



安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

## 《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目： 基于网络药理学及体外实验探讨木兰花碱抵抗结肠癌的作用及其机制  
作者： 谭露露，朱丽娜，张书锦，王宇轩，李慧妹，王语柯，侯佳宜，封启龙，石建云  
收稿日期： 2026-02-20  
网络首发日期： 2026-04-13  
引用格式： 谭露露，朱丽娜，张书锦，王宇轩，李慧妹，王语柯，侯佳宜，封启龙，石建云. 基于网络药理学及体外实验探讨木兰花碱抵抗结肠癌的作用及其机制[J/OL]. 安徽医科大学学报.  
<https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20260413.1118.005>



**网络首发：**在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认：**纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

## 基于网络药理学及体外实验探讨木兰花碱抵抗结肠癌的作用及其机制

谭露露<sup>1\*</sup>, 朱丽娜<sup>2\*</sup>, 张书锦<sup>1</sup>, 王宇轩<sup>1</sup>, 李慧妹<sup>1</sup>, 王语柯<sup>3</sup>, 侯佳宜<sup>4</sup>, 封启龙<sup>1</sup>,  
石建云<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>山西医科大学细胞生理学教育部重点实验室, 山西省细胞生理学重点实验室, 山西医科大学基础医学院生理学系, 晋中 030600; <sup>2</sup>四川大学华西医院康复医学中心, 康复医学四川省重点实验室, 成都 610041; <sup>3</sup>暨南大学医学院, 广州 510632; <sup>4</sup>山西省中医药研究院检验科, 太原 040000)

**摘要** **目的** 基于网络药理学、分子对接及体外细胞实验探究木兰花碱抵抗结肠癌的功能及相关分子机制。**方法** 本研究通过 PubChem 数据库获取木兰花碱的标准 SMILES 号, 导入 Swiss Target Prediction 数据库预测木兰花碱的潜在作用靶点, 同时从 DisGeNET、GeneCards 和 OMIM 数据库获取结肠癌的疾病靶点, 将所筛选的木兰花碱作用靶点和结肠癌疾病靶点取交集, 并对交集靶点进行蛋白互作网络构建与分析 (PPI); 利用 DAVID 在线数据库对核心靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析; 采用 AutoDock 软件对筛选出的关键靶点的前 5 位与木兰花碱进行分子对接模拟; 最后在细胞水平开展 CCK-8 实验、EdU 实验、细胞划痕及 Transwell 等实验验证上述结果。**结果** 筛选得到木兰花碱抵抗结肠癌的关键靶点有 44 个, 分子对接结果显示木兰花碱与 PPI 网络排名前 5 位中的核心靶点信号转导与转录激活因子 3 (STAT3) 结合活性较强, 细胞实验证实木兰花碱可通过抑制 Janus 激酶 (JAK)/STAT3 信号通路抑制结肠癌细胞增殖与迁移。**结论** 木兰花碱可能通过调控 JAK/STAT3 信号通路抑制结肠癌细胞的增殖和迁移。

**关键词** 网络药理学; 分子对接; 木兰花碱; 结肠癌; JAK/STAT3 信号通路; 增殖与迁移

**中图分类号** R 282.71

---

2026-02-20 接收

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 82002063); 山西省青年科技研究基金项目 (编号: 201901D211316); 山西省博士启动基金项目 (编号: SD1809); 山西省中医药管理局科研课题项目 (编号: 2023ZYCY004)

作者简介: 谭露露, 女, 硕士研究生;

石建云, 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: shijianyun@sxmu.edu.cn

\*对本文具有同等贡献

文献标志码 A

## The mechanism of magnoflorine in inhibiting colon cancer based on network pharmacology and *in vitro* experiment

Tan Lulu<sup>1</sup>, Zhu Lina<sup>2</sup>, Zhang Shujin<sup>1</sup>, Wang Yuxuan<sup>1</sup>, Li Huimei<sup>1</sup>, Wang Yuke<sup>3</sup>, Hou Jiayi<sup>4</sup>,  
Feng Qilong<sup>1</sup>, Shi Jianyun<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Key Laboratory of Cell Physiology at Shanxi Medical University, Ministry of Education, Key Laboratory of Cell Physiology at Shanxi Province, Department of Physiology, Shanxi Medical University, Jinzhong 030600; <sup>2</sup>Rehabilitation Medicine Center, West China Hospital, Sichuan University, Key Laboratory of Rehabilitation Medicine in Sichuan Province, Chengdu 610041; <sup>3</sup>School of Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632; <sup>4</sup>Department of Clinical Laboratory, Shanxi Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 040000)

**Abstract Objective** To explore the function and related molecular mechanisms of magnoflorine against colon cancer *via* network pharmacology, molecular docking, and *in vitro* cell experiments.

