲料诱导的 Wistar 大鼠 (NASH 模型大鼠) 的血清 AST 和 ALT 水平, 减少肝脏的脂质堆积、脂肪变性和炎症损伤^[23-24]。NIC 作用机制如下: 1) NIC 激活肝脏的 $\alpha 7$ 烟碱乙酰胆碱受体 ($\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor)^[25], 抑制肝脏磷酸化蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6)、NF- κ B 和细胞外信号调节激酶 (extracellular signal regulated kinase) 炎症因子的表达^[26]; 2) NIC 可以抑制肝脏的硬脂酰辅酶 A 去饱和酶-1、FAS 和 ACC 基因的表达, 进而抑制肝脏脂质的合成^[26]; 3) NIC 可通过下调肝脏白细胞分化抗原 68 (cluster of differentiation 68, CD68) 的 mRNA 表达, 减少巨噬细胞浸润^[24]; 4) NIC 可以抑制肝脏的磷酸化肌醇酶-1 (phospho-inositol-requiring enzyme 1, pIRE1)、X 盒结合蛋白-1 (X-box binding protein-1)、

C/EBP 同源蛋白 (C/EBP-homologous protein, CHOP) 和磷酸化真核翻译起始因子-2 α (phospho-eukaryotic translation initiation factor 2 alpha, pEIF2 α) 等内质网 (ER) 应激的相关标志物表达^[26]。

胡椒碱 (piperine, PIP) 是胡椒科植物胡椒 *Piper nigrum* L. 和荜茇 *Piper longum* L. 的果实中的一种哌啶类生物碱。PIP 可以降低 HFD 诱导的 C57BL/6N 小鼠 (NASH 模型小鼠) 的血清 ALT 和 AST 水平, 降低肝脏 TC、TG 和游离脂肪酸 (FFA) 水平, 缓解肝脏的脂肪变性和炎症损伤^[27]。PIP 作用机制如下: 1) PIP 可上调血清脂联素水平, 激活 AMPK^[27], 同时拮抗肝脏 X 受体 α (liver X receptor alpha)^[28], 从而抑制下游靶基因肝脏嘌呤受体、*FAS*、*SREBP1c* 和 *CD36* 等基因表达, 抑制肝脏脂质合成, 增加 *CPT-1* 基因表达, 促进肝脏的脂肪酸 β -氧化; 2) PIP 可通过抑制肝脏的 C-jun N 末端激酶 (C-jun N-terminal kinase, JNK)、激活转录因子-6 (activating transcription factor-6, ATF6)、葡萄糖调节蛋白 78 (glucose-regulated protein78, GRP78) 和 eIF2 α 的磷酸化, 增加胰岛素诱导基因 1 (insulin-induced gene 1) 的表达, 从而减少 ER 应激^[28]。

槐果碱 (sophocarpine, SOP) 是豆科植物苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 的全草中的一种喹诺里西啶类生物碱。SOP 可下调 HFD 诱导的 Sprague-Dawley 大鼠 (NASH 模型大鼠) 的血清 ALT 和 AST 水平, 缓解肝脏的脂肪变性、炎症应激和纤维化损伤^[29]。SOP 作用机制如下: 1) SOP 可上调血清脂联素水平, 降低肝脏 TLR4 的表达, 进而抑制 NF- κ B 和 JNK 炎症通路^[30], 从而减少 IL-6、TNF- α 、TGF β 、瘦素等炎症因子的表达, 缓解肝脏炎症作用^[29]; 2) SOP 可激活肝脏 AMPK 磷酸化, 进而抑制肝脏的 SREBP-1c 和肝细胞核因子 4 α 的基因表达, 减少肝脏的脂质合成^[31]; 3) SOP 可抑制 α -SMA 和胶原 I (procollagen-I) 的表达, 从而减轻肝脏的纤维化程度^[29]。

3 异喹啉类

小檗碱即黄连素 (berberine, BER), 是毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch.、三角叶黄连 *Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao 或云连 *Coptis teeta* Wall. 的根茎中的一种异喹啉类生物碱。口服 BER 可以下调 NAFLD 患者血清的 TNF- α 和 ALT 水平, 降低肝脏脂质沉积^[32]。BER 作用机制如下: 1) BER 可通过上调

