

左金丸及其主要单体成分抗结直肠癌机制的研究进展

刘霜, 王建伟*

(黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040)

[摘要] 左金丸为中医经典名方,记载于《丹溪心法》,由黄连和吴茱萸以6:1比例配伍而成,主治肝火胁痛、胃脘痛、呕吐吞酸等症。现代对左金丸的药理研究很多,尤其是消化道方面,对消化道癌症亦有其独到作用,其抗肿瘤研究主要集中在肠癌、胃癌等。结直肠癌是世界上第3大常见的癌症类型,也是第2大最致命的恶性肿瘤。目前已有多项研究表明左金丸抗结直肠癌的基础药理研究包括结直肠癌的增殖、细胞凋亡、侵袭、能量代谢、表观遗传学和耐药性。生物碱类为左金丸主要活性成分,如小檗碱、吴茱萸碱、黄连碱、巴马汀、吴茱萸次碱等。相较于左金丸对结直肠癌的作用,除无小檗碱对耐药性及吴茱萸碱对能量代谢的研究外,小檗碱和吴茱萸碱还有对肿瘤血管生成、肿瘤促进性炎症反应和肠道菌群的研究。而且黄连碱、巴马汀、吴茱萸次碱可分别调节结直肠癌细胞增殖、凋亡、转移,结直肠癌细胞增殖、凋亡、肿瘤促进性炎症反应,结直肠癌细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭。此外,还有研究显示小檗碱和吴茱萸碱联用对结直肠癌细胞的生长、迁移和侵袭有协同增效作用,亦可减弱吴茱萸碱诱导的心脏损伤。因此对近年来左金丸及其主要单体成分抗结直肠癌机制的研究进行归纳总结,以期今后临床新型高效低毒抗结直肠癌药物研发提供理论依据,为临床实践奠定坚实基础。

[关键词] 左金丸; 单体成分; 结直肠癌; 研究进展

[中图分类号] R2-0;R22;R242;R285.5;R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)22-0204-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20232225 **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20231007.1540.006>

[网络出版日期] 2023-10-08 13:55:20

Anti-colorectal Cancer Mechanism of Zuojinwan and Its Main Monomer Components: A Review

LIU Shuang, WANG Jianwei*

(Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[Abstract] Zuojinwan is a classic Chinese medicine prescription recorded in the *Danxi's Experiential Therapy*, with Coptidis Rhizoma and Euodiae Fructus in a ratio of 6 : 1. It can treat symptoms such as liver fire hypochondriac pain, stomach duct pain, vomiting, and acid swallowing. There are many pharmacological studies on Zuojinwan in modern times, especially in the digestive tract, but the prescription also has its unique effect on digestive tract cancer, and its anti-tumor studies mainly focus on colorectal cancer and gastric cancer. Colorectal cancer is the third most common type of cancer in the world and the second deadliest malignancy. At present, a number of studies have shown that the basic pharmacological studies of anti-colorectal cancer by Zuojinwan include the proliferation, apoptosis, invasion, energy metabolism, epigenetics, and drug resistance of colorectal cancer. Alkaloids are the main active ingredients of Zuojinwan, such as berberine, evodiamine, coptisine, palmatine, and rutaecarpine. Compared with the effect of Zuojinwan on colorectal cancer, studies on the effect of berberine and evodiamine on tumor angiogenesis, tumor-promoting inflammation, and intestinal

[收稿日期] 2023-07-25

[基金项目] 国家中医药管理局第五批全国中医临床优秀人才研修项目(国中医药人教函[2022]239号);全国中医药创新骨干人才培养项目(国中医药人教函[2019]128号);黑龙江中医药大学优秀青年骨干教师支持计划项目(15041190044)

[第一作者] 刘霜,在读硕士,从事中药基本理论及组方配伍规律研究,E-mail:3506495966@qq.com

[通信作者] * 王建伟,博士,教授,硕士研究生导师,从事中药基本理论及组方配伍规律研究,E-mail:wangjianweilikai@163.com

flora are carried out, except the studies on the resistance of berberine and the effect of evodiamine on energy metabolism. In addition, coptisine, palmatine, and rutaecarpine can regulate the proliferation, apoptosis, and metastasis of colorectal cancer cells, the proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells, tumor-promoting inflammatory response, and the proliferation, migration, and invasion of colorectal cancer cells, respectively. Moreover, other studies have shown that the combination of berberine and evodiamine can have a synergistic effect on the growth, migration, and invasion of colorectal cancer cells and can reduce the cardiac toxicity induced by evodiamine. Therefore, this paper summarizes the studies on the anti-colorectal cancer mechanism of Zuojinwan and its main monomer components in recent years, so as to provide a theoretical basis for future clinical research and development of new high-efficiency and low-toxicity anti-colorectal cancer drugs and lay a solid foundation for clinical practice.

[Keywords] Zuojinwan; monomer components; colorectal cancer; research progress

左金丸为中医经典名方,记载于《丹溪心法》,又名回令丸,由黄连和吴茱萸以6:1比例配伍而成,主治肝火胁痛、胃脘痛、呕吐吞酸等症^[1]。左金丸的主要单体成分有小檗碱、吴茱萸碱、黄连碱和吴茱萸次碱等,现代药理研究表明左金丸及其主要单体成分具有抗肿瘤、抗炎、抗菌等作用^[2-4]。左金丸在临床上多应用于消化道疾病,治疗肿瘤疾病亦多用于消化道,目前左金丸抗肿瘤研究主要集中在肠癌、胃癌等消化系统疾病^[5]。结直肠癌,是指原发于结肠、直肠的恶性肿瘤,是最常见的消化道肿瘤之一^[6-7]。结直肠癌(CRC)是世界上第3大常见的癌症类型,也是第2大最致命的恶性肿瘤^[8]。研究表明左金丸主要单体成分小檗碱^[9]、吴茱萸碱^[10]、巴马汀^[11]对结直肠癌有一定预防作用,而左金丸及其主要单体成分小檗碱和吴茱萸碱又能通过调节结直肠癌细胞增殖、凋亡^[12-14]、迁移^[15-17]等起到治疗作用,且小檗碱和吴茱萸碱联用对结直肠癌细胞的生长、迁移、侵袭有协同增效减毒作用^[18-19]。但其分子作用机制尚不清楚,极大地限制了其作为抗结直肠癌药物的研发及临床应用。因此对近年来左金丸及其主要单体成分抗结直肠癌的机制研究进行归纳总结,以期今后临床新型高效低毒抗结直肠癌药物研发提供理论依据,为临床实践奠定坚实基础。

1 左金丸化学成分

1.1 生物碱类 生物碱类为左金丸主要活性成分^[20],冯国彬^[21]从左金丸中分离鉴定出小檗碱、吴茱萸碱、黄连碱、药根碱、巴马汀和吴茱萸次碱。陈文文等^[22]从左金丸中分离出小檗碱、吴茱萸碱、黄连碱、药根碱、巴马汀、吴茱萸次碱、木兰花碱、小檗红碱、2-羟基药根碱、去氢吴茱萸碱、表小檗碱、非洲防己碱、二氢吴茱萸定和格兰地新等17种生物碱。

