

## RASSEGNA

# BERBERINA, UN ALCALOIDE VEGETALE CON ATTIVITÀ IPOLIPEMIZZANTE E IPOGLICEMIZZANTE

## Berberine, a plant alkaloid with lipid and glucose-lowering properties

ANGELA PIRILLO<sup>1,2</sup>, ALBERICO LUIGI CATAPANO<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Centro per lo Studio dell'Arteriosclerosi, Ospedale E. Bassini, Cinisello Balsamo, Milano;

<sup>2</sup>IRCCS MultiMedica, Milano;

<sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano

### SUMMARY

Berberine (BBR) is a plant alkaloid that exhibits several pharmacological activities. The main pharmacological activity recognized to BBR is its cholesterol-lowering property, due to the ability to increase the expression of hepatic low density lipoprotein receptor (LDLR) and to reduce the expression of pro-protein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9); this results in improved lipid profile and reduced atherosclerotic lesions in hypercholesterolemic animals. BBR has also a relevant hypoglycemic activity: in diabetic animals, BBR significantly reduced glucose levels, improved glucose tolerance, reduced body weight gain and adipose tissue mass. Several clinical trials have also investigated the efficacy of BBR in humans. In hypercholesterolemic patients, BBR significantly improved the lipid profile, without major adverse effects; in diabetic patients, BBR reduced glucose and cholesterol levels, and in subjects with metabolic syndrome improved lipid and glucose profile and decreased body mass index and waist circumference. No serious adverse effects have been reported in these trials. These findings, together with the good tolerability, suggest that BBR administration might be considered a potential therapeutic approach for the treatment of hypercholesterolemia or diabetes. However, the long-term safety of this compound remains to be addressed and clinical studies on the real efficacy of BBR in the prevention of cardiovascular events are still lacking.

**Keywords:** berberine, atherosclerosis, LDL receptor, lipid-lowering, glucose-lowering, AMPK.

### Introduzione

La berberina (BBR) è un alcaloide vegetale (*Figura 1*) appartenente alla classe delle protoberberine e comunemente presente in diverse specie, quali *Berberis vulgaris*, *Coptis chinensis*, *Berberis aristata* (1). BBR possiede attività anti-microbica, ipoglicemizzante e ipolipemizzante, antitumorale e immunomodulatoria e anche un effetto benefico sull'apparato car-

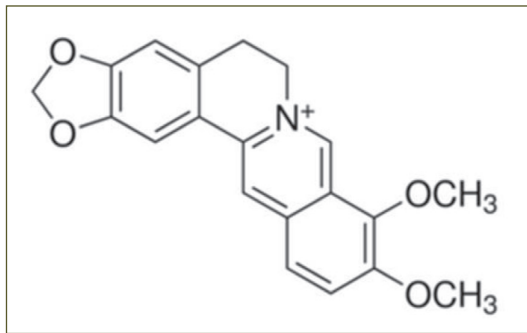
Indirizzo per la corrispondenza

Prof. Alberico L. Catapano

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari

Via Balzaretti, 9 - 20133 Milano

E-mail:alberico.catapano@unimi.it



**Figura 1** - Struttura di berberina.

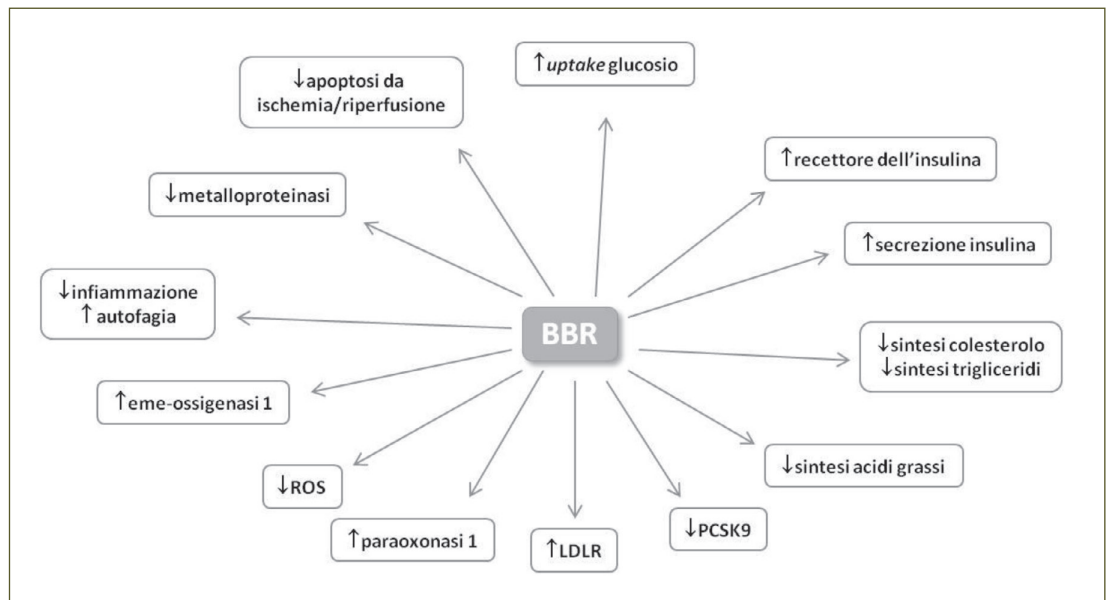
diovascolare (1); sono stati descritti numerosi meccanismi d'azione che suggeriscono un potenziale ruolo farmacologico di BBR nel trattamento dell'aterosclerosi (Figura 2).

### Assorbimento e metabolismo di berberina

A livello intestinale l'assorbimento di BBR è molto basso (<5%) (2); BBR è infatti substrato di alcuni trasportatori di membrana, quali glicoproteina-P (P-gp)

e proteina di resistenza multi-farmaco 1 (MRP1) che portano BBR fuori dagli enterociti, riducendone così l'assorbimento (2, 3). In aggiunta, BBR aumenta l'espressione e la funzionalità di P-gp, (2), riducendo così il proprio assorbimento e quello di altri substrati di questo trasportatore, mentre la co-somministrazione con un inibitore di P-gp ne aumenta l'assorbimento (4). Infine BBR è anche substrato dei trasportatori di cationi organici 1 e 2 (OCT1 e OCT2), responsabili del trasporto di metformina, il farmaco anti-diabetico più utilizzato (5). Questo può comportare una possibile interazione tra farmaci in caso di co-somministrazione (5).