肝脏 IRS-2 的表达, 缓解肝脏 IR^[33]; 2) 口服 BER 可显著降低 NAFLD 患者的血清神经酰胺和神经酰胺-1-磷酸水平^[34], 升高肝脏长链非编码 RNA (long noncoding RNAs) MRAK052686 和其密切相关的抗氧化因子核因子红细胞 2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 水平^[35], 改善肝脏 ER 应激, 这被认为是 BER 的新机制; 3) BER 可以激活肝脏 AMPK 通路^[36], 促进肝脏脂肪酸氧化和抑制脂质合成, 同时降低肝脏 MTTP 启动子的甲基化来增加肝脏 TG 的外排^[37], 从而减少肝脏的脂质沉积, 另外, BER 可通过抑制肠道菌群胆盐水解酶的活性, 上调牛磺胆酸水平, 激活肠道的法尼醇 X 受体, 下调肝脏的 CD36 表达, 从而抑制肝脏对长链脂肪酸的摄取^[38]; 4) BER 通过抑制肝细胞鞘氨醇-1-磷酸受体 2 (sphingosine-1-phosphate receptor 2) 的表达来激活细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases) 受体磷酸化^[39], 抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin) 的磷酸化, 从而启动自噬来改善肝细胞的脂肪变性^[40]; 5) BER 可通过抑制肝脏嘌呤受体 P2X₇ (purinergic type 2X₇ receptor) 来抑制包含 P2X₇ 结构域 3 的核苷酸结合寡聚化结构域样受体 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor containing pyrin domain 3, NLRP3) 炎症通路的表达, 抑制肝脏 JNK 磷酸化, 抑制肝脏 Caspase 1、IL-1 β 、CC 趋化因子 2 (CC chemokine ligand 2) 和 COL1A1 炎症因子的表达, 从而缓解肝脏坏死性炎症^[41-43]。此外, BER 还可通过抑制肝脏线粒体呼吸链复合物 I 和 III 的表达来减少烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶-2 依赖的胞质和线粒体活性氧 (ROS) 产生, 减少肝脏的氧化应激损伤^[44-45]; 并且, BER 还具有分子伴侣活性, 可以抑制肝脏 ATF6/SREBP-1c 通路, 抑制 ER 应激、肝内 TG 堆积和胶原沉积, 进而缓解肝脏的纤维化损伤^[46]。

去亚甲基小檗碱 (demethylenoberberine, DMB) 是 BER 的一种活性代谢物, 比小檗碱的毒性更低, 分布于毛茛科植物中。DMB 可以降低蛋氨酸和胆碱缺乏 (methionine and choline deficient, MCD) 的 HFD 诱导的 ICR 小鼠 (NAFLD 模型小鼠) 的血清 ALT 含量, 下调肝脏 TG 和 TC 水平, 缓解肝脏的脂肪变性、炎症应激和纤维化损伤。DMB 作用机制如下: 1) DMB 通过激活肝脏 AMPK, 促进肝脏脂肪酸氧化和抑制脂质

合成, 减少肝脏脂质沉积^[47]; 2) DMB 可下调肝脏脂质过氧化物 MDA 水平, 上调 GSH 水平, 减少炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 的表达, 从而缓解肝脏氧化应激^[47]; 3) DMB 通过抑制 NF- κ B 通路来抑制肝脏 HSC 细胞活化, 进而抑制 TGF β -Smad 通路, 下调基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 和基质金属蛋白酶的抑制剂 (tissue inhibitors of MMPs, TIMPs) 的表达, 进而抑制肝脏的胶原合成, 促进胶原降解, 缓解肝脏纤维化病变^[48]。

荷叶碱 (nuciferine, NUC) 为睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn. 的叶中的一种阿朴啡类生物碱。NUC 可降低 HFD 诱导的 golden Syrian 仓鼠 (NAFLD 模型) 的血清 ALT、TNF- α 、稳态模型评估的 IR 指数 (homeostatic model assessment of insulin resistance, HOMA_{IR}) 和肝脏中的 TC、TG 和 FFA 水平^[49]。NUC 作用机制如下: 1) NUC 通过抑制肝脏 Per-Arnt-Sim 激酶 (Per-Arnt-Sim kinase) 的表达, 进而抑制肝脏脂质生成基因的表达, 减少肝脏脂质沉积; 2) NUC 通过下调肝脏 MDA、TNF- α 、IL-6 和 IL-8 炎症因子的表达, 上调肝脏 SOD 和总抗氧化容量 (total antioxidant capacity) 表达, 减少肝脏炎症和氧化应激损伤^[50]; 3) NUC 可以促进肝脏的脂肪酸氧化和 VLDL 释放, 增加肝脏脂质外排, 减少肝脏脂肪沉积和坏死性炎症^[49]。其次, Liu 等^[51] 通过制备 NUC 装载的聚乳酸-乙醇酸纳米颗粒剂 (NUC-loaded poly lacticco-glycolic acid nanoparticles) 来改善 NUC 的水溶性和生物利用度, 并且增强 NUC 抑制 HFD 诱导的 Sprague-Dawley 大鼠肝脏脂质合成的作用。