刘斯琪等^[23]从左金丸中分离出小檗碱、吴茱萸碱、黄连碱、药根碱、吴茱萸次碱、小檗碱、黄连碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、药根碱、2-羟基药根碱、去氢吴茱萸碱、表小檗碱、非洲防己碱、二氢吴茱萸定、格兰地新、13-甲基小檗碱、7-羟基-去氢吴茱萸碱、掌叶防己碱、甲基黄连碱、吴茱萸酰胺、7 β -羟基吴茱萸次碱、四氢小檗碱、14N-甲酰二氢吴茱萸次碱、氧化小檗碱、二氢吴茱萸新碱和1-甲基-2-[(Z)-壬-4-烯基]-4(1H)-喹诺酮等42种生物碱。左金丸中具体生物碱类成分见增强出版附加材料。

1.2 萜类 目前已从左金丸中分离出萜类成分9种,包括柠檬苦素、吴茱萸苦素乙酸酯^[22-23]、吴茱萸苦素、6- β -乙酰氧基-5-表柠檬苦素、吴茱萸内酯醇、虎柠檬素A、euodirutaecin A、euodirutaecin B和格罗苦素甲^[23],左金丸中具体萜类成分见增强出版附加材料。

1.3 挥发油类 冯国彬^[21]使用气相色谱-质谱GC-MS分离出63种挥发油成分,如大根香叶烯D、 β -榄香烯、 β -瑟林烯、柠檬烯、 α -水芹烯、 α -松油醇、 β -水芹烯、反式 β -罗勒烯、亚麻酸甲酯、顺式 β -罗勒烯、石竹烯、西柏烯、 γ -前兰油烯、芳樟醇、石竹烯氧化物、反松香芹醇、 γ -榄香烯、斯巴醇、 γ -古芸烯和 α -瑟林烯等,左金丸中具体挥发油类成分见增强出版附加材料。

1.4 其他成分 左金丸中还分离出苹果酸、柠檬酸、咖啡酰葡萄糖酸、异柠檬酸、腺苷、苯丙氨酸、迷迭香酸、丹参素

香树素-7-O- β -D-葡萄糖苷、4-O- β -D-葡萄糖基香草醇、原儿茶酸、L-色氨酸、原儿茶醛、阿魏酰奎宁酸、绿原酸、姜黄素、阿魏酰葡萄糖酸、 γ -羟基丁酸、咖啡酸、和吴茱萸次碱-10-O- β -D-葡萄糖苷等24种其他类化合物^[23],左金丸中的其他成分见增强出版

附加材料。

2 抗结直肠癌作用机制

2.1 对结直肠肿瘤细胞增殖、凋亡的作用 抑制肿瘤细胞增殖生长是筛选、研发抗肿瘤药物的主要目标^[24],细胞凋亡是一种程序性死亡,因此开发通过细胞凋亡促进癌细胞有效消除的治疗方法亦是临床肿瘤学的主要目标^[25]。而左金丸、小檗碱、巴马汀、黄连碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱能够通过多种途径抑制结直肠肿瘤的增殖、生长,诱导肿瘤细胞凋亡,可为左金丸及其主要单体成分开发成抗结直肠肿瘤药物提供一定理论基础。

体外细胞实验表明左金丸能够通过诱导线粒体依赖的细胞凋亡途径抑制人结直肠腺癌细胞 HCT116 生长^[12],潘秋莎^[26]通过实验发现左金丸联合益生菌 EcN 能诱导小鼠结肠癌细胞 CT26 凋亡,从而改善结直肠癌。FAN 等^[27]发现左金胶囊在体内均能抑制 CRC 细胞和肿瘤的生长,左金胶囊还可通过靶向候选基因 B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、 β 型蛋白激酶 C(PRKCB)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)等来抑制周期进程和诱导细胞凋亡。

体外实验表明小檗碱通过下调葡萄糖调节蛋白 78(GRP78)表达^[28]和诱导结直肠癌细胞发生自噬^[13],来抑制结肠癌细胞的增殖、诱导细胞凋亡。体内实验表明小檗碱通过泛素-蛋白酶体途径促进三元基序蛋白 21(TRIM21)降解胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 3(IGF2BP3)抑制磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/蛋白质激酶 B(Akt)通路^[29-30],从而抑制结直肠肿瘤增殖生长。小檗碱还通过抑制旁分泌音猬因子(SHH)通路^[31],Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)^[32]和长基因间非蛋白编码 RNA 重编程调节因子(lincROR)-Wnt/ β -catenin 调节轴^[33],抑制体内结直肠肿瘤增殖生长。极光激酶 A(AURKA)在细胞分裂的 G₂/M 期中起重要作用,其在结肠癌中过表达,直接导致正常的细胞转化和肿瘤形成,而巴马汀可通过靶向 AURKA 诱导结肠癌细胞 G₂/M 期阻滞和线粒体相关通路凋亡^[34]。研究表明黄连碱通过下调细胞外信号调节激酶(ERK)通路^[35]、乳脂球状表皮生长因子 8 蛋白(MFG-E8)/PI3K/Akt 信号通路^[36]、PI3K/Akt 通路^[37]抑制癌细胞生长,通过下调 Bcl-2、Bcl-XL、前体胱天蛋白酶-3(pro-Caspase-3)、X 连锁凋亡抑制蛋白(XIAP)水平,上调 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、Bcl-2 蛋白拮抗剂(Bad)、细胞色素 C、凋亡蛋白酶激活因子-1(Apaf-1)、凋亡诱导因子(AIF)、激活型 Caspase-3 和激活型

Caspase-8 的表达来激活线粒体相关的凋亡,而黄连碱对结直肠癌的体内实验只表明可抑制肿瘤生长,未进行深入研究^[35,37]。

吴茱萸碱可以通过诱导 Caspase 依赖性凋亡和 S 期阻滞来抑制人结肠癌细胞 LoVo 的体内外增殖^[38],还可通过上调骨形态发生蛋白 9(BMP9),再上调缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)激活肿瘤抑制蛋白(p53)^[39]和下调 Hedgehog 信号通路重要因子 SHH、GLI 家族锌指蛋白 1(Gli1)、蛋白偶联受体蛋白(SMO)、原癌基因蛋白(c-Myc)^[14],抑制 HCT-116 细胞的生长、增殖,诱导细胞凋亡。

体内实验表明吴茱萸次碱可抑制 CRC 生长、增殖^[40],其体外细胞实验可通过抑制核转录因子- κ B(NF- κ B)/信号转导子和转录激活子 3(STAT3)信号通路,抑制 CRC 细胞增殖。BYUN 等^[41]发现吴茱萸次碱通过抑制 Wnt/ β -catenin 介导的信号通路,下调细胞周期蛋白(Cyclin)(CyclinE 和 CyclinD₁)、细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)(CDK2、CDK4、CDK6)和上调 p21 阻滞 G₀/G₁ 细胞周期,从而发挥抗结直肠肿瘤增殖作用,还可通过上调激活型 Caspase-3 和激活型 Caspase-9 诱导癌细胞凋亡。

以上研究表明小檗碱和吴茱萸碱均能抑制结直肠肿瘤生长,诱导肿瘤细胞凋亡,其中小檗碱通过调节 GRP78、IGF2BP3、PI3K/Akt 通路、旁分泌 SHH 通路、Wnt/ β -catenin 通路和 lincROR-Wnt/ β -catenin 通路,发挥抗结直肠肿瘤作用,而吴茱萸碱则通过调节 Caspase、BMP9、HIF-1 α 、p53 和 Hedgehog 信号通路发挥抗肿瘤作用。目前有研究显示小檗碱和吴茱萸碱联用不仅能协同抑制 p-gp 阳性的结直肠癌细胞 Caco-2 生长,还可减弱吴茱萸碱诱导的心脏损伤^[18],所以在此基础上可考虑研究小檗碱和吴茱萸碱联用对上述靶点和通路是否有协同增效作用。

