

紫草素及其衍生物抗妇科肿瘤作用研究进展

陈 静^{1,2}, 侯 尧^{1,2}, 伍春莲^{1,2*}

1. 西华师范大学 西南野生动植物资源保护教育部重点实验室, 四川 南充 637009

2. 西华师范大学生命科学学院, 四川 南充 637009

摘 要: 紫草素是从传统中药紫草中提取的萘醌类化合物, 具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、促进伤口愈合等作用。近年来, 紫草素及其衍生物的抗肿瘤作用得到广泛研究。多项体外和体内研究表明紫草素及其衍生物可有效抑制乳腺癌、宫颈癌等妇科恶性肿瘤的发生与发展。从阻滞细胞周期、促进肿瘤细胞凋亡、抑制癌细胞转移和侵袭、诱导自噬和坏死等方面综述近几年紫草素及衍生物在抗妇科肿瘤领域的研究进展, 为紫草素类化合物在妇科肿瘤中的临床研究提供参考。

关键词: 紫草素; 抗肿瘤; 乳腺癌; 宫颈癌; 卵巢癌; 子宫内膜癌

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)14-3814-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.14.028

Research progress of anti-gynecological tumors effect of shikonin and its derivatives

CHEN Jing^{1,2}, HOU Yao^{1,2}, WU Chun-lian^{1,2}

1. Key Laboratory of Southwest Wildlife Resources Conservation of the Ministry of Education, China West Normal University, Nanchong 637009, China

2. College of Life Science, China West Normal University, Nanchong 637009, China

Abstract: Shikonin is a natural naphthoquinone compound extracted from the traditional Chinese medicine—*Lithospermum*, and it has anti-inflammatory, antioxidant, anti-tumor, wound healing, and other effects. In recent years, the antitumor effects of shikonin and its derivatives have been studied extensively. Numerous studies *in vitro* and *in vivo* showed that shikonin and its derivatives can effectively inhibit the initiation and development of breast cancer, cervical cancer and other gynecological malignancies, the research progress of shikonin in the field of anti-gynecological tumors in recent years was reviewed from the aspects of blocking cell cycle, promoting tumor cell apoptosis, inhibiting cancer cell metastasis and invasion, inducing autophagy and necrosis, etc. It provides a reference for the clinical research of shikonin compounds in gynecological tumors.

Key words: shikonin; anti-tumor; breast cancer; cervical cancer; ovarian carcinoma; endometrial carcinoma

紫草为临床常用中药, 最初记载于《神农本草经》, 味苦、性寒, 有凉血、活血、解毒等功能, 可用于体表清热、内服解毒、局部伤口活血化瘀^[1]。多项研究发现紫草还有显著的抗氧化、抗炎、抗菌、抗病毒、抗肿瘤的药理作用^[2]。紫草的活性成分主要是提取于其干燥根部的萘醌类(naphthoquinone)色素, 较为常见及研究较多的包括硬紫草 *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc. 的主要成

分紫草素(shikonin, **1**, 图1); 新疆软紫草 *Arnebia euchroma* Johnst 的主要成分阿卡宁(alkannin, **2**, 图1), 为紫草素的对映异构体^[3]; 还有从内蒙紫草 *Arnebia guttata* Bunge 中提取的异戊酰紫草素(isovaleryl shikonin)^[4], 其他紫草素天然衍生物如乙酰紫草素、去氧紫草素、异丁酰紫草素、 β -乙酰氧基异戊酰紫草素和 β,β -二甲基丙炔酰紫草素等^[5]。

近年来, 紫草素的药理活性尤其是抗肿瘤作用得

收稿日期: 2020-01-22

基金项目: 教育部“春晖计划”合作科研项目(2018-131); 西华师范大学英才科研基金(17YC350); 西华师范大学基本科研业务费(19B038)

作者简介: 陈 静(1988—), 女, 四川南充人, 在读硕士研究生, 主要从事肿瘤细胞生物学的相关研究。

Tel: 13158508871 E-mail: 184568596@qq.com

*通信作者 伍春莲(1976—), 女, 四川彭州人, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事肿瘤细胞生物学的相关研究。