Il sistema del citocromo P450 (CYP) ha un ruolo fondamentale nel metabolismo di farmaci, ormoni e xenobiotici; quindi la modulazione dell'espressione/attività degli enzimi CYP può determinare interazione metabolica tra farmaci somministrati in concomitanza e avere quindi conseguenze cliniche. BBR modula l'espressione/attività di alcuni isoenzimi di



**Figura 2** - Principali meccanismi d'azione di berberina.

CYP450 (6; 7) e può di conseguenza interagire con alcuni farmaci (ad es. ciclosporina e tacrolimus) (8, 9).

BBR è generalmente ben tollerata e non sono stati riportati effetti collaterali gravi in seguito a sua somministrazione; gli effetti collaterali più comunemente osservati sono di natura gastrointestinale (nausea, vomito, costipazione) (10-13). Tuttavia, poiché ad oggi mancano studi clinici a lungo termine, la sicurezza della somministrazione per tempi lunghi nell'uomo è ancora da determinare.

### Effetti di BBR *in vitro*

Il principale meccanismo d'azione di BBR è legato all'attivazione di AMPK (*AMP-activated protein kinase*) (14), un "sensore energetico" cellulare che, in seguito ad attivazione stimola processi catabolici (ossidazione degli acidi grassi, uptake del glucosio, lipolisi) e inibisce processi anabolici (gluconeogenesi, sintesi degli acidi grassi, sintesi del colesterolo) (14). BBR ha numerosi effetti in molti tipi di cellule, tra cui epatociti, cellule della parete arteriosa, adipociti (*Tabella 1*).

**Epatociti.** Tra gli effetti più importanti di BBR vi è l'attività ipocolesterolemizzante, dovuta a un'aumentata espressione del recettore LDL (LDLR) e ad un maggiore uptake di LDL negli epatociti (15).

In aggiunta, BBR riduce l'espressione di PCSK9 (proteina convertasi subtilisina/kexina tipo 9), una serina proteasi prodotta dal fegato che favorisce la degradazione di LDLR e determina quindi un aumento della quantità di LDL circolanti (16). L'effetto di BBR su PCSK9 può avere un risvolto positivo anche quando associato a terapia statinica, poiché è noto che le statine aumentano l'espressione di PCSK9 (17).

L'attività ipolipemizzante di BBR è legata

anche ad altri meccanismi d'azione, inclusi la riduzione di sintesi e secrezione epatica di colesterolo e trigliceridi (TG) e aumentata ossidazione di acidi grassi (18, 19).

**Macrofagi.** BBR, attraverso l'attivazione di diverse vie cellulari, inibisce reclutamento e attivazione dei macrofagi e il conseguente rilascio di citochine pro-infiammatorie, due eventi chiave nelle prime fasi dell'aterogenesi (20-22). Inoltre, BBR ha effetto positivo anche su altri processi in cui sono coinvolti i macrofagi, inclusi l'espressione delle metalloproteinasi (enzimi coinvolti nella destabilizzazione della placca) (23, 24), l'espressione di recettori scavenger (25), e la macropinosi (pro-

**Tabella 1 - Effetti di berberina *in vitro*.**

| Tipo cellulare          | Effetti osservati  |
|-------------------------|--|
| Epatociti               | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↑ LDLR</li> <li>• ↓ PCSK9</li> <li>• ↓ sintesi colesterolo e trigliceridi</li> </ul>  |
| Macrofagi               | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ migrazione e attivazione</li> <li>• ↓ metalloproteinasi</li> <li>• ↓ espressione recettori scavenger</li> <li>• ↓ macropinosi</li> </ul>  |
| Cellule muscolari lisce | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ migrazione e proliferazione</li> </ul>  |
| Cellule endoteliali     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ molecole d'adesione</li> <li>• ↓ chemochine</li> <li>• ↑ espressione ed attività di eNOS</li> <li>• ↓ stress ossidativo</li> <li>• ↓ microparticelle</li> <li>• ↑ cellule progenitrici endoteliali</li> </ul> |
| Cellule β-pancreatiche  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ stress ossidativo</li> <li>• ↑ secrezione insulina</li> </ul>   |
| Adipociti               | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↑ uptake e consumo di glucosio</li> <li>• ↓ geni pro-infiammatori</li> <li>• ↓ differenziazione</li> </ul>  |
| Miociti                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↑ uptake e consumo di glucosio</li> </ul>   |
| Cardiomiociti           | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↑ uptake e consumo di glucosio</li> <li>• ↓ apoptosi da danno ischemia/riperfusion</li> </ul>   |
| Cellule mesangiali      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ proliferazione</li> <li>• ↓ accumulo matrice extracellulare</li> </ul>  |
| Cellule ossee           | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ differenziazione osteoclasti</li> <li>• ↑ differenziazione osteoblasti</li> </ul>   |

cesso di internalizzazione delle LDL indipendente dai recettori) (26).

*Cellule muscolari lisce.* Migrazione e proliferazione delle cellule muscolari lisce vasali (VSMC) sono coinvolte nei processi di ispessimento intinale e di restenosi; BBR inibisce migrazione e proliferazione di VSMC e riduce la formazione di ispessimento in un modello animale (27, 28).

*Cellule endoteliali.* La perdita di funzionalità dell'endotelio rappresenta uno degli eventi più precoci nell'aterosclerosi e preservare o correggere la funzionalità endoteliale può avere effetti benefici (29). BBR inibisce l'attivazione dell'endotelio riducendo l'espressione di molecole di adesione e di chemochine (30, 31), aumenta l'espressione e l'attività di eNOS e di conseguenza la produzione di ossido nitrico (NO), riduce lo stress ossidativo (32). Inoltre, riduce l'apoptosi delle cellule endoteliali indotta da leucociti isolati da pazienti diabetici (33); riduce il numero di microparticelle di origine endoteliale (marker di disfunzione endoteliale) in soggetti trattati, con miglioramento della funzionalità endoteliale (34); aumenta il numero di cellule progenitrici endoteliali (EPC) circolanti, che svolgono un ruolo fondamentale nel mantenimento della normale funzione endoteliale (35).

*Altri tipi cellulari.* Sono stati riportati effetti benefici di BBR su molti altri tipi di cellule. Ad esempio, BBR riduce lo stress ossidativo e normalizza la secrezione di insulina in cellule  $\beta$ -pancreatiche esposte ad alti livelli di glucosio (36); migliora il metabolismo del glucosio in adipociti, miociti e cardiomiociti (37, 38); riduce l'assorbimento intestinale di glucosio (39); riduce l'espressione di geni pro-infiammatori (40); inibisce la differenziazione degli adipociti (41); riduce l'apoptosi di cardiomiociti indotta da danno ischemico (42); inibisce la proliferazione di cellule

mesangiali esposte a elevate concentrazioni di glucosio e inibisce l'accumulo di matrice extracellulare (43, 44); riduce la differenziazione di osteoclasti e aumenta la differenziazione di osteoblasti (45, 46).