2.2 对结直肠肿瘤迁移、侵袭的作用 癌细胞迁移和侵袭的能力能够改变其在组织中的位置,脱离原发肿瘤,使肿瘤细胞进入淋巴和血管扩散到循环,导致癌症在远处器官定植。癌细胞向周围组织和血管的迁移和侵袭是肿瘤转移的重要初始步骤^[42],而转移是导致癌症相关死亡人数最多的原因^[43]。目前相关研究表明左金丸、小檗碱、吴茱萸碱、吴茱萸次碱、黄连碱能抑制结直肠癌细胞迁移、侵袭,从而遏制癌细胞扩散、转移,说明其可为临床治疗结直肠肿瘤转移奠定基础。

5-羟色胺受体(5-HTR)的各种亚型已被证明在癌变和癌症转移中发挥作用,5-HTR1D在CRC细胞系和组织中高表达,PAN等^[15]发现左金丸乙醇提取物下调5-HTR1D表达可抑制CRC细胞的生长和侵袭,其与Wnt/ β -catenin信号通路的失活有关。

体外细胞实验表明小檗碱下调GRP78的表达来抑制结肠癌细胞的迁移^[28],体内实验表明小檗碱通过抑制CRC肺和肝转移瘤间充质上皮转化(MET)中hub基因与YRPW基序2相关的多毛和分裂增强子(HEY2)和转移相关蛋白E-钙黏蛋白(E-cadherin)、 β -catenin和Cyclin D₁的表达,抑制直肠癌的进展和转移^[16]。黄连碱通过抑制大鼠肉瘤(RAS)/ERK通路和MFG-E8/PI3K/Akt信号通路,降低肿瘤转移风险^[35-36]。

吴茱萸碱通过下调磷酸葡萄糖异构酶(PGI)使Janus激酶(JAK2)/STAT3通路失活,从而抑制体外HCT-116细胞的迁移^[17],还可通过激活sirtuin1(Sirt1)抑制乙酰-NF- κ B p65抑制CRC细胞体内外的迁移和侵袭^[44]。吴茱萸碱可以抑制动物体内肿瘤的肺转移,还通过失活体外CRC细胞中的NF- κ B/STAT3信号通路抑制CRC细胞迁移和侵袭^[40]。BYUN等^[41]发现吴茱萸碱抑制结直肠癌迁移和侵袭与下调与Wnt/ β -catenin信号相关的上皮-间充质转化生物标志物(MMP-7、Snail、N-cadherin)有关。

以上研究表明小檗碱和吴茱萸碱均可抑制结直肠癌细胞迁移和侵袭,小檗碱通过GRP78、HEY2、转移相关蛋白(E-cadherin、 β -catenin、Cyclin D₁)进行调控,吴茱萸碱则通过调节JAK2/STAT3通路、Sirt1、NF- κ B/STAT3信号通路发挥抗癌作用。目前研究显示小檗碱30 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和吴茱萸碱0.8 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 联用时,对结直肠癌细胞的迁移和侵袭有协同增效作用^[19]。因此可以此为基础研究小檗碱和吴茱萸碱联用时对上述靶点和通路是否有协同增效作用。

2.3 对结直肠癌肿瘤血管生成的作用 肿瘤血管是肿瘤治疗管理的关键靶点。肿瘤细胞分泌高水平的促血管生成因子,导致异常血管网络的形成及肿瘤灌注不良,肿瘤灌注受损造成的缺氧微环境可以促进肿瘤细胞更具侵袭性,也可以阻碍免疫细胞的肿瘤杀伤作用,肿瘤灌注异常也降低了化疗药物的扩散,降低了放疗效率。而血管正常化通过恢复正常的肿瘤灌注和氧合,可以限制肿瘤细胞的侵袭,提高抗癌治疗的有效性^[45]。肿瘤血管的形成可

以通过多种方式发生,包括血管生成、血管新生、肠套叠血管生成、血管共选和血管生成模拟(VM),其中血管生成和血管新生是肿瘤血管生成的主要机制^[46]。目前研究说明吴茱萸碱、小檗碱有抑制结直肠癌肿瘤血管生成的活性,提示小檗碱、吴茱萸碱可通过抑制肿瘤血管生成,降低肿瘤细胞侵袭性,提高治疗结直肠癌肿瘤效率。

吴茱萸碱可能通过抑制白细胞介素-6受体(IL-6R)/STAT3通路,发挥抗血管生成效应,从而抑制结直肠癌小鼠模型体内肿瘤的生长^[47]。目前VM已成为抗肿瘤治疗的一个很有前途的新靶点^[48-49],而VM形成的潜在机制有上皮间质转化(EMT)和癌症干细胞(CSCs)^[50-51]。研究发现小檗碱调节结直肠癌CSCs的干细胞性和恶性行为的机制与其降低 β -catenin,随后有效降低N6甲基腺苷(m⁶A)甲基化,从而增加脂肪量与肥胖相关蛋白(FTO)有关^[52],而吴茱萸碱则可抑制结直肠癌CSC关键信号通路WNT和NOTCH的基因表达,从而消除CSC^[53]。促进VM形成的信号通路包括血管内皮钙黏蛋白(VE-cadherin)、产生红细胞生成素的肝细胞受体A2(EphA2)、PI3K、MMPs、血管内皮生长因子受体(VEGFR1)和HIF-1 α 等^[54-55],研究发现吴茱萸碱可以阻止CRC中VM的形成,从而降低侵袭性,其机制可能与吴茱萸碱通过抑制HIF-1 α ,从而下调VE-cadherin和VEGF,最终降低MMP-2和MMP-9表达水平有关^[56]。

上述研究表明,吴茱萸碱、小檗碱均可通过调节结直肠癌CSCs,抑制VM形成的潜在机制,其中吴茱萸碱通过抑制WNT和NOTCH的基因表达抑制CSC,而小檗碱调控的靶点是 β -catenin、m⁶A和FTO。且吴茱萸碱对形成肿瘤血管的IL-6R/STAT3、VE-cad、VEGF和MMPs进行了研究,而小檗碱只有对VM潜在机制的研究,因此可考虑研究小檗碱和吴茱萸碱联用是否对肿瘤血管生成有协同增效作用。提示小檗碱、吴茱萸碱可通过抑制肿瘤血管生成,降低肿瘤细胞侵袭性,提高治疗结直肠癌肿瘤效率。

2.4 对结直肠肿瘤促进性炎症的作用 炎症在肿瘤进展的早期阶段很明显,且能促进早期肿瘤发展为成熟的癌症,炎症细胞可以释放化学物质,这些化学物质对附近的癌细胞具有积极的诱变作用,加速他们向高度恶性肿瘤状态的遗传进化^[57]。而小檗碱、吴茱萸碱、巴马汀可通过抑制结直肠肿瘤促进性炎症反应,预防结直肠癌的发生,说明其可为