Tel: 18990874796 E-mail: wcl_xj@163.com

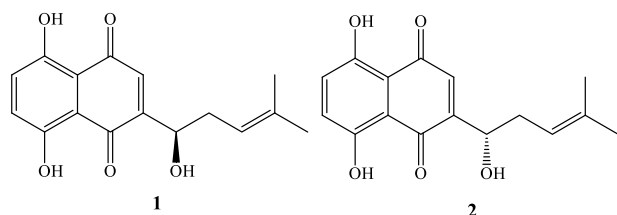


图 1 紫草素和阿卡宁化学结构

Fig.1 Chemical structure of shikonin and alkannin

到广泛研究^[6-7]。为降低其对正常细胞的毒性和提高抑癌效率,研究者对紫草素的结构进行了改造,其分子结构中可供修饰的位点主要包括母核萘茜环、含有 6 个碳原子的侧链及侧链上羟基,从而得到了多种不同的合成衍生物^[8-9],如 2-二硫代氨基甲酸酯-3-甲基取代类紫草素衍生物 PMMB229-240、1,4-二肟-5,8-二甲氧基萘、芳基二氢噻唑酰基紫草素酯衍生物等,且研究了它们对癌细胞和正常细胞的毒性,结果显示紫草素合成衍生物具有更良好的应用前景。现就紫草素及其衍生物对 4 种常见的妇科恶性肿瘤乳腺癌、宫颈癌、卵巢癌及子宫内膜癌的抗肿瘤效应和作用机制进行综述。

1 紫草素抗妇科肿瘤作用研究

1.1 抗乳腺癌

Chen 等^[10]研究紫草素、乙酰紫草素和 β,β -二甲基丙烯酰紫草素对人三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞和小鼠乳腺癌 4T1 细胞的毒性作用发现,紫草素对 4T1 细胞生长有明显抑制作用。紫草素处理 72 h 对 4T1 细胞半数抑制浓度 (IC_{50}) 为 $(0.83 \pm 0.03) \mu\text{mol/L}$,对 MDA-MB-231 细胞的 IC_{50} 为 $(1.13 \pm 0.06) \mu\text{mol/L}$,而对正常乳腺上皮细胞毒性较弱, IC_{50} 为 $(3.76 \pm 0.09) \mu\text{mol/L}$ 。乳腺癌肺转移模型小鼠连续给予紫草素 (10 mg/kg) 14 d 后,治疗组小鼠肺转移结节总数明显少于对照组,结节体积较小,肺转移灶面积也明显减小。结果表明紫草素可抑制乳腺癌细胞肺转移。

Yang 等^[11]发现人乳腺癌 SK-BR-3 细胞经不同浓度的紫草素处理 48 h 后增殖速率降低,凋亡率升高,且具有浓度依赖性,其中紫草素 $1 \mu\text{mol/L}$ 处理组细胞增殖率为 $(24 \pm 4) \%$,凋亡率为 11.6%,与对照组比较差异显著。此外,紫草素 0.1、1、10 $\mu\text{mol/L}$ 处理人乳腺癌 MCF-7 细胞 24 h 后^[12],随紫草素浓度升高,细胞增殖抑制率和凋亡率显著升高。以上结果表明紫草素能剂量依赖性地抑制乳腺癌细

胞的生长。

1.2 抗宫颈癌

用紫草素衍生物 β -羟基异戊酰紫草素 (β -hydroxyisovaleryl shikonin, β -HIVS) 1、5、10 $\mu\text{mol/L}$ 处理人宫颈癌 HeLa 细胞不同时间后^[13],结果表明, β -HIVS 呈时间和剂量依赖性地抑制细胞增殖,促进细胞凋亡,同时细胞周期分布也发生明显改变, G_0/G_1 期细胞数减少, S 期细胞数增加,而 G_2/M 期细胞数无明显变化,证明 β -HIVS 能将宫颈癌细胞的细胞周期阻滞在 S 期。Lin 等^[14]将丙酮酸脱氢酶 (PDH) 的辅助因子 α -硫辛酸引入紫草素中,合成具抗有丝分裂和糖酵解的双效化合物,得到 18 种 α -硫辛酸紫草素酯衍生物,其中化合物 1C (图 2) 对 HeLa 细胞具有最强的细胞毒性, IC_{50} 值为 $(3.14 \pm 0.58) \mu\text{mol/L}$ 。一方面其作为微管蛋白抑制剂在 G_2/M 期引起 HeLa 细胞周期阻滞。HeLa 细胞移植瘤小鼠经不同剂量 (0.5~2.0 mg/kg) 1C 处理后,肿瘤体积均小于对照组,其中 2 mg/kg 处理组小鼠平均肿瘤体积比对照组小 5 倍,表明 1C 以剂量依赖方式抑制异种移植肿瘤生长,但不影响小鼠体质量。另一方面其通过磷酸肌醇依赖性蛋白激酶 (PKC) 活性的抑制促进了 PDH 活性,迫使 HeLa 细胞更多地进行好氧代谢,诱发其凋亡。