**Methods** In this study, the canonical SMILES of magnoflorine was obtained from the PubChem database, and the potential targets of magnoflorine were predicted by the Swiss Target Prediction database, while the disease targets of colon cancer were obtained from the DisGeNET, GeneCards and OMIM databases. The intersecting targets between magnoflorine's predicted targets and colon cancer disease targets were taken, and a protein-protein interaction (PPI) network was constructed and analyzed. The DAVID online database was employed to conduct Gene Ontology (GO) and KEGG pathway enrichment analyses on core targets. The top five key targets screened were docked with magnoflorine using AutoDock software. Finally, cellular experiments including CCK-8 assays, EdU experiments, cell scratch assays, and Transwell assays were conducted to validate the results from network pharmacology and molecular docking. **Results** 44 key targets of magnoflorine in resisting colon cancer were acquired. The molecular docking results showed that magnoflorine had a strong binding activity with the core target signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) in the top five of the PPI network. Cellular experiments confirmed that magnoflorine could inhibit the proliferation and migration of colon cancer cells by suppressing the JAK/STAT3 signaling pathway. **Conclusion** Magnoflorine may inhibit the proliferation and migration of colon cancer cells by regulating the JAK/STAT3 signaling pathway.

**Key words** network pharmacology; molecular docking; magnoflorine; colon cancer; JAK/STAT3 signaling pathway; proliferation and migration

**Fund programs** National Natural Science Foundation of China (No. 82002063); Shanxi Provincial Science and Technology Foundation for Youths (No. 201901D211316); Shanxi Provincial Doctoral Start-up Fund Project (No. SD1809); Scientific Research Project of Shanxi Administration of Traditional Chinese Medicine (No. 2023ZYTC004)

**Corresponding author** Shi Jianyun, E-mail: shijianyun@sxmu.edu.cn

结肠癌是全球高发的恶性肿瘤之一，流行病学数据显示其患病率排名第三，致死率高居第二<sup>[1]</sup>。近年来，众多中药及中药单体化合物，如多糖、生物碱和类黄酮等都被证实具有显著的抗肿瘤作用<sup>[2]</sup>。

生物碱作为天然药物的重要类别之一，已被大量研究证实其对肿瘤有较好的治疗效果，如 Ishii et al<sup>[3]</sup>研究显示康奎宁对肿瘤相关成纤维细胞的活性有显著抑制作用；Zhang et al<sup>[4]</sup>研究报道称蝙蝠葛碱可通过内源性途径诱导肾癌细胞凋亡；长春新碱被证实可与微管蛋白纤维结合从而抑制微管聚合，最终抑制肿瘤细胞的有丝分裂<sup>[5]</sup>。木兰花碱 (magnoflorine, Mag) 作为生物碱的一类，广泛存在于小檗科、木兰科、罂粟科等多种药用植物中<sup>[6]</sup>，其药理作用被报道包含抗炎、抗氧化与免疫调节等<sup>[7]</sup>，然而截至目前木兰花碱在结肠癌中的功能与机制尚不完全清楚，亟待深入探讨。因此，该研究旨在系统探究木兰花碱对结肠癌细胞的抑制作用及潜在分子机制，丰富其药理活性认知，为结肠癌治疗策略的开发提供新思路与理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞

人结肠癌细胞系 SW620 和 HCT116 来源于上海生物科学研究所。

### 1.2 药物、试剂与仪器

木兰花碱 (纯度>98%) 购自上海阿拉丁公司；L-15 培养基、DMEM 培养基购自武汉博士德公司；CCK-8 试剂盒 (货号: C0038) 购自上海碧云天公司；结晶紫染液 (货号: G1062) 购自北京索莱宝公司；EdU 增殖试剂盒 (货号: C00003) 购自广州市锐博公司；Transwell 小室 (货号: 14341) 购自北京兰杰柯公司；抗体增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9)、细胞癌基因 Myc (cellular myelocytomatosis oncogene, c-Myc) (货号: SC-56、SC-13520、SC-40) 购自美国 Santa 公司；

抗体细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1) (货号: WL01435a) 购自沈阳万类公司, 抗体信号转导及转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、磷酸化 STAT3 (phospho-STAT3, p-STAT3)、上皮钙黏蛋白 (epithelial cadherin, E-cadherin)、锌指转录因子 Slug (Slug)、波形蛋白 (Vimentin) (货号: 9139T、9131S、3195T、9585T、5741T) 购自美国 CST 公司。酶标仪 (美国 Spectra-Physics 公司, 型号: SpectraMax i3x), 荧光倒置显微镜 (日本 Olympus 公司, 型号: IX73), 低温高速离心机 (德国 Eppendorf 公司, 型号: 5804R)

### 1.3 木兰花碱的作用靶点预测

通过 Pubchem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取木兰花碱的 SMILES 号, 导入 Swiss Target Prediction 药物靶点预测网站 (<https://swisstargetprediction.ch/>), 分析木兰花碱可能的作用靶点。

### 1.4 结肠癌疾病靶点基因的获取

通过整合多个生物信息学数据库, 系统筛选了结肠癌的潜在作用靶点。分别检索了 GeneCard (<https://genecards.org/>)、OMIM (<https://www.omim.org/>) 以及 DisGeNET (<https://www.disgenet.com/>) 三大数据库, 从中获取与结肠癌发生发展相关的潜在靶点并进行整合, 剔除其中存在的重复条目即得到结肠癌疾病靶点数据集。