### Effetti di berberina in modelli animali

*Ipercolesterolemia.* Numerosi studi in animali hanno dimostrato che anche *in vivo* BBR riduce i livelli di LDL-C aumentando l'espressione di LDLR (15; 47); quando sottoposti a dieta pro-aterogena, la somministrazione di BBR riduce significativamente l'entità delle lesioni aortiche, lo stress ossidativo e l'infiammazione vascolare (48) (Tabella 2). BBR riduce i livelli di colesterolo anche riducendone l'assorbimento intestinale, suggerendo meccanismi d'azione multipli (49). In aggiunta, BBR sembra avere effetti positivi anche su altri fattori di rischio cardiovascolare, quali livelli di omocisteina e infiammazione (Tabella 2) (50, 51).

BBR e simvastatina aumentano in modo comparabile l'espressione di LDLR, ma in combinazione si osserva un ulteriore aumento dell'espressione epatica di LDLR; analogamente, BBR e simvastatina riducono in modo paragonabile i livelli plasmatici di LDL-C ma in combinazione si osserva un maggiore effetto ipocolesterolemizzante (47). Sia BBR che simvastatina riducono i livelli epatici di TC e TG riducendo la steatosi epatica indotta da dieta ipercolesterolemica e migliorano la morfologia del tessuto epatico e i livelli di enzimi epatici, con un miglioramento ancora maggiore con la terapia combinata (47).

BBR migliora anche la funzionalità renale in ratti ipercolesterolemici riducendo pressione arteriosa, livelli di LDL-C e di albumina urinaria, infiammazione e

stress ossidativo (52), suggerendo un possibile effetto di BBR anche sulla disfunzione renale associata all'aterosclerosi (Tabella 2).

**Diabete di tipo 1.** Il diabete di tipo 1 (T1D) è una malattia autoimmune causata dal danno indotto dai linfociti T (Th1 e Th17) alle cellule  $\beta$  che secernono insulina (53). In topi con T1D, la somministrazione di BBR riduce significativamente i livelli di glucosio a digiuno (54), migliora i livelli di lipidi e insulina e aumenta il numero di cellule insulari pancreatiche (55) (Tabella 2). Il meccanismo proposto per spiegare questo effetto coinvolge l'inibizione della differenziazione dei linfociti Th1 and Th17 (34).

**Diabete di tipo 2.** In modelli animali diabetici BBR riduce i livelli di glucosio, colesterolo e TG, con aumento di HDL e apoA-I (56), aumenta i livelli di enzimi antiossidanti nel tessuto cardiaco e induce rigenerazione del tessuto pancreatico danneggiato, riduce il peso corporeo e la massa di tessuto adiposo, riduce lo stress ossidativo (Tabella 2) (34, 57, 58). Vari meccanismi sono alla base dell'effetto ipoglicemizzante di BBR e coinvolgono, almeno in parte, l'attivazione di AMPK (58). BBR sembra avere effetti positivi anche su alcune condizioni patologiche correlate al diabete: infatti, BBR migliora la funzionalità cardiaca in condizioni di iperglicemia/ipercolesterolemia o di danno ischemico (59, 60) e ha effetto benefico sulla nefropatia diabetica (Tabella 2) (61).

**Obesità.** BBR riduce l'incremento di peso corporeo, riduce i livelli di glucosio e di lipidi, migliora la tolleranza al glucosio e controlla l'adipogenesi (62-64), con effetti positivi su fattori coinvolti nell'obesità e nell'insulino-resistenza (Tabella 2).

Un altro meccanismo attraverso cui BBR può inibire lo sviluppo del diabete è correlato alle sue proprietà anti-microbi-

**Tabella 2 - Effetti di berberina in modelli animali.**

| Modelli animali    | Effetti osservati   |
|--------------------|---|
| Ipercolesterolemia | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ LDL-C</li> <li>• ↑ LDLR</li> <li>• ↓ lesioni aterosclerotiche</li> <li>• ↓ stress ossidativo</li> <li>• ↓ infiammazione</li> <li>• ↓ omocisteina</li> <li>• ↑ funzionalità renale</li> </ul>   |
| Diabete tipo 1     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ glucosio a digiuno</li> <li>• ↑ livelli insulina</li> <li>• ↓ LDL-C</li> <li>• ↑ numero cellule insulari pancreatiche</li> <li>• ↓ differenziazione Th1 and Th17</li> </ul>  |
| Diabete tipo 2     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ livelli glucosio; tolleranza al glucosio</li> <li>• ↓ colesterolo totale, trigliceridi, apoB</li> <li>• ↑ HDL-C, apoA-I</li> <li>• ↑ livelli enzimi antiossidanti</li> <li>• ↑ rigenerazione tessuto pancreatico</li> <li>• ↓ peso corporeo</li> <li>• ↓ massa tessuto adiposo</li> <li>• ↓ stress ossidativo</li> <li>• ↑ funzionalità cardiaca</li> <li>• migliora nefropatia diabetica</li> </ul> |
| Obesità            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ colesterolo totale, trigliceridi, glucosio</li> <li>• ↑ tolleranza al glucosio</li> <li>• ↓ adipogenesi</li> <li>• effetti sul microbiota intestinale</li> </ul>   |

che e alla capacità di modulare il microbiota intestinale, la cui composizione può influenzare la predisposizione al diabete (65). Infatti, avendo BBR un ridotto assorbimento, agisce localmente nell'intestino e quindi può modificare la composizione del microbiota (Tabella 2) (66), riducendo così l'infiammazione sistemica e contribuendo all'effetto positivo contro insulino-resistenza, obesità e diabete.

### Studi clinici

**Ipercolesterolemia.** La prima dimostrazione dell'effetto ipocolesterolemizzante di BBR è stata ottenuta in pazienti ipocolesterolemici cinesi (15), ma questo effetto è stato successivamente confermato in pazienti caucasici (67). Una recente meta-

analisi ha avvalorato queste osservazioni, in assenza di eventi avversi rilevanti (*Tabella 3*) (13). Sia BBR che simvastatina riducono in modo comparabile i livelli di LDL-C, colesterolo totale e TG in pazienti ipercolesterolemici, con un effetto ancora più marcato quando somministrati in combinazione (47). In combinazione con altri composti naturali ad attività ipocolesterolemizzante, quali policosanolo e riso rosso fermentato, BBR riduce i livelli plasmatici di lipidi e migliora la funzionalità endoteliale e l'insulino-resistenza (68). Anche i soggetti più anziani (>75 anni) intolleranti alle statine beneficiano del trattamento con questa combinazione nutraceutica (69), e soggetti con ipercolesterolemia familiare trattati con statine o statina+ezetimibe ottengono un'ulteriore riduzione dei livelli di LDL-C in seguito ad aggiunta della combinazione nutraceutica alla terapia (70).