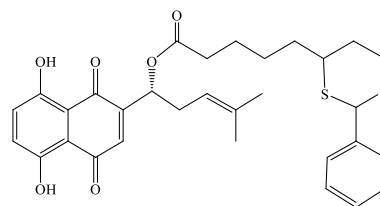


图 2 1C 化学结构

Fig. 2 Chemical structure of 1C

紫草素作用于体外培养的人宫颈癌 SiHa 细胞后^[15],细胞增殖指数下降, G_0/G_1 期细胞增多, S 期细胞减少,且呈浓度依赖性,证明紫草素能够阻滞 SiHa 细胞的 G_0/G_1 期进程而抑制细胞增殖。紫草素处理人宫颈癌 Caski 细胞 12、24、36 h 后^[16]发现细胞增殖抑制率逐渐升高,侵袭数量降低,磷酸酶和张力蛋白同源物 (PTEN) 表达量升高,并呈时间和剂量依赖性。说明紫草素可抑制宫颈癌细胞增殖和侵袭过程。

1.3 抗卵巢癌

人卵巢癌细胞 SKOV3 和 A2780 经紫草素 (5、10 $\mu\text{mol/L}$) 处理后^[17],与对照组比较,凋亡率无明显变化,但细胞中坏死性凋亡相关蛋白水平均明显

上调, 坏死细胞比例明显增加。说明紫草素以剂量和时间依赖性地抑制卵巢癌细胞增殖并诱导其发生坏死性凋亡, 而对人正常卵巢上皮 IOSE-80 细胞的影响很小。

紫草素可明显逆转人卵巢癌顺铂耐药细胞 SKOV3/DDP 的耐药性, 且在顺铂浓度为 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 时效果较为显著, 化疗联合使用紫草素可显著抑制癌细胞周期 G_1/S 转化, 对比单用顺铂组, 紫草素和顺铂联用组的细胞早期凋亡率上升^[18]。P-糖蛋白 (P-gp) 是一种能量依赖性跨膜转运蛋白, 常作为肿瘤多药耐药性 (MDR) 的标志物。紫草素 1 $\mu\text{mol/L}$ 、紫杉醇 1 $\mu\text{mol/L}$ 单独使用或联合使用处理人卵巢癌耐药细胞 A2780/PTX 24 h 可明显诱导癌细胞凋亡, 凋亡率分别为 6.3%、10.6% 和 30.9%, 进一步研究发现紫草素以不依赖 P-gp 蛋白的方式逆转 A2780/PTX 细胞对紫杉醇的耐药性^[19]。这暗示紫草素与其他抗癌药物联合使用可能为治疗卵巢癌及其他癌症提供新的治疗策略。

1.4 抗子宫内膜癌

子宫内膜癌中有 70%~80% 为雌激素依赖型, 孕激素治疗是主要的内分泌治疗措施, 但超过 30% 的早期患者对孕激素不敏感^[20-21]。雌激素对雌激素受体阳性的人子宫内膜癌 Ishikawa 细胞有促进增殖作用, 但在含有 10 nmol/L 雌激素的培养液中逐渐增加紫草素浓度, 细胞增殖抑制率显著升高, 且具有浓度和时间依赖性^[22]。另外用不同浓度的紫草素分别处理 4 种人子宫内膜癌细胞 Ishikawa、HEC-1A、KLE 和 RL95-2 24 h, 发现紫草素以剂量依赖的方式降低癌细胞活力, 对 4 种细胞的 IC_{50} 分别为 3.63、4.81、8.22、8.96 $\mu\text{mol/L}$ 。Ishikawa 和 HEC-1A 细胞对紫草素更为敏感, 经紫草素 5 $\mu\text{mol/L}$ 处理 24 h 后, 细胞凋亡率均明显增加^[23]。紫草素可抑制人子宫内膜癌 RL95-2 细胞的增殖并促进其凋亡^[24], 具有剂量和时间依赖性, 其中 1.2 $\mu\text{g/mL}$ 促凋亡效果最佳, 细胞凋亡率为 $(29.57 \pm 3.24)\%$ 。以上结果提示紫草素对不同子宫内膜癌细胞具有不同程度的促凋亡作用, 且具有浓度和时间依赖性, 其中对 Ishikawa 细胞的抑制生长和促凋亡活性更强。