(S)YS-51 (YS), 化学名称为 1-(β -萘甲基)-6, 7-二羟基-1, 2, 3, 4-四氢异喹啉, 是一种化学合成的四氢异喹啉类生物碱。YS 可降低 HFD 诱导的 C57BL/6J 小鼠 (NAFLD 模型小鼠) 的血清胰岛素、ALT 和 TNF- α 水平, 减少肝质量和肝脏 TG 累积^[52]。YS 作用机制如下: 1) YS 可通过上调肝脏 NAD⁺/NADH 水平并上调肝脏沉默信息调节因子 1 (sirtuin 1, Sirt1) 的表达来激活肝脏激酶 B1 (liver kinase B1) 和 AMPK 的磷酸化, 进而抑制肝脏脂质生成和缓解氧化应激损伤^[52]; 2) YS 可减少肝脏细胞间黏附分子-1 (intercellular cell adhesion molecule-1)、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein-1)、TNF- α 和 TGF β 基因表达及巨噬细胞浸润, 缓解肝脏纤维化损伤^[52]。

4 黄嘌呤类

己酮可可碱, 别称己酮可可豆碱 (pentoxifylline, PTX), 是梧桐科植物可可树 *Theobroma cacao* L. 的种子, 即可可豆中的可可豆碱结合己酮基所得的一种甲基黄嘌呤类生物碱。PTX 可以显著降低 NAFLD 患者血清 TNF- α 、ALT、AST 和 γ -谷氨酰转移酶 (gamma-glutamyl transferase) 水平, 降低 HOMA_{IR} 指数^[53-55], 降低患者血清亚油酸氧化代谢产物 (9-羟基亚油酸和 13-氧代亚油酸, 与肝脏纤维化密切相关) 和花生四烯酸氧化代谢产物 [8-羟基二十碳四烯酸 (hydroxy-eicosatetraenoic acids, HETE)、9-HETE 和 11-HETE], 且与肝脏小叶炎症密切相关^[56], 从而改善 IR、肝脏脂肪变性、肝脏小叶炎症、气球样病变和肝脏纤维化损伤^[57]。PTX 作用机制如下: 1) 首先, PTX 抑制肝脏 TNF- α 表达, 上调 GSH 水平, 从而改善肝脏炎症损伤^[58-59], 其次, PTX 抑制肝脏 TNF- α 引起的肝脏 TUNEL-阳性细胞数目的增多, 从而抑制肝脏细胞凋亡^[60], 另外, PTX 下调 TNF- α 诱导的 ER 应激相关蛋白 (GRP78、p-eIF2、ATF4、ATF6、IRE1、p-JNK 和 CHOP) 的表达^[61], 缓解肝脏脂肪变性; 2) PTX 可促进肝脏脂肪酸 β -氧化来减少肝脏的脂质堆积^[62]; 3) PTX 可通过抑制肝脏的晚期糖基化终产物及其受体的蛋白水平表达来缓解肝脏的炎症损伤^[63]; 4) PTX 可以抑制血小板来源的生长因子 (platelet-derived growth factor) 丝氨酸位点的磷酸化, 进而抑制肝脏胶原合成和 HSC 细胞的增殖, 缓解肝脏纤维化损伤^[64]。

咖啡因 (caffeine, CAF) 又称咖啡碱, 是茜草科植物咖啡树 *Coffea Robusta* Linden 的种子, 即咖啡豆中的一种黄嘌呤类生物碱。在 NAFLD 患者中, NASH 患者的 CAF 摄入量较低, 且 CAF 的摄入量与 NAS 评分 (对肝脏的脂肪变性、小叶炎症和肝细胞气球样变的组织学特征进行评分) 呈负相关^[65]。在对种族、性别、代谢综合征等因素进行校正后, CAF 与 NAFLD 仍呈显著的负相关性^[65]。CAF 抗纤维化机制为: 1) CAF 具有抗氧化作用, 可抑制肝脏的细胞色素 P450 1A2 的表达^[66]; 2) CAF 可非选择性地拮抗肝脏 HSC 细胞的腺苷 A_{2A} 受体, 抑制肝脏胶原生成^[67]; 3) CAF 可上调肝脏细胞环磷酸腺苷 (cAMP) 水平, 诱导泛素连接酶 Smad 泛素调节因子 2 (Smad ubiquitin regulatory factor 2) 介导的 TGF β 效应物 Smad2 的泛素化/蛋白酶体降解^[68], 下调 Smad2 水平和 Smad1/3 的磷酸化水平, 上调 PPAR γ 表