**Diabete e sindrome metabolica.** Il principale meccanismo d'azione che spiega l'attività ipoglicemizzante di BBR sembra essere l'aumentata espressione di InsR e il conseguente aumento dell'*uptake* di glucosio (*Tabella 3*) (71), ma sono stati identificati anche altri meccanismi coinvolti in questo effetto (ad esempio l'effetto sul

microbiota intestinale) (34). Una meta-analisi ha confermato l'efficacia ipoglicemizzante di BBR (10): BBR riduce i livelli di glucosio a digiuno e postprandiali e i livelli di emoglobina glicata e di lipidi in modo più significativo rispetto al semplice cambiamento dello stile di vita (*Tabella 3*) (10). BBR riduce i livelli di glucosio e di emoglobina glicata in modo comparabile agli ipoglicemizzanti orali, ma a differenza di questi ultimi, migliora anche il profilo lipidico, e quando somministrati in combinazione l'effetto è ancora più significativo (10). Anche in soggetti con sindrome metabolica BBR modifica diversi parametri (circonferenza vita, pressione sistolica, livelli di TG, glucosio e insulina) portando a una remissione del 36% della presenza di sindrome metabolica (72); in aggiunta BBR inibisce la differenziazione degli adipociti (*Tabella 3*) (73).

### Limiti degli studi clinici su BBR

Nonostante i numerosi effetti positivi descritti negli studi clinici, esistono alcuni limiti che devono essere presi in considerazione. In primo luogo, la maggior parte degli studi clinici sono stati effettuati nella popolazione cinese (10), ma risultati analoghi sono stati ottenuti anche nella popolazione caucasica (67, 68, 74). In secondo luogo, si tratta prevalentemente di studi a breve termine; questo può comportare una sottostima dei possibili effetti avversi e di tollerabilità a lungo termine. In terzo luogo, questi studi sono stati condotti in gruppi con bassa numerosità, e quindi necessitano di essere ripetuti in popolazioni più ampie. Tutte queste osservazioni suggeriscono la necessità di studi a lungo termine in popolazioni più numerose per stabilire i possibili effetti clinici e la sicurezza della somministrazione di BBR.

**Tabella 3 - Effetti di berberina in studi clinici.**

| Condizione patologica | Effetti osservati  |
|-----------------------|--|
| Ipercolesterolemia    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ colesterolo totale, LDL-C, trigliceridi</li> <li>• ↑HDL-C</li> <li>• ↑funzionalità endoteliale</li> </ul>   |
| Diabete               | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ livelli di glucosio a digiuno e postprandiali</li> <li>• ↓ emoglobina glicata</li> <li>• ↓ colesterolo totale, LDL-C, trigliceridi</li> <li>• ↑HDL-C</li> </ul> |
| Sindrome metabolica   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ circonferenza vita</li> <li>• ↓ pressione sistolica</li> <li>• ↓ trigliceridi, glucosio, insulina</li> <li>• ↓ differenziazione adipociti</li> </ul>            |

### Come aumentare la biodisponibilità di BBR?

La concentrazione massima plasmatica (C<sub>max</sub>) di BBR è molto bassa (4 ng/ml nel ratto e 0,4 ng/ml nell'uomo) (75, 76); a causa della bassa biodisponibilità, nell'uomo BBR è generalmente utilizzata ad alte dosi (0,9-1,5 g/die) che, nonostante un buon profilo di sicurezza, possono provocare effetti indesiderati a livello gastrointestinale (10-13), limitandone l'applicazione clinica. Per questo motivo, sono stati valutati diversi approcci per migliorare la biodisponibilità di BBR, che prevedono la co-somministrazione di BBR con sostanze che ne aumentino l'assorbimento e la generazione di derivati o analoghi di BBR che abbiano le stesse proprietà farmacologiche ma con una migliore biodisponibilità, che consentirebbero di ottenere gli stessi effetti terapeutici con dosi inferiori.

### Co-somministrazione con composti che modificano l'assorbimento

BBR è un substrato di P-gp e la sua biodisponibilità è ridotta proprio dall'attività di questo trasportatore di membrana (2, 3) e aumenta in modo significativo in presenza di inibitori di P-gp (34). Per aumentare la biodisponibilità di BBR in pazienti dislipidemic, è stata valutata una formulazione nutraceutica contenente BBR e un estratto di *Silybum marianum*, un inibitore di P-gp, la cui somministrazione ha indotto un miglioramento del profilo lipidico e della secrezione di insulina (77). Effetti simili sono stati riportati in pazienti sovrappeso e dislipidemic, in pazienti diabetici o in pazienti ipercolesterolemici intolleranti alle statine (12, 78, 79). BBR e la combinazione nutraceutica riducono in modo analogo molti parametri (LDL-C, colesterolo totale, glucosio), ma la secon-

da riduce in modo più rilevante HbA1c (80), suggerendo che l'inibizione di P-gp possa aumentare la biodisponibilità di BBR e quindi la sua attività ipoglicemizzante.

Il sodio caprato, un acido grasso a media catena, inibisce l'attività di P-gp e aumenta la permeabilità dell'epitelio intestinale, determinando aumento dell'assorbimento intestinale e dei livelli plasmatici di BBR e degli effetti ipoglicemizzante e ipolipemizzante in ratti diabetici (81-83). Altri inibitori di P-gp somministrati in combinazione con BBR si sono dimostrati efficaci nell'aumentarne l'assorbimento e la sua azione su parametri lipidici e glicemici (84-88).

Per migliorare l'assorbimento di BBR è stata valutata anche la possibilità di utilizzare sistemi alternativi di somministrazione, quali ad esempio microemulsioni, sistemi micellari o nanoparticelle che hanno effettivamente mostrato un aumento della biodisponibilità di BBR in modelli animali e una maggiore attività ipoglicemizzante (89-92).