2 紫草素抗妇科肿瘤的作用机制

2.1 抑制肿瘤细胞增殖

恶性增殖是癌细胞最显著的特征, 大量实验表明紫草素可通过多个靶标分子和信号通路抑制肿瘤

细胞增殖。有研究发现^[25]紫草素能够在 mRNA 和蛋白水平诱导双特异性磷酸酶 (DUSP1) 和 DUSP2 的表达, 降低其下游信号分子 c-jun N 端激酶 (JNK) 和 p38 的活性, 阻滞细胞周期中的 G_1 期, 进而抑制 MCF-7、MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞增殖。多项研究^[15,18,20]发现不同浓度紫草素作用于 SiHa、SKOV3/DDP、Ishikawa 细胞后, G_0/G_1 期细胞比例显著增高, G_2/M 期细胞比例显著降低, S 期细胞比例降低, 其作用机制与 G 蛋白偶联雌激素受体 (GPER)、细胞周期蛋白 D1 (Cyclin D1)、细胞周期依赖性蛋白激酶 2 (CDK2) 等蛋白表达水平下调有关。

细胞分裂周期蛋白 25 (Cdc25) 通过调节其底物 CDK 的磷酸化状态, 在细胞周期进程中起着至关重要的作用。紫草素能够抑制 Cdc25 磷酸酶活性, 浓度依赖性地抑制 CDK1 去磷酸化, 从而抑制 MCF-7 和 HeLa 细胞增殖, 体内实验证明紫草素 1、5、10 mg/kg 对异种移植肿瘤模型小鼠有良好的抗癌细胞增殖作用, 阻滞细胞于 G_2/M 期^[26]。

来源于 MCF-7 细胞的外泌小体可以被肿瘤细胞本身吸收, 从微环境中快速获得的 miR-128 外泌体能下调促凋亡基因 Bax, 保护癌细胞免受程序性死亡, 并通过 miR-128 的传递促进 MCF-7 细胞增殖。qRT-PCR 法检测发现经紫草素 1 $\mu\text{mol/L}$ 处理的 MCF-7 细胞 miR-128 外泌体释放减少, 提示紫草素可以通过改变肿瘤微环境来抑制肿瘤增殖^[27]。

2.2 诱导肿瘤细胞凋亡

细胞凋亡是从体内去除衰老细胞的自然途径, 然而癌细胞中凋亡信号失调和抗凋亡系统的激活允许癌细胞逃避凋亡程序, 不受控制地增殖从而导致肿瘤存活。许多抗癌疗法通过诱导细胞凋亡及其相关的细胞死亡网络而起作用, 紫草素也不例外。

紫草素对 4T1 和 MDA-MB-231 细胞的凋亡均有诱导作用。经 2 $\mu\text{mol/L}$ 紫草素处理后, 4T1 细胞中 p38、JNK 及磷酸化 JNK 蛋白水平与对照组差异不明显, 而磷酸化 p38 蛋白表达水平升高, 提示紫草素是通过激活 p38 信号通路而非 JNK 信号通路, 提高 Caspase-3/7 蛋白表达水平, 诱导 4T1 细胞凋亡^[28]。紫草素 9 $\mu\text{mol/L}$ 可使人卵巢癌耐顺铂细胞 A2780-CR 的存活率降低 50%, 呈时间依赖性地升高 JNK、促分裂原激活蛋白激酶 (MAPK) 和胞外信号调节激酶 (ERK) 的磷酸化水平, 表明紫草素可通过激活 MAPK 信号通路诱导 A2780-CR 细胞调

亡。同时发现紫草素能降低卵巢癌细胞内 Bcl-2 水平, 提高 Bax、Caspase-9 和 Caspase-3 的水平, 降低线粒体膜电位 ($\Delta\psi_m$), 升高从线粒体释放到胞浆的细胞色素 C 水平, 提示紫草素通过线粒体依赖途径诱导癌细胞凋亡^[29]。

实体肿瘤具有非常独特的生理特征, 如血管异常和瘤内缺氧。为了防止氧耗竭导致的细胞死亡, 癌细胞往往高表达低氧诱导因子 (HIF-1 α)。人工合成的香豆素-羧基紫草酸酯衍生物 PMMB232 能够剂量依赖性地促进 HeLa 细胞凋亡, 凋亡细胞比例为 38.0%, 明显高于紫草素处理组的凋亡细胞比例 (20.8%)。PMMB232 8 $\mu\text{mol/L}$ 处理 HeLa 细胞后 HIF-1 α 表达显著降低, 与相同浓度的紫草素处理组结果相似, 分子对接计算发现 PMMB232 能与 HIF-1 α 稳定结合, 促进 HIF-1 α 的降解而诱导肿瘤细胞凋亡^[30]。

磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K) /蛋白激酶 B (Akt) /哺乳动物雷帕霉素蛋白 (mTOR) /PTEN 通路在多种癌症中被激活, 在抑制细胞凋亡和促进增殖方面起着关键作用, 是一条相对独立且复杂的途径, 与 HIF-1 α 等多种途径也密切相关。紫草素通过抑制原癌基因 miR-106b 在子宫内膜癌细胞 HEC-1A、KLE 和 RL95-2 中的表达来上调抑癌基因 PTEN, 上调的 PTEN 可拮抗 PI3K 信号转导, 抑制 Akt/mTOR 通路从而促进细胞凋亡, 而 miR-106 的过表达则显著减弱紫草素诱导的细胞凋亡^[23]。