临床预防结直肠癌的发生提供科学参考。

炎症信号通路的过度激活是机体癌变和肿瘤恶化主要机制之一^[58],在氧化偶氮甲烷/右旋葡聚糖硫酸(AOM/DSS)诱导的高脂喂食(HFD)的CRC模型小鼠中,小檗碱可能通过抑制炎症相关通路IL-6/p-STAT3和IL-17,从而抑制HFD相关的结直肠肿瘤发生^[59]。DENG等^[9]通过研究预给药小檗碱对AOM/DSS诱导的结肠炎相关癌变模型小鼠的影响,发现预先给药小檗碱可抑制促炎因子IL-6、IL-1 β 、环氧化酶-2(COX-2)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和细胞增殖标志物Ki67的表达,且参与炎症过程的关键通路蛋白p-STAT3和磷酸化c-Jun N末端激酶(p-JNK)的表达水平也较低,表明预给药小檗碱对结肠癌发生具有预防作用,其作用机制与抑制炎症有关。吴茱萸碱对AOM/DSS造模模型小鼠炎症相关性结直肠癌具有良好的预防作用,其作用可能与降低组织炎症水平COX-2、增殖细胞核抗原(PCNA)和抑制细胞异常增殖有关^[10]。吴茱萸碱可以通过防止肠黏膜屏障的损伤和调节p-NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、IL-12、IL-17、IL-22和TNF- α 等炎症细胞因子分泌来减少CRC的炎症反应^[60]。巴马汀显著降低了肠道炎症因子IL-8、IL-10、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)的过表达和结肠肿瘤的发生发展,说明巴马汀可能在结直肠癌化学预防中具有治疗作用^[11]。

小檗碱和吴茱萸碱均能通过调节IL-6、IL-1 β 、COX-2和TNF- α 抑制结直肠肿瘤促进性炎症反应。小檗碱还可通过抑制炎症相关通路IL-6/p-STAT3、IL-17和关键通路蛋白p-JNK抑制炎症反应,而吴茱萸碱还可通过调节炎症因子NF- κ B、IL-12、IL-17、IL-22抑制炎症反应。因此可考虑研究小檗碱和吴茱萸碱联用对上述相关炎症因子、通路和蛋白是否有协同增效作用。

2.5 对结直肠肿瘤表观遗传学的作用 表观遗传学的定义是不改变脱氧核糖核酸(DNA)序列的基因表达的可遗传变化,即在不改变基因型的情况下改变表型,表观遗传学通过修饰基因表达,在各种癌症的发生发展中发挥重要作用^[61],癌症发展中起作用的表观遗传机制包括CG-rich序列中胞嘧啶碱基的DNA甲基化,microRNAs和非编码RNAs^[62]等。哺乳动物的甲基化由4个DNA甲基转移酶(Dnmt)Dnmt1、Dnmt3a、Dnmt3b、Dnmt3L控制^[63],大肠腺瘤性息肉病(APC)基因是结直肠癌抑制因子,其突变不仅是家族性腺瘤性息肉病(FAP)的发

病原因,而且在大多数散发性结直肠癌发生和发展中起着限速作用^[64]。

研究表明左金丸能有效抑制早期大肠癌的发生发展,其机制可能与左金丸抑制Dnmt3b表达有关^[65]。而有研究通过1,2-二甲基酰肼(DMH)诱导大鼠大肠癌,研究左金丸对该癌症Dukes A、B期APC基因的表达和Dnmt各亚型Dnmt1、Dnmt3a、Dnmt3b活性的影响,结果表明APC基因只参与肿瘤早期形成,与肿瘤的发展浸润无关,但Dnmt1和Dnmt3b参与肿瘤的发展浸润,说明左金丸的抑癌作用可能与APC蛋白表达量的增加和Dnmt活性的降低相关^[66]。microRNAs参与细胞分化、增殖和凋亡,小檗碱可能通过促进miRNA-29b-3p表达和靶向mRNA-515-5p基因,抑制结直肠癌细胞的增殖,并诱导细胞凋亡^[67-68],小檗碱和吴茱萸碱可分别下调miR-429的表达,从而抑制结直肠癌的发生发展^[69]。

小檗碱和吴茱萸碱均可通过下调miR-429抑制结直肠癌发生发展,因此可考虑两者联用时对调节miR-429是否有协同增效作用。

2.6 对结直肠肿瘤能量代谢的作用 与大多数正常组织细胞相比,癌细胞具有独特的代谢表型,称为Warburg效应,包括有氧糖酵解和减少氧化磷酸化(OXPHOS),为生物合成提供了中间产物,可促进癌细胞的增殖和分裂^[70]。与正常细胞相比,癌细胞需要更多的能量来维持癌细胞生长、增殖,而左金丸、小檗碱能够抑制结直肠癌细胞的能量代谢抑制癌细胞生长,其可为中药抗结直肠癌药物的研发提供思路。

在结直肠癌中多胺能促进糖酵解^[71],余彩雁等^[72]以体外大鼠肠上皮细胞IEC6、HCT116细胞共培养模型模拟结肠癌微环境,研究左金丸对其肠上皮屏障功能的作用,结果表明左金丸乙醇提取物能保护该模型肠上皮屏障功能及抑制HCT116细胞增殖,其机制可能与调节HCT116细胞多胺代谢、转运和抑制肿瘤糖酵解水平有关。过度激活的葡萄糖摄取和糖酵解代谢被认为是癌症的一个标志,小檗碱通过抑制哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)依赖的HIF-1 α 蛋白合成来抑制结肠癌细胞体外过度活跃的糖代谢^[73]。脂质代谢是能量稳态的一个重要部分,影响各种癌症的发展,脂质合成升高是癌细胞脂质代谢最重要的改变之一,因为肿瘤细胞需要高水平的脂质来生长和膜合成,而小檗碱通过靶向甾醇调节元件结合蛋白裂解激活蛋白/甾醇调节元

件结合蛋白-1(SCAP/SREBP-1)通路抑制脂肪生成,抑制结肠癌细胞体内外增殖和转移^[74],进一步研究表明小檗碱通过促进早幼粒细胞白血病锌指(PLZF)介导的SCAP泛素化来抑制脂肪生成,抑制结肠癌细胞体外的转移^[75]。

目前对结直肠肿瘤能量代谢的研究除有左金丸外,就只有左金丸主要单体成分小檗碱,而未见另一主要单体成分吴茱萸碱,因此可考虑以小檗碱对结直肠肿瘤糖代谢、脂质代谢为参照,研究小檗碱和吴茱萸碱联用对该方面是否有协同增效作用。

2.7 对结直肠肿瘤肠道菌群的作用 在肠道生态失调过程中,致病性微生物群亚群的扩张与结直肠癌的发病机制密切相关。肠道代谢物氨基酸和细菌代谢物(胆汁酸和短链脂肪酸),亦与肠道中的癌变疾病有关^[76]。在结直肠癌患者中,肠道中产生短链脂肪酸(SCFA)的细菌的丰度较低,而补充产生SCFA的益生菌可以抑制结直肠癌的发生和发展,这意味着肠道微生物群的功能调节是结直肠癌的一种治疗策略^[77]。