### Composti analoghi o derivati di BBR

Sono stati sviluppati e testati numerosi analoghi e derivati di BBR. Pseudoberberina (pseudoBBR) è un isomero di BBR che possiede aumentata capacità di indurre l'espressione di LDLR rispetto a BBR (93). PseudoBBR ha una ridotta affinità per P-gp e ne induce meno l'espressione, risultando in una maggiore ritenzione all'interno delle cellule e in un'aumentata attività ipolipemizzante e ipoglicemizzante (93, 94). L'8-idrossi-diidroBBR (Hdber) ha un maggiore assorbimento intestinale e una maggiore capacità di inibire l'assorbimento intestinale di zuccheri rispetto a BBR

(95). Nei ratti iperlipidemici Hdber riduce significativamente parametri lipidici, aumenta l'espressione epatica di LDLR e diminuisce l'espressione di PCSK9 in modo comparabile a BBR, ma a un dosaggio pari a un quarto rispetto a quello di BBR (96). Diidroberberina (dhBBR) è un altro derivato con aumentata biodisponibilità e in grado di ridurre significativamente l'adiposità e di migliorare la tolleranza al glucosio a dosi a cui BBR non ha effetto *in vivo* in topi sottoposti a dieta ad alto contenuto di grassi (97). Anche 8,8-dimetildiidroberberina (Di-MeBBR) presenta una maggiore assorbimento, è attivo *in vitro* e in modelli animali mostra una maggior efficacia rispetto a BBR dato che lo stesso effetto viene ottenuto con dosaggi molto inferiori (98, 99). Queste osservazioni suggeriscono quindi che una maggiore biodisponibilità si possa tradurre anche in una maggiore efficacia terapeutica.

## Conclusioni

BBR è un promettente composto con attività ipocolesterolemizzante e ipogli-

cemizzante, come determinato in numerosi studi condotti in modelli animali e nell'uomo. La capacità di inibire PCSK9 lo rende particolarmente interessante come possibile molecola in grado di aumentare l'effetto terapeutico delle statine (che al contrario aumentano l'espressione di PCSK9).

Inoltre, BBR ha effetti positivi anche in soggetti diabetici, con un'efficacia che sembra paragonabile a quella dei comuni antidiabetici orali, suggerendo la possibilità di terapie in combinazione per avere una maggiore efficacia, ma con la necessità di considerare la possibile interazione BBR-farmaco. Lo sviluppo di analoghi o derivati di BBR con una maggior biodisponibilità potrà permettere l'utilizzo di dosi inferiori, riducendo così le possibili interazioni. Finora, gli studi clinici non hanno identificato effetti collaterali gravi, a parte quelli gastrointestinali di moderata entità riportati comunemente. Tuttavia restano da determinare sia la sicurezza della somministrazione di BBR per tempi lunghi sia l'eventuale efficacia nella prevenzione cardiovascolare.

## RIASSUNTO

Berberina (BBR) è un alcaloide vegetale che possiede numerose proprietà. La principale attività farmacologica riconosciuta a BBR è la sua proprietà ipocolesterolemizzante, grazie alla capacità di aumentare l'espressione del recettore epatico per le lipoproteine a bassa densità (LDLR) e di ridurre l'espressione di proproteina convertasi subtilisina/kexina tipo 9 (PCSK9); questo si traduce in un migliore profilo lipidico e riduzione delle lesioni aterosclerotiche in animali ipercolesterolemici. BBR possiede anche attività ipoglicemizzante: in animali diabetici, BBR riduce significativamente i livelli di glucosio, migliora la tolleranza al glucosio, riduce il peso corporeo e la massa del tessuto adiposo. Diversi studi clinici hanno valutato l'efficacia di BBR nell'uomo. Nei pazienti con ipercolesterolemia, BBR migliora significativamente il profilo lipidico, senza rilevanti effetti negativi; nei pazienti diabetici, BBR riduce i livelli di glucosio e di colesterolo, e nei soggetti con sindrome metabolica migliora il profilo lipidico, i livelli di glucosio e diminuisce l'indice di massa corporea e la circonferenza vita. In questi studi non sono stati riportati effetti negativi gravi. Queste osservazioni, insieme alla buona tollerabilità, suggeriscono che la somministrazione di BBR potrebbe essere considerato un potenziale approccio terapeutico per il trattamento di ipercolesterolemia o diabete. Tuttavia la sicurezza a lungo termine di questo composto resta ancora da stabilire e sono necessari studi clinici in grado di valutare l'effetto di BBR nella prevenzione di eventi cardiovascolari.