2.3 抑制癌细胞侵袭和转移

控制癌细胞侵袭和肿瘤转移对于改善癌症患者的预后具有重要意义。紫草素可通过上调糖原合成酶激酶 3 β (GSK-3 β) 水平而增强 β -连环蛋白 (β -catenin) 的磷酸化, 减少 β -catenin 的表达与核积累, 抑制其与 T 细胞因子 (TCF) 的结合, 从而抑制上皮间质转换 (EMT) 相关基因的转录, 下调间质标记物 N-钙粘蛋白表达, 降低波形蛋白和 Snail 蛋白水平, 升高上皮标记物 E-钙粘蛋白水平, 表明紫草素通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路逆转 MDA-MB-231 和 4T1 细胞的 EMT, 从而抑制乳腺癌细胞转移和侵袭^[10]。紫草素 9 $\mu\text{mol/L}$ 处理 A2780-CR 细胞 48 h 后^[29]检测发现 E-钙粘素水平升高, N-钙粘素水平降低, 表明紫草素也能逆转卵巢癌细胞 EMT 从而减弱其迁移能力。

紫草素衍生物 PMMB232 处理的 HeLa 细胞^[30]中 HIF-1 α 的表达量比对照组下降了 3 倍, 同时 E-

钙粘蛋白表达显著上调, 细胞间黏附力加强, 肿瘤细胞迁移和转移减慢, 表明紫草素通过下调 HIF-1 α 表达而抑制癌细胞侵袭和转移。

另有研究发现紫草素以剂量依赖性的方式有效地抑制信号传导及转录激活蛋白 3 (STAT3) 的激活和表达, 并抑制局部黏着斑激酶 (FAK) 的活性和 Src 的表达来阻碍 MDA-MB-231、MDA-MB-468、MCF-7 和 4T1 细胞的侵袭性生长和转移^[31]。

2.4 诱导坏死、自噬和细胞免疫

与凋亡不同的是, 坏死是一种不依赖 Caspase 的非程序性细胞死亡, 主要受受体相互作用丝氨酸蛋白激酶 1 (RIP1) 和 RIP3 的调控, 也与细胞内活性氧 (ROS) 含量相关, ROS 升高引起严重的 DNA 损伤和基因突变及肿瘤细胞的活性炎症, 对于肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移和血管生成具有促进作用^[32]。

紫草素能够促进 MDA-MB-468 细胞内肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 与肿瘤坏死因子 α 受体 1 (TNFR1) 结合, 刺激细胞质膜上形成死亡复合物 I (包括 TRADD、TRAF2、RIP1K 和 CIAP1)。被 Necrostatin-1 阻断的坏死复合物 IIb 的形成需要 RIP1K 的激酶活性, 紫草素使细胞质内 ROS 含量上升, 提高 RIP1K、RIP3K 和混合系列蛋白激酶样结构域 (mixed lineage kinase domain-like, MLKL) 的磷酸化水平, 导致这 3 种蛋白相互作用介导的坏死复合物 IIb 形成, 进而增加线粒体 ROS 的产生, 降低 $\Delta\psi_m$, 导致肿瘤细胞坏死^[33]。使用 DCFH-DA 荧光探针检测发现紫草素处理后的 SKOV3 和 A2780 细胞内 ROS 水平显著升高, 说明紫草素通过促进卵巢癌细胞中 ROS 过量积累而激活坏死性凋亡进程^[17]。

免疫原细胞死亡 (ICD) 一般通过释放损伤相关分子模式 (DAMPs) 介导, 宏观自噬活性增强通常伴随着坏死的发生^[34]。用紫草素处理小鼠乳腺癌 4T1-luc2 细胞, 引发 RIPK1 和 RIPK3 依赖性坏死^[35-36], 伴随着细胞自噬增强引起膜表面 DAMP (ectoDAMP) 上调, 从而激活共培养树突状细胞 (DCs), 以抑制原发性癌细胞转移, 用紫草素和氯喹联合处理 4T1-luc2 细胞比单用紫草素更能增强免疫原活性和基于 DCs 的癌症疫苗效应。

2.5 抑制糖酵解

肿瘤通常利用糖酵解为自身代谢和生长提供能量, 即 Warburg 效应, 丙酮酸激酶 M2 (PKM2) 不仅是控制糖酵解最后一步的限速酶^[37], 也是癌细胞调节基因表达的蛋白激酶^[38]。被表皮生长因子受体