达, 从而诱导 Smad2/3-CBP/p300 转录复合体的解离, 进而抑制促纤维化的结缔组织生长因子的合成^[69]; 4) CAF 可抑制肝脏 snail-1 水平和促纤维因子的表达, 增加肝脏过氧化氢酶、Nrf2 和 SOD 等抗氧化酶的表达, 减少肝脏的纤维化和氧化损伤^[70]; 5) CAF 诱导肝脏 HSC 细胞凋亡, 上调 HSC 细胞的 F-肌动蛋白和 cAMP 水平, 从而抑制 HSC 的黏附和活化来缓解肝脏的纤维化^[71]。此外, CAF 可以下调 HFD 诱导的 Wistar 大鼠的血清 ALT 和 AST 水平, 减少肝脏的脂质沉积和脂肪变性^[72-74], 其作用机制如下: 1) CAF 拮抗腺苷 A_{2A} 受体, 上调肝脏的 cAMP 水平, 激活抗 cAMP 反应元件结合蛋白 (anti-cAMP-response element-binding protein) 和 Sirt3 的磷酸化, 进而促进肝脏 AMPK 和 ACC 的磷酸化, 从而抑制肝脏脂质合成, 增加肝脏脂肪酸 β-氧化^[72-73]; 2) CAF 通过上调肝脏促自噬蛋白 Atg7、Atg5 和 Beclin 的表达来激活自噬-溶酶体通路, 增加脂质摄取, 动员和水解肝脏的 TG 合成 FFA, 增加肝脏 p-ACC 和 CPT-1α 表达, 促进肝脏脂肪酸 β-氧化^[75]; 3) CAF 可激活肝脏的 IL-6/ 信号转导和转录激活子-3 通路, 从而激活肝脏 AMPK 磷酸化, 进而抑制肝脏脂质合成, 促进肝脏脂肪酸 β-氧化^[76]; 4) CAF 激活内脏脂肪组织的 group 2 固有淋巴细胞, 改善肝脏 IR^[76]。

5 结语

美国肝脏研究协会 (American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD) 2017 年发布的 NAFLD 的诊断和管理指南^[77] 表明, 目前 NAFLD 的治疗仍以体质量和饮食控制为主, 指南推荐的药物有二甲双胍、维生素 E、熊去氧胆酸、罗格列酮和胰高血糖素样多肽-1 (GLP-1) 等, 但这些药物均有或多或少的不足之处: 如二甲双胍和熊去氧胆酸仅改善 NAFLD 患者

血清 ALT 和 AST 水平, 但对肝脏炎症和纤维化损伤无效; 而维生素 E 可以改善 NAFLD 患者的肝脏脂肪变性和炎症, 但对肝脏纤维化病变无效。AASLD 发布的指南中每种药物都能从某一个或几个方面改善 NAFLD, 但均不能作为全面治疗 NAFLD 的一线药物。因此, NAFLD 的治疗药物研发极为重要。

生物碱是天然药物中的一大类成分, 其活性和药理作用 (如抗氧化、甲基供体、提高胰岛素敏感性等) 研究比较深入, 有助于寻找治疗 NAFLD 的潜在药物。如咖啡因不仅具有改善肝脏脂肪沉积和脂肪变性的作用, 还具有改善肝脏纤维化损伤的药效。甜菜碱也能同时改善 NAFLD 患者血清 ALT 和 AST 水平、肝脏脂肪变性、坏死性炎症和纤维化损伤; 另外, 己酮可可碱可通过下调 NAFLD 患者血清 TNF-α (新机制), 进而全面改善 NAFLD 患者的肝脏病变。因此, 生物碱对于现有 NAFLD 药物治疗体系具有协同互补优势。

然而, 生物碱防治 NAFLD 的现有研究仍有不足之处: 其一, 仅有少数生物碱 (甜菜碱、小檗碱和己酮可可碱) 开展过临床试验, 大多数生物碱的研究还处于动物实验或体外分子生物学水平。其二, 部分生物碱的安全性存在少许问题, 例如小檗碱在 MCD 饮食诱导的 C57BL/6J 小鼠体内实验中出现肺两侧积水且伴有肺炎^[41]; 己酮可可碱用于治疗 NAFLD 患者的临床试验时, 患者出现恶心、呕吐、头痛、腹痛和消化不良等不良反应^[53-54]。其三, 生物碱与其他药物联用时的不良反应和药物代谢动力学研究较少。尽管目前生物碱防治 NAFLD 尚存在一些问题, 但其潜在的疗效仍引人关注。笔者相信, 在确保安全性的情况下, 围绕生物碱设计临床试验进行成果转化, 有助于发现新的 NAFLD 治疗药物。