**Parole chiave:** berberina, aterosclerosi, recettore-LDL, attività ipolipemizzante, attività ipoglicemizzante, AMPK.



## Bibliografia

1. Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. Pharmacological and therapeutic effects of *Berberis vulgaris* and its active constituent, berberine. *Phytother Res.* 2008; 22: 999-1012.
2. Maeng HJ, Yoo HJ, Kim IW et al. P-glycoprotein-mediated transport of berberine across Caco-2 cell monolayers. *J Pharm Sci.* 2002; 91: 2614-21.
3. Shitan N, Tanaka M, Terai K. et al. MDR1 and MRP1 recognize berberine as their transport substrate. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2007; 71: 242-5.
4. Pan GY, Wang GJ, Liu XD et al. The involvement of P-glycoprotein in berberine absorption. *Pharmacol Toxicol.* 2002; 91: 193-7.
5. Kwon M, Choi YA, Choi MK, Song IS. Organic cation transporter-mediated drug-drug interaction potential between berberine and metformin. *Arch Pharm Res.* 2015; 38: 849-56.
6. Cui HM, Zhang QY, Wang JL et al. In vitro studies of berberine metabolism and its effect of enzyme induction on HepG2 cells. *J Ethnopharmacol* 2014; 158 Pt A: 388-96.
7. Guo Y, Chen Y, Tan ZR, Klaassen CD, Zhou HH. Repeated administration of berberine inhibits cytochromes P450 in humans. *Eur J Clin Pharmacol.* 2011; 68: 213-7.
8. Colombo D, Lunardon L, Bellia G. Cyclosporin and herbal supplement interactions. *J Toxicol.* 2014; 145325.
9. Hou Q, Han W, Fu X. Pharmacokinetic interaction between tacrolimus and berberine in a child with idiopathic nephrotic syndrome. *Eur J Clin Pharmacol.* 2013, 69: 1861-2.
10. Dong H, Wang N, Zhao L, Lu F. Berberine in the treatment of type 2 diabetes mellitus: a systemic review and meta-analysis. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012; 591654.
11. Yin J., Xing H., Ye J. Efficacy of berberine in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism.* 2008; 57: 712-7.
12. Di Pierro F, Villanova N, Agostini F et al. Pilot study on the additive effects of berberine and oral type 2 diabetes agents for patients with suboptimal glycemic control. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2012; 5: 213-7.
13. Dong H, Zhao Y, Zhao L, Lu F. The effects of berberine on blood lipids: a systemic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Planta Med.* 2013; 79: 437-46.
14. Krishan S, Richardson DR, Sahni S. Adenosine monophosphate-activated kinase and its key role in catabolism: structure, regulation, biological activity, and pharmacological activation. *Mol Pharmacol.* 2015; 87: 363-77.
15. Kong W, Wei J, Abidi P et al. Berberine is a novel cholesterol-lowering drug working through a unique mechanism distinct from statins. *Nat Med.* 2004; 10 : 1344-51.
16. Cameron J, Ranheim T, Kulseth MA et al. Berberine decreases PCSK9 expression in HepG2 cells. *Atherosclerosis.* 2008; 201: 266-73.
17. Li H, Dong B, Park SW et al. Hepatocyte nuclear factor 1alpha plays a critical role in PCSK9 gene transcription and regulation by the natural hypocholesterolemic compound berberine. *J Biol Chem.* 2009; 284: 28885-95.
18. Brusq JM, Ancellin N, Grondin P et al. Issandou, Inhibition of lipid synthesis through activation of AMP kinase: an additional mechanism for the hypolipidemic effects of berberine. *J Lipid Res.* 2006; 47: 1281-8.
19. Cao S, Zhou Y, Xu P et al. Berberine metabolites exhibit triglyceride-lowering effects via activation of AMP-activated protein kinase in Hep G2 cells. *J Ethnopharmacol.* 2013; 149: 576-82.
20. Lee D, Bae J, Kim YK et al. Inhibitory effects of berberine on lipopolysaccharide-induced inducible nitric oxide synthase and the high-mobility group box 1 release in macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013; 431: 506-11.
21. Mo C, Wang L, Zhang J Set al. Wei, and H. Xiao, The crosstalk between Nrf2 and AMPK signal pathways is important for the anti-inflammatory effect of berberine in LPS-stimulated macrophages and endotoxin-shocked mice. *Antioxid Redox Signal.* 2014; 20: 574-88.
22. Fan X, Wang J, Hou J et al. Berberine alleviates ox-LDL induced inflammatory factors by up-regulation of autophagy via AMPK/mTOR signaling pathway. *J Transl Med.* 2015; 13: 450.
23. Huang Z, Meng S, Wang L et al. Suppression of oxLDL-induced MMP-9 and EMMPRIN expression by berberine via inhibition of NF-kappaB activation in human THP-1 macrophages. *Anat Rec (Hoboken).* 2012; 295: 78-86.
24. Huang Z, Wang L, Meng S et al. Berberine reduces both MMP-9 and EMMPRIN expression through prevention of p38 pathway activation in PMA-induced macrophages. *Int J Cardiol.* 2011; 146: 153-8.
25. Guan S, Wang B, Li W et al. Effects of berberine on expression of LOX-1 and SR-BI in human macrophage-derived foam cells induced by ox-LDL. *Am J Chin Med.* 2010; 38: 1161-9.
26. Zimetti F, Adorni MP, Ronda N et al. The natural compound berberine positively affects macrophage functions involved in atherogenesis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2015; 25: 195-201.
27. Cho BJ, Im EK, Kwon JH et al. Berberine inhibits the production of lysophosphatidylcholine-induced reactive oxygen species and the ERK1/2

- pathway in vascular smooth muscle cells. *Mol Cells*. 2005; 20: 429-34.
- 28 Lee S, Lim HJ, Park HY et al. Berberine inhibits rat vascular smooth muscle cell proliferation and migration in vitro and improves neointima formation after balloon injury in vivo. Berberine improves neointima formation in a rat model. *Atherosclerosis*. 2006; 186: 29-37.
  - 29 Mordi I, Tzemos N. Is reversal of endothelial dysfunction still an attractive target in modern cardiology? *World J Cardiol*. 2014; 6: 824-35.
  - 30 Ko YJ, Lee JS, Park BC et al. Inhibitory effects of Zoagumhwan water extract and berberine on angiotensin II-induced monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 expression and monocyte adhesion to endothelial cells. *Vascul Pharmacol*. 2007; 47: 189-96.
  - 31 Wu YH, Chuang SY, Hong WC et al. Berberine reduces leukocyte adhesion to LPS-stimulated endothelial cells and VCAM-1 expression both in vivo and in vitro. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2012; 25: 741-50.
  - 32 Wang Y, Huang Y, Lam KS et al. Berberine prevents hyperglycemia-induced endothelial injury and enhances vasodilatation via adenosine monophosphate-activated protein kinase and endothelial nitric oxide synthase. *Cardiovasc Res*. 2009; 82: 484-92.
  - 33 Tian P, Ge H, Liu H et al. Leukocytes from diabetic patients kill retinal endothelial cells: effects of berberine. *Mol Vis*. 2013; 19: 2092-105.
  - 34 Li Z, Geng YN, Jian JD, Kong WJ. Antioxidant and anti-inflammatory activities of berberine in the treatment of diabetes mellitus. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014; 2014: 289264.
  - 35 Xu MG, Wang JM, Chen L et al. Berberine-induced mobilization of circulating endothelial progenitor cells improves human small artery elasticity. *J Hum Hypertens*. 2008; 22: 389-93.
  - 36 Liu L, Liu J, Gao Y et al. Uncoupling protein-2 mediates the protective action of berberine against oxidative stress in rat insulinoma INS-1E cells and in diabetic mouse islets. *Br J Pharmacol*. 2014; 171: 3246-54.
  - 37 Yin J, Gao Z, Liu D et al. Berberine improves glucose metabolism through induction of glycolysis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008; 294: e148-56.
  - 38 Chang W, Zhang M, Li J et al. Berberine improves insulin resistance in cardiomyocytes via activation of 5'-adenosine monophosphate-activated protein kinase. *Metabolism*. 2013; 62: 1159-67.
  - 39 Pan GY, Huang ZJ, Wang GJ et al. The antihyperglycaemic activity of berberine arises from a decrease of glucose absorption. *Planta Med*. 2003; 69: 632-6.
  - 40 Jeong HW, Hsu KC, Lee JW et al. Berberine suppresses proinflammatory responses through AMPK activation in macrophages. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009; 296: E955-64.
  - 41 Zhang J, Tang H, Deng R et al. Berberine Suppresses Adipocyte Differentiation via Decreasing CREB Transcriptional Activity. *PLoS One*. 2015; 10: e0125667.
  - 42 Yu L, Li F, Zhao G et al. Protective effect of berberine against myocardial ischemia reperfusion injury: role of Notch1/Hes1-PTEN/Akt signaling. *Apoptosis*. 2015; 20: 796-810.
  - 43 Liu W, Tang F, Deng Y et al. Berberine reduces fibronectin and collagen accumulation in rat glomerular mesangial cells cultured under high glucose condition. *Mol Cell Biochem*. 2009; 325: 99-105.
  - 44 Liu W, Liu P, Tao S et al. Berberine inhibits aldose reductase and oxidative stress in rat mesangial cells cultured under high glucose. *Arch Biochem Biophys*. 2008; 475: 128-34.
  - 45 Wei P, Jiao L, Qin LP et al. Effects of berberine on differentiation and bone resorption of osteoclasts derived from rat bone marrow cells. *Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao*. 2009; 7: 342-8.
  - 46 Lee HW, Suh JH, Kim HN et al. Berberine promotes osteoblast differentiation by Runx2 activation with p38 MAPK. *J Bone Miner Res*. 2008; 23: 1227-37.
  - 47 Kong WJ, Wei J, Zuo ZY et al. Combination of simvastatin with berberine improves the lipid-lowering efficacy. *Metabolism*. 2008; 57: 1029-37.
  - 48 Wang Q, Zhang M, Liang B et al. Activation of AMP-activated protein kinase is required for berberine-induced reduction of atherosclerosis in mice: the role of uncoupling protein 2. *PLoS One*. 2011; 6: e25436.
  - 49 Wang Y, Yi X, Ghanam K et al. Berberine decreases cholesterol levels in rats through multiple mechanisms, including inhibition of cholesterol absorption. *Metabolism*. 2014; 63: 1167-77.
  - 50 Chang XX, Yan HM, Xu Q et al. The effects of berberine on hyperhomocysteinemia and hyperlipidemia in rats fed with a long-term high-fat diet. *Lipids Health Dis*. 2012; 11: 86.
  - 51 Xiao HB, Sun ZL, Zhang HB, Zhang DS. Berberine inhibits dyslipidemia in C57BL/6 mice with lipopolysaccharide induced inflammation. *Pharmacol Rep*. 2012; 64: 889-95.
  - 52 Wan X, Chen X, Liu L et al. Berberine ameliorates chronic kidney injury caused by atherosclerotic renovascular disease through the suppression of NFkappaB signaling pathway in rats. *PLoS One*. 2013; 8: e59794.
  - 53 Tisch R, McDevitt H. Insulin-dependent diabetes mellitus. *Cell*. 1996; 85: 291-7.
  - 54 Chueh WH, Lin JY. Protective effect of berber-