(EGFR) 激活后的 PKM2 从细胞质转移到细胞核, 激活 β -catenin, 诱导编码周期蛋白 D1 的基因 (CCND1) 和癌基因 c-Myc 表达, 上调葡萄糖转运体 1 (GLUT1) 和乳酸脱氢酶 A (LDHA) 水平, 增加了葡萄糖的消耗和乳酸的产生, 进而促进了肿瘤的发生^[39]。

紫草素可以抑制 MCF-7 细胞中的丙酮酸激酶、己糖激酶、磷酸果糖激酶-1、双磷酸果糖醛缩酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶的活性, 从而降低癌细胞的糖酵解率^[40]。1 $\mu\text{mol/L}$ 紫草素处理 24 h 后 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞中 PKM2 活性下降, HIF-1 α 和血管内皮生长因子 (VEGF) 表达量减少, 细胞迁移能力降低, 提示紫草素可以通过靶向 PKM2/HIF-1 α 轴来抑制乳腺癌细胞的迁移^[41]。此外紫草素也能剂量依赖性地抑制 SKOV3 和 CP70 细胞内 PKM2 的活性^[42], 显著减少癌细胞对葡萄糖消耗, 降低胞外酸化率, 从而引起卵巢癌细胞代谢紊乱和抑制其恶性表型。研究者设计出一系列新型萘醌衍生物^[43], 其中哌啶基替代化合物 3K 具有比紫草素更强的抑制 PKM2 活性的能力, 其 IC_{50} 为 $(2.95 \pm 0.53) \mu\text{mol/L}$, 而紫草素对 PKM2 的 IC_{50} 为 $(8.82 \pm 2.62) \mu\text{mol/L}$; 3K 也具有更强的抑制 HeLa 细胞增殖的能力, IC_{50} 为 $(0.29 \pm 0.11) \mu\text{mol/L}$, 紫草素对 HeLa 细胞的 IC_{50} 为 $(2.45 \pm 0.81) \mu\text{mol/L}$ 。

3 结语

国内外大量研究发现紫草素可通过多条信号通路和多个分子靶点 (如 Wnt/ β -catenin、PI3K/Akt/mTOR/PTEN、p38-MAPK、Bcl-2/Bax、ROS/HIF-1 α 、STAT3、RIPK1/RIPK3 和 PKM2 等) 抑制妇科肿瘤的多种细胞增殖、侵袭和转移, 诱导癌细胞凋亡、坏死和自噬, 从而发挥抗肿瘤效应。

尽管多项体外实验和体内动物实验已经证实了紫草素的抗肿瘤作用和机制, 但还没有紫草素或其衍生物作为抗肿瘤药物独立应用于临床, 通常都是伴随化疗药物, 相互作用以增强抗癌效果^[18-19]。限制因素主要有紫草素有效浓度相对较高, 且可能存在一些副作用, 缺乏抗肿瘤作用的特异选择性。研究者近几年致力于改变其结构以获得效力更强、副作用更小的紫草素及萘醌衍生物, 并取得一定的进展, 如 1C、3K、PMMB232 等合成衍生物对 HeLa 细胞有更强的抑制效应^[14,30,43]。此外, 紫草素不溶于水, 溶于乙醇、有机溶剂和植物油, 给药方式差异也会影响其效力, 近年药物化学和纳米技术领域

迅速发展, 创造了基于紫草素的新型衍生物和纳米制剂, 使其药理功能得到了改进。研究者用经典的成乳工艺制备紫草素微乳 (SKN-MEs), 再通过 EDC/NHS 缩合技术制备成 CD133 抗体修饰的紫草素微乳^[44], 能显著抑制 MDA-MB-231 干细胞的成球性, 异种移植实验显示其体内抑瘤率为 78.5%, 显著高于紫草素组 (31.3%)。