【参考文献】

- [1] Day C P, James O F W. Steatohepatitis: a tale of two "hits"?[J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(4): 842-845.
- [2] Musso G, Cassader M, Gambino R. Non-alcoholic steatohepatitis: emerging molecular targets and therapeutic strategies[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(4): 249-274.
- [3] Sookoian S, Puri P, Castano G O, et al. Nonalcoholic steatohepatitis is associated with a state of betaine-insufficiency[J]. *Liver Int*, 2017, 37(4): 611-619.
- [4] Abdelmalek M F, Angulo P, Jorgensen R A, et al. Betaine, a promising new agent for patients with nonalcoholic steatohepatitis: results of a pilot study[J]. *Am J Gastroenterol*, 2001, 96(9): 2711-2717.
- [5] Abdelmalek M F, Sanderson S O, Angulo P, et al. Betaine for nonalcoholic fatty liver disease: results of a randomized placebo-controlled trial[J]. *Hepatology*, 2009, 50(6): 1818-1826.
- [6] Kwon D Y, Jung Y S, Kim S J, et al. Impaired sulfur-amino acid metabolism and oxidative stress in nonalcoholic fatty liver are alleviated

- by betaine supplementation in rats[J]. *J Nutr*, 2009, 139(1): 63-68.
- [7] Ahn C W, Choi Y J, Hong S H, *et al.* Involvement of multiple pathways in the protection of liver against high-fat diet-induced steatosis by betaine[J]. *J Funct Foods*, 2015, 17: 66-72.
- [8] Tsai M T, Chen Y J, Chen C Y, *et al.* Identification of potential plasma biomarkers for nonalcoholic fatty liver disease by integrating transcriptomics and proteomics in laying hens[J]. *J Nutr*, 2017, 147(3): 293-303.
- [9] Day C R, Kempson S A. Betaine chemistry, roles, and potential use in liver disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860(6): 1098-1106.
- [10] Wang L J, Zhang H W, Zhou J Y, *et al.* Betaine attenuates hepatic steatosis by reducing methylation of the MTP promoter and elevating genomic methylation in mice fed a high-fat diet[J]. *J Nutr Biochem*, 2014, 25(3): 329-336.
- [11] Chen J P, Zhou X H, Wu W C, *et al.* FTO-dependent function of *N*⁶-methyladenosine is involved in the hepatoprotective effects of betaine on adolescent mice[J]. *J Physiol Biochem*, 2015, 71(3): 405-413.
- [12] Kathirvel E, Morgan K, Nandgiri G, *et al.* Betaine improves nonalcoholic fatty liver and associated hepatic insulin resistance: a potential mechanism for hepatoprotection by betaine[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 299(5): G1068-G1077.
- [13] Kim D H, Lee B, Kim M J, *et al.* Molecular mechanism of betaine on hepatic lipid metabolism: inhibition of forkhead box O1 (FoxO1) binding to peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ) [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(36): 6819-6825.
- [14] Ge C X, Yu R, Xu M X, *et al.* Betaine prevented fructose-induced NAFLD by regulating LXR α /PPAR α pathway and alleviating ER stress in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 770: 154-164.
- [15] Song Z, Deaciuc I, Zhou Z, *et al.* Involvement of AMP-activated protein kinase in beneficial effects of betaine on high-sucrose diet-induced hepatic steatosis[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 293(4): G894-G902.