- ine on serum glucose levels in non-obese diabetic mice. *Int Immunopharmacol.* 2012; 12: 534-8.
- 55 Chueh WH, Lin JY. Berberine, an isoquinoline alkaloid in herbal plants, protects pancreatic islets and serum lipids in nonobese diabetic mice. *J Agric Food Chem.* 2011; 59: 8021-7.
- 56 Leng SH, Lu FE, Xu LJ. Therapeutic effects of berberine in impaired glucose tolerance rats and its influence on insulin secretion. *Acta Pharmacol Sin.* 2004; 25: 496-502.
- 57 Liu C, Wang Z, Song Y et al. Effects of berberine on amelioration of hyperglycemia and oxidative stress in high glucose and high fat diet-induced diabetic hamsters in vivo. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 313808.
- 58 Lee YS, Kim WS, Kim KH et al. Berberine, a natural plant product, activates AMP-activated protein kinase with beneficial metabolic effects in diabetic and insulin-resistant states. *Diabetes.* 2006; 55: 2256-64.
- 59 Dong SF, Hong Y, Liu M et al. Berberine attenuates cardiac dysfunction in hyperglycemic and hypercholesterolemic rats. *Eur J Pharmacol.* 2011; 660: 368-74.
- 60 Chen K, Li G, Geng F et al. Berberine reduces ischemia/reperfusion-induced myocardial apoptosis via activating AMPK and PI3K-Akt signaling in diabetic rats. *Apoptosis.* 2014; 19: 946-57.
- 61 Ni WJ, Ding HH, Tang LQ. Berberine as a promising anti-diabetic nephropathy drug: An analysis of its effects and mechanisms. *Eur J Pharmacol.* 2015; 760: 103-112.
- 62 Hu Y, Davies GE. Berberine inhibits adipogenesis in high-fat diet-induced obesity mice. *Fito-terapia.* 2010; 81: 358-66.
- 63 Zhang Q, Xiao X, Feng K et al. Berberine Moderates Glucose and Lipid Metabolism through Multipathway Mechanism. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2011; 2011
- 64 Gu JJ, Gao FY, Zhao TY. A preliminary investigation of the mechanisms underlying the effect of berberine in preventing high-fat diet-induced insulin resistance in rats. *J Physiol Pharmacol.* 2012; 63: 505-13.
- 65 Han J, Lin H, Huang W. Modulating gut microbiota as an anti-diabetic mechanism of berberine. *Med Sci Monit.* 2011; 17: RA164-7.
- 66 Zhang X, Zhao Y, Zhang M et al. Structural changes of gut microbiota during berberine-mediated prevention of obesity and insulin resistance in high-fat diet-fed rats. *PLoS One.* 2012; 7: e42529.
- 67 Derosa G, D'Angelo A, Bonaventura A et al. Effects of berberine on lipid profile in subjects with low cardiovascular risk. *Expert Opin Biol Ther.* 2013; 13: 475-82.
- 68 Affuso F, Ruvolo A, Micillo F et al. Effects of a nutraceutical combination (berberine, red yeast rice and policosanols) on lipid levels and endothelial function randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2010; 20: 656-61.
- 69 Marazzi G, Cacciotti L, Pelliccia F et al. Long-term effects of nutraceuticals (berberine, red yeast rice, policosanol) in elderly hypercholesterolemic patients. *Adv Ther.* 2011; 28: 1105-13.
- 70 Pisciotto L, Bellocchio A, Bertolini S. Nutraceutical pill containing berberine versus ezetimibe on plasma lipid pattern in hypercholesterolemic subjects and its additive effect in patients with familial hypercholesterolemia on stable cholesterol-lowering treatment. *Lipids Health Dis.* 2012; 11: 123.
71. Zhang H, Wei J, Xue R et al. Berberine lowers blood glucose in type 2 diabetes mellitus patients through increasing insulin receptor expression. *Metabolism.* 2010; 59: 285-92.
72. Perez-Rubio KG, Gonzalez-Ortiz M, Martinez-Abundis E et al. Espinel-Bermudez, Effect of berberine administration on metabolic syndrome, insulin sensitivity, and insulin secretion. *Metab Syndr Relat Disord.* 2013; 11: 366-9.
73. Yang J, Yin J, Gao H et al. Berberine improves insulin sensitivity by inhibiting fat store and adjusting adipokines profile in human preadipocytes and metabolic syndrome patients. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2012; 2012: 363845.
74. Affuso F, Mercurio V, Ruvolo A et al. A nutraceutical combination improves insulin sensitivity in patients with metabolic syndrome. *World J Cardiol.* 2012; 4: 77-83.
75. Liu Y, Hao H, Xie H et al. Oxidative demethylation and subsequent glucuronidation are the major metabolic pathways of berberine in rats. *J Pharm Sci.* 2009; 98: 4391-401.
76. Hua W, Ding L, Chen Y et al. Determination of berberine in human plasma by liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal.* 2007; 44: 931-7.
77. Derosa G, Bonaventura A, Bianchi L et al. Berberis aristata/Silybum marianum fixed combination on lipid profile and insulin secretion in dyslipidemic patients. *Expert Opin Biol Ther.* 2013; 13: 1495-506.
78. Derosa G, Bonaventura A, Bianchi L et al. Effects of Berberis aristata/Silybum marianum association on metabolic parameters and adipocytokines in overweight dyslipidemic patients. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2013; 27: 717-28.
79. Di Pierro F, Bellone I, Rapacioli G, Putignano P. Clinical role of a fixed combination of standardized Berberis aristata and Silybum marianum