小檗碱通过调节肠道菌群平衡、黏膜免疫系统、JAK/STAT通路和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/ERK通路,阻断核糖核酸酶介导的结直肠肿瘤发生^[78],还可通过降低条件致病菌,增加有益菌的相对丰度部分修复AOM/DSS小鼠肠道菌群的失衡^[79]。体内外实验表明,小檗碱可能通过下调Hedgehog信号通路活性^[80],调节肠道微生物群抑制促炎症基因和致癌物因子从而抑制小鼠结直肠肿瘤生长^[81]。此外,发现小檗碱可以预防CRC并恢复接受HFD饲养的APC min/+小鼠的肠道微生物群落^[82],还可调节致病菌和有益细菌,肠道菌群产生的SCFA和脂多糖(LPS),炎症肿瘤转化信号通路与肠屏障功能三个平衡水平缓解结肠炎相关结直肠肿瘤的发生^[83]。CHEN等^[59]进一步研究发现小檗碱对肠道微生物群消耗的HFD喂养的CRC模型小鼠没有明显的抗肿瘤作用,而将小檗碱处理的肠道微生物群移植到肠道微生物耗尽的CRC小鼠中时,可重现小檗碱对结直肠肿瘤发生和溶血磷脂酰胆碱(LPC)水平的抑制作用,说明肠道微生物群可能在介导小檗碱对HFD相关结直肠癌发展的作用中发挥重要作用。临床研究表明,肠道菌群失调与pSTAT3的表达增加有关,吴茱萸碱可能通过抑制IL-6/STAT3/p65信号通路,调节肠道菌群和抑制肠道炎症来抑制结肠癌的发生^[84],亦可通过调节肠道微生物群代谢物和结肠上皮信号通路来抑制肠道

炎症——癌的发展^[85]。

上述研究表明,小檗碱、吴茱萸碱均能通过调节肠道菌群,抑制结直肠肿瘤的发生发展,可两者调节的通路不同,小檗碱通过JAK/STAT通路、MAPK/ERK通路和Hedgehog信号通路,而吴茱萸碱通过IL-6/STAT3/p65信号通路进行调节,因此在结直肠肿瘤肠道菌群方面,可考虑研究小檗碱和吴茱萸碱联用对上述4个通路是否有协同作用。说明目前的研究可为今后结直肠肿瘤肠道菌群的研究提供理论指导。

2.8 对结直肠肿瘤耐药性的作用 多药耐药(MDR)是癌细胞对一种化疗药物的耐药,同时对其其他可能具有不同结构和作用机制的化疗药物的耐药的现象,耐多药潜在机制有三磷酸腺苷结合盒(ABC)转运蛋白家族、凋亡诱导、癌症干细胞调控等^[86],耐药性仍然是目前成功治疗癌症的最重要障碍之一^[87]。

研究表明左金丸乙醇提物通过增加HCT-116/奥沙利铂(L-OHP)细胞内化疗药物浓度、抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡,通过下调肿瘤组织中P-糖蛋白(P-gp)ABCB1 mRNA表达抑制HCT-116/L-OHP结肠癌多药耐药细胞裸鼠皮下移植瘤的生长,并延长异种移植瘤模型的中位生存时间和总生存时间来逆转HCT-116/L-OHP细胞株的多药耐药性^[88-90],还可能通过抑制转移相关肺腺癌转录本1(MALAT1)的表达,上调miR-200s,减轻JNK信号通路的激活,同时降低MDR1/ABCB1和ABCG2的表达逆转化疗耐药^[91]。在癌症干细胞调控MDR方面,左金丸乙醇提物通过抑制PI3K/Akt/NF- κ B信号通路逆转人结直肠癌细胞^[92]和HCT-116/SP干细胞的耐药性^[93]。卫真真等^[94]研究表明左金丸通过调控鼠类肉瘤病毒癌基因(KRAS)突变型人结肠癌细胞的核因子(源自红细胞)样2(Nrf2)和p53途径,从而抑制溶质载体家族7成员11(SLC7A11)和谷胱甘肽过氧化酶4(GPX4)促进铁死亡,可能是逆转西妥昔单抗(CET)耐药的机制。吴茱萸碱可通过阻断人结直肠癌p-NF- κ B信号通路来减弱多药耐药^[95]。

上述研究表明左金丸、吴茱萸碱能逆转结直肠肿瘤的耐药性,而小檗碱未见对结直肠肿瘤的耐药性的研究,因此可考虑小檗碱和吴茱萸碱联用时对结直肠肿瘤耐药性是否有协同增效作用。目前研究表明左金丸及其主要单体成分吴茱萸碱可能有解决结直肠癌临床化疗耐药性的潜能。

3 总结与展望

目前左金丸抗CRC的基础药理研究包括CRC的增殖、细胞凋亡、侵袭、能量代谢、表观遗传学、耐药性;相较于左金丸,除无小檗碱对耐药性及吴茱萸碱对能量代谢的研究外,还有小檗碱和吴茱萸碱对肿瘤血管生成、肿瘤促进性炎症反应和肠道菌群的研究;而黄连碱、巴马汀、吴茱萸次碱可分别调节CRC细胞增殖、凋亡、转移,CRC细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭、促进肿瘤炎症反应。

但是左金丸及其主要单体成分小檗碱、吴茱萸碱等对结直肠癌的研究还存在一些不足之处:第一,在结直肠癌中,主要的促增殖信号通路是表皮生长因子受体(EGFR)/RAS和Wnt/ β -catenin通路,其中EGFR激活触发下游RAS/RAF/MEK/ERK和PI3K/Akt信号级联,这些信号成分在CRC中经常发生突变^[96]。而目前左金丸、小檗碱、吴茱萸次碱主要对Wnt/ β -catenin信号通路进行研究,而对EGFR/RAS相关研究不多,因此可考虑左金丸及其主要单体成分对EGFR/RAS信号通路及除小檗碱、吴茱萸次碱外的其他主要单体成分对Wnt/ β -catenin通路的研究。第二,小檗碱、吴茱萸碱有对结直肠肿瘤血管生成、肿瘤促进性炎症的研究;左金丸和吴茱萸碱均有对结直肠癌耐药性的研究;小檗碱和吴茱萸碱有对结直肠癌肠道菌群的研究,因此可分别增加左金丸、黄连碱、巴马汀、吴茱萸次碱对结直肠肿瘤血管生成、肿瘤促进性炎症的研究,增加小檗碱、黄连碱、吴茱萸次碱、巴马汀对结直肠癌耐药性的研究,增加左金丸、黄连碱、巴马汀、吴茱萸次碱对结直肠癌肠道菌群的研究。第三,CRC基因组的不稳定机制,表现为染色体不稳定(CIN)或微卫星不稳定(MSI),几乎所有的CIN肿瘤都显示Wnt信号的激活,80%的肿瘤存在APC突变失活,APC是Wnt通路的负调控因子。而MSI是由错配修复(MMR)基因突变失活导致的错配修复缺陷(dMMR)的表型表现,MMR基因功能的缺失导致基因高突变,促进结直肠癌的发展。因此左金丸及主要单体成分还可从MSI对CRC基因组进行研究^[96-97]。第四,CRC的能量代谢除有氧糖酵解外,还有提高谷氨酰胺利用率、脂质代谢、单碳代谢和短链脂肪酸代谢^[96],而目前左金丸、小檗碱对能量代谢的研究较少,尤其是吴茱萸碱、吴茱萸次碱、黄连碱、巴马汀还未涉及能量代谢研究,因此可考虑从多方面能量代谢来研究左金丸、小檗碱、吴茱萸碱等对结直肠癌能量代谢的影响。第五,小檗碱和吴

茱萸碱联用可协同抑制结直肠癌细胞生长,还可减弱吴茱萸碱诱导的心脏损伤^[18],且在小檗碱浓度为 $30\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、吴茱萸碱浓度为 $0.8\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 及两药联用 $(30+0.8)\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的前提下,联用能够发挥协同增效作用,显著抑制结肠癌HCT116、RKO细胞迁移、侵袭能力,其机制可能与下调PI3K、Akt蛋白表达水平有关^[19]。因此还可研究小檗碱和吴茱萸碱联用对结直肠肿瘤血管生成、肿瘤促进性炎症反应、能量代谢、肠道菌群和耐药性 etc 有无协同增效作用,进一步说明左金丸组方配伍的合理性。