- [16] Zhang W, Wang L W, Wang L K, *et al.* Betaine protects against high-fat-diet-induced liver injury by inhibition of high-mobility group box 1 and Toll-like receptor 4 expression in rats[J]. *Dig Dis Sci*, 2013, 58(11): 3198-3206.
- [17] Bingul I, Aydin A F, Basaran-Kucukgergin C, *et al.* High-fat diet plus carbon tetrachloride-induced liver fibrosis is alleviated by betaine treatment in rats[J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 39: 199-207.
- [18] Li G Y, Zhou F, Chen Y, *et al.* Kukoamine A attenuates insulin resistance and fatty liver through downregulation of Srebp-1c[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89: 536-543.
- [19] Baselga-Escudero L, Souza-Mello V, Pascual-Serrano A, *et al.* Beneficial effects of the mediterranean spices and aromas on non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Trends Food Sci Technol*, 2017, 61: 141-159.
- [20] Li L, Chen J, Ni Y X, *et al.* TRPV1 activation prevents nonalcoholic fatty liver through UCP2 upregulation in mice[J]. *Pflugers Arch*, 2012, 463(5): 727-732.
- [21] Li Q, Li L, Wang F, *et al.* Dietary capsaicin prevents nonalcoholic fatty liver disease through transient receptor potential vanilloid 1-mediated peroxisome proliferator-activated receptor δ activation[J]. *Pflugers Arch*, 2013, 465(9): 1303-1316.
- [22] Hu J J, Luo H H, Jiang Y, *et al.* Dietary capsaicin and antibiotics act synergistically to reduce non-alcoholic fatty liver disease induced by high fat diet in mice[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(24): 38161-38175.
- [23] Nakade Y, Kanamori H, Yamamoto T, *et al.* Tu1812 Continuous administration of nicotine attenuates the progression of choline-deficient, L-amino acid-defined diet induced nonalcoholic steatohepatitis in rats[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(5): S1023-S1023.
- [24] Kanamori H, Nakade Y, Yamauchi T, *et al.* Influence of nicotine on choline-deficient, L-amino acid-defined diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in rats[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0180475. Doi: 10.1371/journal.pone.0180475.
- [25] Zhou Z, Liu Y C, Chen X M, *et al.* Treatment of experimental non-alcoholic steatohepatitis by targeting $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor-mediated inflammatory responses in mice[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(5): 6925-6931.
- [26] Seoane-Collazo P, de Morentin P B M, Ferno J, *et al.* Nicotine improves obesity and hepatic steatosis and ER stress in diet-induced obese male rats[J]. *Endocrinology*, 2014, 155(5): 1679-1689.
- [27] Choi S, Choi Y, Choi Y, *et al.* Piperine reverses high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance in mice[J]. *Food Chem*, 2013, 141(4): 3627-3635.
- [28] Jwa H, Choi Y, Park U H, *et al.* Piperine, an LXR α antagonist, protects against hepatic steatosis and improves insulin signaling in mice fed a high-fat diet[J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(11): 1501-1510.
- [29] Song C Y, Zeng X, Chen S W, *et al.* Sophocarpine alleviates non-alcoholic steatohepatitis in rats[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 26(4): 765-774.
- [30] Song C Y, Zeng X, Wang Y, *et al.* Sophocarpine attenuates toll-like receptor 4 in steatotic hepatocytes to suppress pro-inflammatory