- extracts in diabetic and hypercholesterolemic patients intolerant to statins. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2015; 8: 89-96.
80. Di Pierro F, Putignano P, Villanova N et al. Preliminary study about the possible glycemic clinical advantage in using a fixed combination of *Berberis aristata* and *Silybum marianum* standardized extracts versus only *Berberis aristata* in patients with type 2 diabetes. *Clin Pharmacol.* 2013; 5: 167-74.
81. Lv XY, Li J, Zhang M et al. Enhancement of sodium caprate on intestine absorption and antidiabetic action of berberine. *AAPS PharmSciTech.* 2010; 11: 372-82.
82. Zhang M, Lv X, Li J et al. Sodium caprate augments the hypoglycemic effect of berberine via AMPK in inhibiting hepatic gluconeogenesis. *Mol Cell Endocrinol.* 2012; 363: 122-30.
83. Zhaojie M, Ming Z, Shengnan W et al. Amorphous solid dispersion of berberine with absorption enhancer demonstrates a remarkable hypoglycemic effect via improving its bioavailability. *Int J Pharm.* 2014; 467: 50-9.
84. Chen W, Fan D, Meng L et al. Enhancing effects of chitosan and chitosan hydrochloride on intestinal absorption of berberine in rats. *Drug Dev Ind Pharm.* 2012; 38: 104-10.
85. Chen W, Miao YQ, Fan DJ et al. Bioavailability study of berberine and the enhancing effects of TPGS on intestinal absorption in rats. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2011; 12 : 705-11.
86. Wang Z, Wu J, Zhou Q et al. Berberine nano-suspension enhances hypoglycemic efficacy on streptozotocin induced diabetic C57BL/6 mice. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015; 2015: 239749.
87. Patil S, Dash RP, Anandjiwala S, Nivsarkar M. Simultaneous quantification of berberine and lysergol by HPLC-UV: evidence that lysergol enhances the oral bioavailability of berberine in rats. *Biomed Chromatogr.* 2011; 26: 1170-5.
88. Zhang Y, Cui YL, Gao LN, Jiang HL. Effects of beta-cyclodextrin on the intestinal absorption of berberine hydrochloride, a P-glycoprotein substrate. *Int J Biol Macromol* 2013; 59: 363-71.
89. Gui SY, Wu L, Peng DY et al. Preparation and evaluation of a microemulsion for oral delivery of berberine. *Pharmazie.* 2008; 63: 516-9.
90. Wang T, Wang N., Song H. et al. Preparation of an anhydrous reverse micelle delivery system to enhance oral bioavailability and anti-diabetic efficacy of berberine. *Eur J Pharm Sci.* 2011; 44: 127-35.
91. Zhu JX, Tang D, Feng L et al. Development of self-microemulsifying drug delivery system for oral bioavailability enhancement of berberine hydrochloride. *Drug Dev Ind Pharm.* 2013; 39: 499-506.
92. Xue M, Yang MX, Zhang W et al. Yang, Characterization, pharmacokinetics, and hypoglycemic effect of berberine loaded solid lipid nanoparticles. *Int J Nanomedicine.* 2013; 8: 4677-87.
93. Shan YQ, Ren G, Wang YX et al. Berberine analogue IMB-Y53 improves glucose-lowering efficacy by averting cellular efflux especially P-glycoprotein efflux. *Metabolism.* 2013; 62: 446-56.
94. Li YH, Yang P, Kong WJ et al. Berberine analogues as a novel class of the low-density-lipoprotein receptor up-regulators: synthesis, structure-activity relationships, and cholesterol-lowering efficacy. *J Med Chem.* 2009; 52: 492-501.
95. Wei SC, Dong S, Xu LJ, Zhang CY. Intestinal absorption of berberine and 8-hydroxy dihydroberberine and their effects on sugar absorption in rat small intestine. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci.* 2014; 34: 186-9.
96. Liu DL, Xu LJ, Dong H et al. Inhibition of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9: a novel mechanism of berberine and 8-hydroxy dihydroberberine against hyperlipidemia. *Chin J Integr Med.* 2015; 21: 132-8.
97. Turner N, Li JY, Gosby A et al. Berberine and its more biologically available derivative, dihydroberberine, inhibit mitochondrial respiratory complex I: a mechanism for the action of berberine to activate AMP-activated protein kinase and improve insulin action. *Diabetes.* 2008; 57: 1414-8.
98. Cheng Z, Chen AF, Wu F et al. 8,8-Dimethyl-dihydroberberine with improved bioavailability and oral efficacy on obese and diabetic mouse models. *Bioorg Med Chem.* 2010; 18: 5915-24.
99. Chen J, Cao J, Fang L et al. Berberine derivatives reduce atherosclerotic plaque size and vulnerability in apoE(-/-) mice. *J Transl Med.* 2014; 12: 326.