总之,左金丸及其主要单体成分小檗碱、吴茱萸碱等对结直肠癌的研究大多还集中在基础药理机制方面,还不够深入和丰富。此外,目前除小檗碱外,左金丸及其他主要单体成分对结直肠癌的研究大多数以体外细胞实验为主,虽有体内实验,但对其体内外相对应的抗结直肠癌机制研究则极少。且目前只有小檗碱对结直肠肿瘤的研究进展至临床试验^[98-99]。因此需要加快左金丸及除小檗碱以外的其他主要单体成分的抗结直肠肿瘤的研究进程,即需要更多对应的体内外实验深入、全面地研究左金丸及其主要单体成分预防和治疗结直肠癌的分子作用机制,以期其能够尽早进入临床,为治疗结直肠肿瘤提供高效低毒的方法。

【参考文献】

- [1] 李艳英,黄能听,韩馥蔓,等. 左金丸的古代文献分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(12):39-47.
- [2] 张骏安,周红祖,梁斌发,等. 左金丸的化学成分与药理作用研究进展[J]. 药物评价研究,2021,44(12):2720-2730.
- [3] 付琳,付强,李冀,等. 黄连化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药学报,2021,49(2):87-92.
- [4] 梁靖蓉,麦凤怡,李陈广,等. 吴茱萸碱的药理学研究进展[J]. 中国药理学通报,2022,38(10):1457-1461.
- [5] 褚璨灿,师为人,陈云志,等. 左金丸临床应用与实验研究进展[J]. 实用中医药杂志,2019,35(5):626-629.
- [6] 曹洋,刘展华,陈志坚. 陈锐深教授治疗大肠癌的经验[J]. 中医医学刊,2005,23(10):1750-1751.
- [7] 李变丽,陈华国,赵超,等. 中药抗结直肠癌的作用机制研究进展[J]. 天然产物研究与开发,2020,32(12):2132-2141.
- [8] LUQUE C, CEPERO A, PERAZZOLI G, et al. *In vitro* efficacy of extracts and isolated bioactive compounds from ascomycota fungi in the treatment of colorectal cancer: A systematic review [J]. Pharmaceuticals

- (Basel), 2022, 16(1):22.
- [9] DENG J, ZHAO L, YUAN X, et al. Pre-administration of berberine exerts chemopreventive effects in AOM/DSS-induced colitis-associated carcinogenesis mice via modulating inflammation and intestinal microbiota [J]. *Nutrients*, 2022, 14(4):726.
- [10] 滕之颖, 蔡雪婷, 杨洋, 等. 吴茱萸碱对炎症相关性结肠癌的预防作用研究[J]. *南京中医药大学学报*, 2015, 31(3):234-237.
- [11] MA W K, LI H, DONG C L, et al. Palmatine from *Mahonia bealei* attenuates gut tumorigenesis in ApcMin/+ mice via inhibition of inflammatory cytokines[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(1):491-498.
- [12] XU L, QI Y, LV L, et al. *In vitro* anti-proliferative effects of Zuojinwan on eight kinds of human cancer cell lines[J]. *Cytotechnology*, 2014, 66(1):37-50.
- [13] 陈姿含, 闫秋莹, 顾俊菲, 等. 小檗碱通过激活自噬诱导 caspase 依赖性凋亡发挥抗结肠癌作用(英文)[J]. *南京中医药大学学报*, 2023, 39(1):21-31.
- [14] 孙强, 刘茂伦, 杨寒, 等. 吴茱萸碱通过调控 Hedgehog 信号通路诱导结肠癌 HCT-116 细胞凋亡的研究[J]. *中药药理与临床*, 2022, 38(1):71-77.
- [15] PAN J, XU Y, SONG H, et al. Extracts of Zuo Jin Wan, a traditional Chinese medicine, phenocopies 5-HTR1D antagonist in attenuating Wnt/ β -catenin signaling in colorectal cancer cells [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2017, 17(1):506.
- [16] NI L, SUN P, AI M, et al. Berberine inhibited the formation of metastasis by intervening the secondary homing of colorectal cancer cells in the blood circulation to the lung and liver through HEY2 [J]. *Phytomedicine*, 2022, doi: 10.1016/j.phymed. 2022. 154303.
- [17] ZHAO LC, LI J, LIAO K, et al. Evodiamine induces apoptosis and inhibits migration of HCT-116 human colorectal cancer cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(11):27411-27421.
- [18] GUAN X, ZHENG X, VONG C T, et al. Combined effects of berberine and evodiamine on colorectal cancer cells and cardiomyocytes *in vitro* [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, doi: 10.1016/j.ejphar. 2020. 173031.
- [19] 陈宁宁, 蒋义芳, 杨懿, 等. 小檗碱与吴茱萸碱联用对结肠癌细胞迁移、侵袭能力的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(24):98-104.
- [20] 熊平, 蒋灵芝, 许利平. 左金丸水煎液和生物碱抗胃溃疡的实验研究[J]. *中医药学刊*, 2004, 22(2):263-263, 293.
- [21] 冯国彬. 基于色谱-质谱联用的左金丸和香连丸的化学成分研究[D]. 佳木斯:佳木斯大学, 2017.
- [22] 陈文文, 过林, 贺敏, 等. UPLC-DAD/Q-TOF-MS 法分析左金丸化学成分[J]. *中成药*, 2017, 39(11):2412-2414.
- [23] 刘斯琪, 王如峰. 左金丸组分中药配伍组分制备工艺研究[J]. *中草药*, 2022, 53(19):6001-6011.
- [24] LEAL-ESTEBAN L C, FAJAS L. Cell cycle regulators in cancer cell metabolism [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866(5):165715.
- [25] CARNEIRO B A, EL-DEIRY W S. Targeting apoptosis in cancer therapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(7):395-417.
- [26] 潘秋莎. 左金丸成分联合益生菌 EcN 诱导小鼠结肠癌细胞凋亡的机制研究[D]. 上海:上海中医药大学, 2019.
- [27] FAN J H, XU M M, ZHOU L M, et al. Integrating network pharmacology deciphers the action mechanism of Zuojin capsule in suppressing colorectal cancer [J]. *Phytomedicine*, 2022, doi: 10.1016/j.phymed. 2021. 153881.
- [28] GONG C, HU X, XU Y, et al. Berberine inhibits proliferation and migration of colorectal cancer cells by downregulation of GRP78 [J]. *Anticancer Drugs*, 2020, 31(2):141-149.
- [29] ZHANG Y, LIU X, YU M, et al. Berberine inhibits proliferation and induces G₀/G₁ phase arrest in colorectal cancer cells by downregulating IGF2BP3 [J]. *Life Sci*, 2020, doi:10.1016/j.lfs. 2020. 118413.
- [30] GUI Z, LI J, LI J, et al. Berberine promotes IGF2BP3 ubiquitination by TRIM21 to induce G₁/S phase arrest in colorectal cancer cells[J]. *Chem Biol Interact*, 2023, doi:10.1016/j.cbi. 2023. 110408.
- [31] SHEN Z Q, WANG J, TAN W F, et al. Berberine inhibits colorectal tumor growth by suppressing SHH secretion[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(7):1190-1194.
- [32] NIE Q, PENG W W, WANG Y, et al. β -catenin correlates with the progression of colon cancers and berberine inhibits the proliferation of colon cancer cells by regulating the β -catenin signaling pathway [J]. *Gene*, 2022, doi:10.1016/j.gene. 2022. 146207.
- [33] LI S Y, SHI C J, FU W M, et al. Berberine inhibits tumour growth *in vivo* and *in vitro* through suppressing the lincROR-Wnt/ β -catenin regulatory axis in colorectal cancer [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2023, 75(1):129-138.
- [34] LIU X, ZHANG Y, WU S, et al. Palmatine induces G₂/