目前, 对紫草素抗肿瘤的研究多停留在分子水平, 随着全基因组测序、基因组编辑和定量蛋白质组学分析等新技术的出现, 可以对紫草素抗癌功能的分子靶点和信号途径有更彻底和更准确的认识, 这些信息有助于开发紫草素或其衍生物作为有效的抗癌药物, 也需要更多的动物模型和临床试验以验证紫草素用于临床治疗的有效性和安全性。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] Wang F F, Yao X S, Zhang Y W, *et al.* Synthesis, biological function and evaluation of shikonin in cancer therapy [J]. *Fitoterapia*, 2019, 134: 329-339.
- [3] Zhou W, Jiang H G, Peng Y, *et al.* Comparative study on enantiomeric excess of main akannin/shikonin derivatives isolated from the roots of three endemic oraginaceae plants in China [J]. *Biomed Chromatogr*, 2011, 25(10): 1067-1075.
- [4] 孙艳涛, 李婷婷, 韩 禹, 等. 内蒙紫草中分离提取异戊酰紫草素 [J]. 吉林师范大学学报: 自然科学版, 2019, 40(2): 86-88.
- [5] 毛 艳, 蔡晓翠, 古丽白热木·玉素因, 等. 一测多评法同时测定新疆软紫草中 6 种萘醌类成分 [J]. 中草药, 2019, 50(17): 4170-4175.
- [6] Zhang X, Cui J H, Meng Q Q, *et al.* Advance in anti-tumor mechanisms of shikonin, alkannin and their derivatives [J]. *Mini-Rev Med Chem*, 2018, 18(2): 164-172.
- [7] 陈 阳, 陈忠坚, 高 赞, 等. 紫草素及其衍生物抗肿瘤作用研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(14): 3503-3509.
- [8] Boulos J C, Rahama M, Hegazy M E F, *et al.* Shikonin derivatives for cancer prevention and therapy [J]. *Cancer Lett*, 2019, 459: 248-267.
- [9] Guo C J, He J L, Song X, *et al.* Pharmacological properties and derivatives of shikonin—A review in recent years [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 149: 104463.
- [10] Chen Y, Chen Z Y, Chen L, *et al.* Shikonin inhibits triple-negative breast cancer-cell metastasis by reversing the epithelial-to-mesenchymal transition via glycogen

- synthase kinase 3 β -regulated suppression of β -catenin signaling [J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 166: 33-45.
- [11] Yang Y, Gao W Y, Tao S Y, *et al.* ER-mediated anti-tumor effects of shikonin on breast cancer [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 863: 172667.
- [12] 安兴晨, 董天睿, 王 晶, 等. 紫草素诱导人乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡及其机制探讨 [J]. 中国医刊, 2019, 54(11): 1223-1226.
- [13] Lu D, Li W, Qian J, *et al.* β -hydroxyisovaleryl-shikonin induces human cervical cancer cell apoptosis via PI3K/AKT/mTOR signaling [J]. *Oncol Lett*, 2015, 10(6): 3434-3442.
- [14] Lin H Y, Han H W, Sun W X, *et al.* Design and characterization of α -lipoic acyl shikonin ester twin drugs as tubulin and PDK1 dual inhibitors [J]. *Eur J Med Chem*, 2018, 144: 137-150.
- [15] 杨 阳, 陶仕英, 牛建昭, 等. 紫草素对宫颈癌 SiHa 细胞增殖周期的影响 [J]. 环球中医药, 2018, 11(1): 6-10.
- [16] 蒋汉霞, 刘志杰. 紫草素调控 PTEN/AKT 通路抑制宫颈癌细胞增殖、侵袭研究 [J]. 热带医学杂志, 2019, 19(7): 822-826.
- [17] Feng W, Ma J W, Rao M D. Effect and mechanism of shikonin-induced necroptosis in ovarian cancer SKOV3 and A2780 cells [J]. *China Pharm*, 2019, 28(1): 19-23.
- [18] Xu J, Guo Z, Wang Q Y, *et al.* Reversal effect of shikonin on cisplatin resistance of ovarian cancer SKOV3/DDP cells [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2018, 34(9): 1616-1621.
- [19] Wang Z, Yin J H, Li M X, *et al.* Combination of shikonin with paclitaxel overcomes multidrug resistance in human ovarian carcinoma cells in a P-gp-independent manner through enhanced ROS generation [J]. *Chin Med*, 2019, doi: 10.1186/s13020-019-0231-3.
- [20] 张慧明, 梁元姣. 雌激素受体与子宫内膜癌的关系 [J]. 江苏医药, 2010, 36(3): 331-334.
- [21] Hahn H S, Yoon S G, Hong J S, *et al.* Conservative treatment with progestin and pregnancy outcomes in endometrial cancer [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2009, 19(6): 1068-1073.
- [22] 黄彩梅, 夏亦冬, 胡国华. 紫草素对子宫内膜癌 Ishikawa 细胞雌激素信号通路表达的影响 [J]. 世界中医药, 2016, 11(9): 1842-1845.
- [23] Huang C M, Hu G H. Shikonin suppresses proliferation and induces apoptosis in endometrioid endometrial cancer cells via modulating miR-106b/PTEN/AKT/mTOR signaling pathway [J]. *Biosci Rep*, 2018, doi: 10.1042/BSR20171546.
- [24] 刘长青, 陈 勇, 谢冰帆, 等. 紫草素调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路影响人子宫内膜癌细胞株 RL95-2 增殖, 凋亡的实验研究 [J]. 中国生育健康杂志, 2019, 30(6): 571-575.
- [25] Lin K H, Huang M Y, Cheng W C, *et al.* RNA-seq transcriptome analysis of breast cancer cell lines under shikonin treatment [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2672-2683.
- [26] Zhang S, Gao Q, Li W, *et al.* Shikonin inhibits cancer cell cycling by targeting Cdc25s [J]. *BMC Cancer*, 2019, doi: 10.1186/s12885-018-5220-x.
- [27] Wei Y, Li M Z, Cui S F, *et al.* Shikonin inhibits the proliferation of human breast cancer cells by reducing tumor-derived exosomes [J]. *Molecules*, 2016, 21(6): 777-787.
- [28] Xu J, Koizumi K, Liu M, *et al.* Shikonin induces an anti-tumor effect on murine mammary cancer via p38-dependent apoptosis [J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(3): 2020-2026.
- [29] Shilnikova K, Piao M J, Kang K A, *et al.* Shikonin induces mitochondria-mediated apoptosis and attenuates epithelial-mesenchymal transition in cisplatin-resistant human ovarian cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(4): 5417-5424.
- [30] Han H W, Zheng C S, Chu S J, *et al.* The evaluation of potent antitumor activities of shikonin coumarin-carboxylic acid, PMMB232 through HIF- α -mediated apoptosis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 656-666.
- [31] Thakur R, Trivedi R, Rastogi N, *et al.* Inhibition of STAT3, FAK and Src mediated signaling reduces cancer stem cell load, tumorigenic potential and metastasis in breast cancer [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 10194-10210.
- [32] Gupta S C, Hevia D, Patchva S, *et al.* Upsides and downsides of reactive oxygen species for cancer: the roles of reactive oxygen species in tumorigenesis, prevention, and therapy [J]. *Antioxid Redox Sign*, 2012, 16(11): 1295-1322.
- [33] Shahsavari Z, Karami-Tehrani F, Salami S, *et al.* RIP1K and RIP3K provoked by shikonin induce cell cycle arrest in the triple negative breast cancer cell line, MDA-MB-468: Necroptosis as a desperate programmed suicide pathway [J]. *Tumor Biol*, 2016, 37(4): 4479-4491.
- [34] Galluzzi L, Vitale I, Aaronson S A, *et al.* Molecular mechanisms of cell death: Recommendations of the nomenclature committee on cell death 2018 [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(3): 486-541.
- [35] Lin S Y, Hsieh S Y, Fan Y T, *et al.* Necroptosis promotes autophagy-dependent upregulation of DAMP and results in immunosurveillance [J]. *Autophagy*, 2018, 14(5): 778-795.
- [36] Lin T J, Lin H T, Chang W T, *et al.* Shikonin-enhanced