- cytokines synthesis[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2015, 30(2): 405-412.
- [31] Song C Y, Shi J, Zeng X, *et al.* Sophocarpine alleviates hepatocyte steatosis through activating AMPK signaling pathway[J]. *Toxicol In Vitro*, 2013, 27(3): 1065-1071.
- [32] Yan H M, Xia M F, Wang Y, *et al.* Efficacy of berberine in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0134172. Doi: 10.1371/journal.pone.0134172.
- [33] Xing L J, Zhang L, Liu T, *et al.* Berberine reducing insulin resistance by up-regulating IRS-2 mRNA expression in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) rat liver[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 668(3): 467-471.
- [34] Chang X X, Wang Z, Zhang J L, *et al.* Lipid profiling of the therapeutic effects of berberine in patients with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *J Transl Med*, 2016, 14(1): 266. Doi: 10.1186/s12967-016-0982-X.
- [35] Yuan X L, Wang J, Tang X Y, *et al.* Berberine ameliorates nonalcoholic fatty liver disease by a global modulation of hepatic mRNA and lncRNA expression profiles[J]. *J Transl Med*, 2015, 13(1): 24. Doi: 10.1186/s12967-015-0383-6.
- [36] Kim W S, Lee Y S, Cha S H, *et al.* Berberine improves lipid dysregulation in obesity by controlling central and peripheral AMPK activity[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 296(4): E812-E819.
- [37] Chang X X, Yan H M, Fei J, *et al.* Berberine reduces methylation of the MTTP promoter and alleviates fatty liver induced by a high-fat diet in rats[J]. *J Lipid Res*, 2010, 51(9): 2504-2515.
- [38] Sun R B, Yang N, Kong B, *et al.* Orally administered berberine modulates hepatic lipid metabolism by altering microbial bile acid metabolism and the intestinal FXR signaling pathway[J]. *Mol Pharmacol*, 2017, 91(2): 110-122.
- [39] Zhou X Q, Shi R H, Studer E, *et al.* Berberine prevents free fatty acid-induced lipid accumulation by activating ERK through sphingosine-1-phosphate receptor 2 in hepatocytes[J]. *FASEB J*, 2011, 25 (1 Supplement): 751.19.
- [40] He Q, Mei D, Sha S, *et al.* ERK-dependent mTOR pathway is involved in berberine-induced autophagy in hepatic steatosis[J]. *J Mol Endocrinol*, 2016, 57(4): 251-260.
- [41] Vivoli E, Milani S, Provenzano A, *et al.* 1267 Berberine administration ameliorates necroinflammation in experimental steatohepatitis interfering with the inflammasome pathway, but is associated with extrahepatic toxicity[J]. *J Hepatol*, 2012, 56(Suppl 2): S500-S501.
- [42] Guo T, Woo S L, Guo X, *et al.* Berberine ameliorates hepatic steatosis and suppresses liver and adipose tissue inflammation in mice with diet-induced obesity[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 22612. Doi: 10.1038/srep22612.
- [43] Vivoli E, Cappon A, Milani S, *et al.* NLRP3 inflammasome as a target of berberine in experimental murine liver injury: interference with P2X₇ signalling[J]. *Clin Sci*, 2016, 130(20): 1793-1806.
- [44] Sun Y X, Yuan X L, Zhang F F, *et al.* Berberine ameliorates fatty acid-induced oxidative stress in human hepatoma cells[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 11340. Doi: 10.1038/s41598-017-11860-3.
- [45] Rafiei H, Omidian K, Bandy B. Comparison of dietary polyphenols for protection against molecular mechanisms underlying nonalcoholic fatty liver disease in a cell model of steatosis[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2017, 61(9): 1600781. Doi: 10.1002/mnfr.201600781.
- [46] Zhang Z G, Li B, Meng X J, *et al.* Berberine prevents progression from hepatic steatosis to steatohepatitis and fibrosis by reducing endoplasmic reticulum stress[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20848. Doi: 10.1038/srep20848.
- [47] Qiang X Y, Xu L L, Zhang M, *et al.* Demethyleneberberine attenuates non-alcoholic fatty liver disease with activation of AMPK and inhibition of oxidative stress[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 472(4): 603-609.
- [48] Wang Y C, Zhao Z, Yan Y, *et al.* Demethyleneberberine protects against hepatic fibrosis in mice by modulating NF- κ B signaling[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(7): 1036. Doi: 10.3390/ijms17071036.
- [49] Guo F C, Yang X, Li X X, *et al.* Nuciferine prevents hepatic steatosis and injury induced by a high-fat diet in hamsters[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63770. Doi: 10.1371/journal.pone.0063770.
- [50] Zhang D D, Zhang J G, Wu X, *et al.* Nuciferine downregulates PerArnt-Sim kinase expression during its alleviation of lipogenesis and inflammation on oleic acid-induced hepatic steatosis in HepG2 cells[J]. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 238. Doi: 10.3389/fphar.2015.00238.
- [51] Liu Y, Wu X, Mi Y S, *et al.* PLGA nanoparticles for the oral delivery of nuciferine: preparation, physicochemical characterization and *in vitro/in vivo* studies[J]. *Drug Deliv*, 2017, 24(1): 443-451.
- [52] Park E J, Kim Y M, Kim H J, *et al.* (S) YS-51, a novel isoquinoline alkaloid, attenuates obesity-associated non-alcoholic fatty liver disease in mice by suppressing lipogenesis, inflammation and coagulation[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 788: 200-209.
- [53] Satapathy S K, Garg S, Chauhan R, *et al.* Beneficial effects of tumor necrosis factor- α inhibition by pentoxifylline on clinical, biochemical, and metabolic parameters of patients with nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Am J Gastroenterol*, 2004, 99(10): 1946-1952.
- [54] Adams L A, Zein C O, Angulo P, *et al.* A pilot trial of pentoxifylline in nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Am J Gastroenterol*, 2004, 99(12): 2365-2368.