- M phase arrest and mitochondrial-associated pathway apoptosis in colon cancer cells by targeting AURKA [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, doi: 10.1016/j.bcp.2020.113933.
- [35] HUANG T, XIAO Y, YI L, et al. Coptisine from *Rhizoma Coptidis* suppresses HCT-116 cells-related tumor growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *Sci Rep*, 2017, doi:10.1038/srep38524.
- [36] CAO Q, HONG S, LI Y, et al. Coptisine suppresses tumor growth and progression by down-regulating MFG-E8 in colorectal cancer [J]. *RSC Adv*, 2018, 8(54):30937-30945.
- [37] HAN B, JIANG P, LI Z, et al. Coptisine-induced apoptosis in human colon cancer cells (HCT-116) is mediated by PI3K/Akt and mitochondrial-associated apoptotic pathway [J]. *Phytomedicine*, 2018, doi: 10.1016/j.phymed.2017.12.027.
- [38] ZHANG C, FAN X, XU X, et al. Evodiamine induces caspase-dependent apoptosis and S phase arrest in human colon lovo cells [J]. *Anticancer Drugs*, 2010, 21(8):766-776.
- [39] LI FS, HUANG J, CUI MZ, et al. BMP9 mediates the anticancer activity of evodiamine through HIF-1 α /p53 in human colon cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2020, 43(2):415-426.
- [40] CHAN S, SUN R, TU X, et al. Rutaecarpine suppresses the proliferation and metastasis of colon cancer cells by regulating the STAT3 signaling [J]. *J Cancer*, 2022, 13(3):847-857.
- [41] BYUN W S, BAE E S, KIM W K, et al. Antitumor activity of rutaecarpine in human colorectal cancer cells by suppression of Wnt/ β -catenin signaling [J]. *J Nat Prod*, 2022, 85(5):1407-1418.
- [42] DUFF D, LONG A. Roles for RACK1 in cancer cell migration and invasion [J]. *Cell Signal*, 2017, doi: 10.1016/j.cellsig.2017.03.005.
- [43] FARES J, FARES M Y, KHACHFE H H, et al. Molecular principles of metastasis: A hallmark of cancer revisited [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1):28.
- [44] ZHOU P, LI X P, JIANG R, et al. Evodiamine inhibits migration and invasion by Sirt1-mediated post-translational modulations in colorectal cancer [J]. *Anticancer Drugs*, 2019, 30(6):611-617.
- [45] VIALARD C, LARRIVÉE B. Tumor angiogenesis and vascular normalization: Alternative therapeutic targets [J]. *Angiogenesis*, 2017, 20(4):409-426.
- [46] LUO Q, WANG J, ZHAO W, et al. Vasculogenic mimicry in carcinogenesis and clinical applications [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1):19.
- [47] 张超, 荣爱梅, 张磊, 等. 吴茱萸碱对结直肠癌小鼠 IL-6R/STAT3 通路的影响 [J]. *西北药学杂志*, 2022, 37(1):58-64.
- [48] GE H, LUO H. Overview of advances in vasculogenic mimicry-a potential target for tumor therapy [J]. *Cancer Manag Res*, 2018, doi: 10.2147/CMAR.S164675.
- [49] QIAO L, LIANG N, ZHANG J, et al. Advanced research on vasculogenic mimicry in cancer [J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(2):315-326.
- [50] LIU Q, QIAO L, LIANG N, et al. The relationship between vasculogenic mimicry and epithelial-mesenchymal transitions [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(9):1761-1769.
- [51] SUN B, ZHANG D, ZHAO N, et al. Epithelial-to-endothelial transition and cancer stem cells: Two cornerstones of vasculogenic mimicry in malignant tumors [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(18):30502-30510.
- [52] ZHAO Z, ZENG J, GUO Q, et al. Berberine suppresses stemness and tumorigenicity of colorectal cancer stem-like cells by inhibiting m6A methylation [J]. *Front Oncol*, 2021, doi:10.3389/fonc.2021.775418.
- [53] KIM H, YU Y, CHOI S, et al. Evodiamine eliminates colon cancer stem cells via suppressing Notch and Wnt signaling [J]. *Molecules*, 2019, 24(24):4520.
- [54] LU X S, SUN W, GE C Y, et al. Contribution of the PI3K/MMPs/Ln-5 γ 2 and EphA2/FAK/Paxillin signaling pathways to tumor growth and vasculogenic mimicry of gallbladder carcinomas [J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(6):2103-2115.
- [55] WANG M, ZHAO X, ZHU D, et al. HIF-1 α promoted vasculogenic mimicry formation in hepatocellular carcinoma through LOXL2 up-regulation in hypoxic tumor microenvironment [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1):60.
- [56] ZENG D, ZHOU P, JIANG R, et al. Evodiamine inhibits vasculogenic mimicry in HCT116 cells by suppressing hypoxia-inducible factor 1- α -mediated angiogenesis [J]. *Anticancer Drugs*, 2021, 32(3):314-322.
- [57] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: The next generation [J]. *Cell*, 2011, 144(5):646-674.
- [58] 彭孟凡, 李鸣, 苗晋鑫, 等. 基于“炎-癌转化”探讨炎症对肿瘤的影响及中医药干预作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(22):196-204.