- cell immunogenicity of tumor vaccine is mediated by the differential effects of DAMP components [J]. *Mol Cancer*, 2015, 14(1): 174-187.
- [37] Altenberg B, Greulich K O. Genes of glycolysis are ubiquitously overexpressed in 24 cancer classes [J]. *Genomics*, 2004, 84(6): 1014-1020.
- [38] Gao X, Wang H, Yang J J, *et al.* Pyruvate kinase M2 regulates gene transcription by acting as a protein kinase [J]. *Mol Cell*, 2012, 45(5): 598-609.
- [39] Yang W, Xia Y, Ji H, *et al.* Nuclear PKM2 regulates β -catenin transactivation upon EGFR activation [J]. *Nature*, 2011, 480(7375): 118-122.
- [40] Chen J, Hu X, Cui J. Shikonin, vitamin K3 and vitamin K5 inhibit multiple glycolytic enzymes in MCF-7 cells [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(5): 7423-7432.
- [41] Chai X X, Le Y F, Wang J C, *et al.* *Carpesium abrotanoides* (L.) root as a potential source of natural anticancer compounds: Targeting glucose metabolism and PKM2/HIF-1 α axis of breast cancer cells [J]. *J Food Sci*, 2019, 84(12): 3825-3832.
- [42] Chao T K, Huang T S, Liao Y P, *et al.* Pyruvate kinase M2 is a poor prognostic marker of and a therapeutic target in ovarian cancer [J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0182166.
- [43] Ning X, Qi H, Li R, *et al.* Discovery of novel naphthoquinone derivatives as inhibitors of the tumor cell specific M2 isoform of pyruvate kinase [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 138: 343-352.
- [44] 王 洁, 李 倩, 吴静华, 等. CD133 抗体修饰的紫草素微乳的制备及抗三阴性乳腺癌研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(7): 1587-1595.