- [55] Cioboata R, Gaman A, Traşca D, *et al.* Pharmacological management of non-alcoholic fatty liver disease: atorvastatin versus pentoxifylline[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(5): 2375-2381.
- [56] Zein C O, Lopez R, Fu X M, *et al.* Pentoxifylline decreases oxidized lipid products in nonalcoholic steatohepatitis: new evidence on the potential therapeutic mechanism[J]. *Hepatology*, 2012, 56(4): 1291-1299.
- [57] Zein C O, Yerian L M, Gogate P, *et al.* Pentoxifylline improves nonalcoholic steatohepatitis: a randomized placebo-controlled trial[J]. *Hepatology*, 2011, 54(5): 1610-1619.
- [58] Acedo S C, Caria C R, Gotardo E M, *et al.* Role of pentoxifylline in non-alcoholic fatty liver disease in high-fat diet-induced obesity in mice[J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(24): 2551-2558.
- [59] Koppe S W P, Sahai A, Malladi P, *et al.* Pentoxifylline attenuates steatohepatitis induced by the methionine choline deficient diet[J]. *J Hepatol*, 2004, 41(4): 592-598.
- [60] Kudo H, Takahara T, Yata Y, *et al.* Lipopolysaccharide triggered TNF- α -induced hepatocyte apoptosis in a murine non-alcoholic steatohepatitis model[J]. *J Hepatol*, 2009, 51(1): 168-175.
- [61] Chae M K, Park S G, Song S O, *et al.* Pentoxifylline attenuates methionine-and choline-deficient-diet-induced steatohepatitis by suppressing TNF- α expression and endoplasmic reticulum stress[J]. *Exp Diabetes Res*, 2012, 2012: 762565. Doi: 10.1155/2012/762565.
- [62] Ye J H, Chao J, Chang M L, *et al.* Pentoxifylline ameliorates non-alcoholic fatty liver disease in hyperglycaemic and dyslipidaemic mice by upregulating fatty acid β -oxidation[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 33102. Doi: 10.1038/srep33102.
- [63] Wu J, Zhao M Y, Zheng H, *et al.* Pentoxifylline alleviates high-fat diet-induced non-alcoholic steatohepatitis and early atherosclerosis in rats by inhibiting AGE and RAGE expression[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 31(10): 1367-1375.
- [64] Hemsworth-Peterson T C. The mechanism behind the novel fibrosis recently described in NASH in HEPATOLOGY 2011 and elsewhere[J]. *Hepatology*, 2012, 56(4): 1585-1585.
- [65] Birerdinc A, Stepanova M, Pawloski L, *et al.* Caffeine is protective in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2012, 35(1): 76-82.
- [66] Upala S, Sanguankeo A, Jaruvongvanich S, *et al.* 421 Caffeine is associated with decreased risk of advanced hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis C: a systematic review and meta-analysis[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(4): S1031-S1032.
- [67] Chan E S L, Montesinos M C, Fernandez P, *et al.* Adenosine A_{2A} receptors play a role in the pathogenesis of hepatic cirrhosis[J]. *Br J Pharmacol*, 2006, 148(8): 1144-1155.
- [68] Gressner O A. Less Smad2 is good for you! A scientific update on coffee's liver benefits[J]. *Hepatology*, 2009, 50(3): 970-978.
- [69] Gressner O A, Lahme B, Rehbein K, *et al.* Pharmacological application of caffeine inhibits TGF- β -stimulated connective tissue growth factor expression in hepatocytes via PPAR gamma and SMAD2/3-dependent pathways[J]. *J Hepatol*, 2008, 49(5): 758-767.
- [70] Gordillo-Bastidas D, Ocegüera-Contreras E, Salazar-Montes A, *et al.* Nrf2 and Snail-1 in the prevention of experimental liver fibrosis by caffeine[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(47): 9020-9033.
- [71] Shim S G, Jun D W, Kim E K, *et al.* Caffeine attenuates liver fibrosis via defective adhesion of hepatic stellate cells in cirrhotic model[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 28(12): 1877-1884.
- [72] Helal M G, Ayoub S E, Elkashefand W F, *et al.* Caffeine affects HFD-induced hepatic steatosis by multifactorial intervention[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2018, 37(9): 983-990.
- [73] Zhang S J, Li Y F, Wang G E, *et al.* Caffeine ameliorates high energy diet-induced hepatic steatosis: sirtuin 3 acts as a bridge in the lipid metabolism pathway[J]. *Food Funct*, 2015, 6(8): 2578-2587.
- [74] Panchal S K, Wong W Y, Kauter K, *et al.* Caffeine attenuates metabolic syndrome in diet-induced obese rats[J]. *Nutrition*, 2012, 28(10): 1055-1062.
- [75] Sinha R A, Farah B L, Singh B K, *et al.* Caffeine stimulates hepatic lipid metabolism by the autophagy-lysosomal pathway in mice[J]. *Hepatology*, 2014, 59(4): 1366-1380.
- [76] Hayashi S, Cai X, Fang C, *et al.* SAT-352-Role of group 2 innate lymphoid cells in the prevention of high-fat diet-induced nonalcoholic steatohepatitis by caffeine[J]. *J Hepatol*, 2017, 66(1): S607-S607.
- [77] Chalasani N, Younossi Z, Lavine J E, *et al.* The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases[J]. *Hepatology*, 2017, 67(1):328-357.