- [59] CHEN H, YE C, WU C, et al. Berberine inhibits high fat diet-associated colorectal cancer through modulation of the gut microbiota-mediated lysophosphatidylcholine [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19 (7):2097-2113.
- [60] ZHANG Y, ZHANG Y, ZHAO Y, et al. Protection against ulcerative colitis and colorectal cancer by evodiamine via anti-inflammatory effects [J]. *Mol Med Rep*, 2022, 25(5):188.
- [61] SENG S S, GROSE R P. Hallmarks of cancer the new testament [J]. *Open Biol*, 2021, 11(1):200358.
- [62] LAO V V, GRADY W M. Epigenetics and colorectal cancer [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2011, 8 (12):686-700.
- [63] ROSS J P, RAND K N, MOLLOY P L. Hypomethylation of repeated DNA sequences in cancer [J]. *Epigenomics*, 2010, 2(2):245-269.
- [64] FODDE R. The APC gene in colorectal cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2002, 38(7):867-871.
- [65] 文彬,熊旻利,戴伟怡,等. 左金丸及反左金丸对实验性大肠癌不同时期甲基转移酶表达的影响 [J]. *世界华人消化杂志*, 2009, 17(20):2074-2078.
- [66] 龚艳青,文彬. 左金丸对大肠癌 APC 表达及 DNA 甲基转移酶活性的影响 [J]. *南昌大学学报:医学版*, 2010, 50(12):46-49.
- [67] 李静,李治国,王花花,等. 黄连素与 miRNA-29b-3p 对结直肠癌细胞增殖和凋亡的影响 [J]. *癌症进展*, 2019, 17(5):536-539, 544.
- [68] 张荣枝,廖超,李毅忠. 小檗碱单体靶向微小 RNA-515-5p 基因对结直肠癌细胞增殖和凋亡作用的研究 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2020, 28 (11): 825-831.
- [69] LIU H, HUANG C, WU L, et al. Effect of evodiamine and berberine on miR-429 as an oncogene in human colorectal cancer [J]. *Onco Targets Ther*, 2016, doi: 10. 2147/OTT. S104729.
- [70] LIU J, PENG Y, WEI W. Cell cycle on the crossroad of tumorigenesis and cancer therapy [J]. *Trends Cell Biol*, 2022, 32(1):30-44.
- [71] WANG Y, HE H, CHEN J, et al. Effects of glycolysis and polyamine predation on intestinal epithelial barrier in colorectal cancer [J]. *Front Oncol*, 2022, doi: 10. 3389/fonc. 2022. 961257.
- [72] 余彩雁,靳淑颖,周四桂,等. 左金丸对 IEC6、HCT116 细胞共培养模型肠上皮屏障功能的保护及机制研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2023, 34(1):1-7.
- [73] MAO L, CHEN Q, GONG K, et al. Berberine decelerates glucose metabolism via suppression of mTOR-dependent HIF-1 α protein synthesis in colon cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(5):2436-2442.
- [74] LIU Y, HUA W, LI Y, et al. Berberine suppresses colon cancer cell proliferation by inhibiting the SCAP/SREBP-1 signaling pathway-mediated lipogenesis [J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, doi: 10. 1016/j. bcp. 2019. 113776.
- [75] LIU Y, FANG X, LI Y, et al. Berberine suppresses the migration and invasion of colon cancer cells by inhibition of lipogenesis through modulation of promyelocytic leukemia zinc finger-mediated sterol-regulatory element binding proteins cleavage-activating protein ubiquitination [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2022, 74(9):1353-1363.
- [76] YACHIDA S, MIZUTANI S, SHIROMA H, et al. Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer [J]. *Nat Med*, 2019, 25(6):968-976.
- [77] HOU H, CHEN D, ZHANG K, et al. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids and colorectal cancer: Ready for clinical translation? [J]. *Cancer Lett*, 2022, doi:10. 1016/j. canlet. 2021. 11. 027.
- [78] YU Y N, YU T C, ZHAO H J, et al. Berberine may rescue *Fusobacterium nucleatum*-induced colorectal tumorigenesis by modulating the tumor microenvironment [J]. *Oncotarget*, 2015, 6 (31): 32013-32026.
- [79] CHEN H, ZHANG F, ZHANG J, et al. A Holistic view of berberine inhibiting intestinal carcinogenesis in conventional mice based on microbiome-metabolomics analysis [J]. *Front Immunol*, 2020, doi: 10. 3389/fimmu. 2020. 588079.
- [80] SUN Q, YANG H, LIU M, et al. Berberine suppresses colorectal cancer by regulation of Hedgehog signaling pathway activity and gut microbiota [J]. *Phytomedicine*, 2022, doi: 10. 1016/j. phymed. 2022. 154227.
- [81] CHEN H, YE C, CAI B, et al. Berberine inhibits intestinal carcinogenesis by suppressing intestinal pro-inflammatory genes and oncogenic factors through modulating gut microbiota [J]. *BMC Cancer* 2022, 22 (1):566.
- [82] WANG H, GUAN L, LI J, et al. The effects of berberine on the Gut microbiota in APC min/+ mice fed with a high fat diet [J]. *Molecules*, 2018, 23(9):2298.
- [83] LYAN S, CHANG J, HAO X, et al. Berberine regulates short-chain fatty acid metabolism and alleviates the colitis-associated colorectal tumorigenesis through

- remodeling intestinal flora [J]. *Phytomedicine*, 2022, doi: 10.1016/j.phymed.2022.154217.
- [84] ZHU L Q, ZHANG L, ZHANG J, et al. Evodiamine inhibits high-fat diet-induced colitis-associated cancer in mice through regulating the gut microbiota [J]. *J Integr Med*, 2021, 19(1):56-65.
- [85] WANG M, ZHOU B, CONG W, et al. Amelioration of AOM/DSS-induced murine colitis-associated cancer by evodiamine intervention is primarily associated with Gut microbiota-metabolism inflammatory signaling axis [J]. *Front Pharmacol*, 2021, doi: 10.3389/fphar.2021.797605.
- [86] WU Q, YANG Z, NIE Y, et al. Multi-drug resistance in cancer chemotherapeutics: Mechanisms and lab approaches [J]. *Cancer Lett*, 2014, 347(2):159-166.
- [87] HANSSEN K M, HABER M, FLETCHER J I. Targeting multidrug resistance-associated protein 1 (MRP-1) -expressing cancers: Beyond pharmacological inhibition [J]. *Drug Resist Updat*, 2021, doi: 10.1016/j.drug.2021.100795.
- [88] 付晓伶, 隋华, 潘树芳, 等. 左金丸对人结肠癌多药耐药细胞的逆转作用 [J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(3):844-847.
- [89] 付晓伶, 隋华, 潘树芳, 等. 左金丸通过 ABCB1/P-gp 途径对裸鼠人结肠癌多药耐药的抑制作用 [J]. *上海中医药大学学报*, 2014, 28(2):47-51.
- [90] SUI H, LIU X, JIN B H, et al. Zuo Jin Wan, a traditional Chinese herbal formula, reverses P-gp-mediated MDR *in vitro* and *in vivo* [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, doi: 10.1155/2013/957078.
- [91] WEI Z, ZHOU J, YU H, et al. Zuo Jin Wan reverses the resistance of colorectal cancer to oxali-platin by regulating the MALAT1/miR-200s/JNK signaling pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, doi:10.1155/2022/3032407.
- [92] SUI H, PAN S F, FENG Y, et al. Zuo Jin Wan reverses P-gp-mediated drug-resistance by inhibiting activation of the PI3K/Akt/NF- κ B pathway [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2014, doi: 10.1186/1472-6882-14-279.
- [93] 隋华, 卫真真, 王子元, 等. 左金丸调控 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路对人大肠癌干细胞细胞耐药性的影响 [J]. *上海中医药杂志*, 2020, 54(S1):127-131.
- [94] 卫真真, 隋华, 姜宇朗, 等. 左金丸联合西妥昔单抗诱导 KRAS 突变肠癌细胞铁死亡作用研究 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2023, 28(2):130-137.
- [95] SUI H, ZHOU L H, ZHANG Y L, et al. Evodiamine suppresses ABCG2 mediated drug resistance by inhibiting p50/p65 NF- κ B pathway in colorectal cancer [J]. *J Cell Biochem*, 2016, 117(6):1471-1481.
- [96] LI J, MA X, CHAKRAVARTI D, et al. Genetic and biological hallmarks of colorectal cancer [J]. *Genes Dev*, 2021, 35(11/12):787-820.
- [97] NGUYEN L H, GOEL A, CHUNG D C. Pathways of colorectal carcinogenesis [J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(2):291-302.
- [98] CHEN Y X, GAO Q Y, ZOU T H, et al. Berberine versus placebo for the prevention of recurrence of colorectal adenoma: A multicentre, double-blinded, randomised controlled study [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2020, 5(3):267-275.
- [99] FANG S, GUO S, DU S, et al. Efficacy and safety of berberine in preventing recurrence of colorectal adenomas: A systematic review and meta-analysis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, doi: 10.1016/j.jep.2021.114617.

[责任编辑 张丰丰]