### 1.5 “药物-疾病”共同靶点网络的构建

采用 Venny 2.1.0 在线工具 (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>) 对木兰花碱的作用靶点与结肠癌相关疾病靶点进行系统性的交集分析, 旨在识别出二者共同作用的关键靶标。随后将筛选的共同靶点导入 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>), 构建蛋白-蛋白网络互作 (protein-protein interaction, PPI) 网络模型, 以揭示这些靶点的潜在关系。为进一步提升网络结构的可视化效果, 利用 Cytoscape 3.10.2 软件对 PPI 网络进行可视化处理与图形优化。

### 1.6 KEGG 和 GO 富集分析

将木兰花碱作用靶点与结肠癌疾病靶点的共同靶点导入 DAVID 分析平台 (<https://david.ncifcrf.gov/>), 采用超几何分布检验,  $P < 0.05$  作为统计学标准, 利用微生物在线分析平台 (<http://www.bioinformatics.com.cn/>) 对共同靶点进行 KEGG 通路与 GO 功能富集分析, 并进行可视化处理。

### 1.7 分子对接

首先, 从蛋白质结构数据库 RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>) 中, 筛选并下载目标靶

点蛋白的最适三维结构文件（PDB 格式）。并从 PubChem 化学数据库（<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>）中获取木兰花碱的二维化学结构信息。随后采用 AutoDock 3.10.2 分子对接软件，对目标靶点蛋白与木兰花碱进行分子对接模拟，以探究二者间的相互作用模式及结合亲和力，并利用 PyMOL 分子可视化软件对靶点-药物复合物的三维空间构象进行立体可视化分析与展示，进一步将对接结果导入 LigPlus，生成详细的二维相互作用平面图，以直观呈现氢键、疏水作用等关键结合特征。

### 1.8 CCK-8 实验

以每孔  $1 \times 10^4$  个细胞的密度将结肠癌细胞系 HCT116 与 SW620 接种于 96 孔板中，待细胞贴壁后分别加入不同浓度（0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.16、0.32、0.64、0.80 mmol/L）梯度的木兰花碱处理，随后参照试剂盒说明书进行细胞活性检测，弃去原有培养基，每孔更换为 100  $\mu$ L 预先配制好的含 10% CCK-8 试剂的完全培养基，于培养箱中避光孵育 1 h，随后在 450 nm 波长下测定吸光度值。

### 1.9 细胞克隆形成实验

于 6 孔板中以 500 个/孔的密度接种细胞，随后于培养箱中连续培养 14 d，以确保单个细胞充分增殖并形成克隆。用 PBS 冲洗多余的细胞碎片，用 4% 多聚甲醛固定 40 min 随后用 0.1% 结晶紫溶液染色 40 min，PBS 洗涤 3 次，待干燥后进行计数并拍照记录。

### 1.10 EdU 增殖测定

将细胞以每孔  $4 \times 10^3$  个的密度接种于 24 孔板中培养 24 h，参照试剂说明书方法，将细胞与 50  $\mu$ mol/L EdU 在 37 °C 条件下共孵育 2 h。随后，使用 4% 多聚甲醛溶液于室温固定细胞 30 min。去除固定液后，加入 2 mg/mL 甘氨酸溶液以中和残留的醛基。接着 PBS 洗涤细胞 3 次，每次 5 min。洗涤步骤完成后，向每孔中加入适量渗透剂（含 0.5% Triton X-100 的 PBS），室温孵育 10 min 后将孔内渗透剂弃去，随后向各孔中加入 Apollo 染色反应液，于室温条件下处理细胞 30 min，处理结束后以渗透剂清洗 2~3 次。细胞核染色采用 Hoechst 33342，染色 30 min。最后，每孔加入 PBS 并于 4 °C 条件下保存，等待后续检测。

### 1.11 细胞划痕试验

在 6 孔板中培养细胞，待细胞分布均匀且密度达到约 95% 后使用无菌枪头尖端垂直划下单一线条，用 PBS 洗涤去除细胞碎片并将细胞置于无血清培养基中，在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养，使用显微镜在划痕后不同时间点观察和拍摄图像。

### 1.12 Transwell 检测

将 Transwell 上室接种含  $1 \times 10^5$  个细胞的无血清均匀悬液，下室加入 600  $\mu\text{L}$  含 20% 血清的完全培养基作为趋化剂，随后置于  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中孵育 48 h。迁移结束后，用 PBS 洗涤 2 次，依次经 4% 多聚甲醛固定 40 min 和 0.1% 结晶紫染色 30 min，最后于显微镜下观察并拍摄图像来统计细胞迁移数量进行分析。

### 1.13 Western blot

收集的细胞用 PBS 洗涤后，采用 RIPA 蛋白裂解缓冲液进行裂解，裂解液经离心（12 000 r/min）取上清液，测定蛋白浓度后制样备用，SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳对蛋白质样品进行分离，通过湿转将凝胶中分离的蛋白质条带转印至 PVDF 膜上，然后用 5% 脱脂牛奶室温条件下封闭 1 h，封闭完成后将膜在  $4^\circ\text{C}$  条件下与相应一抗 Slug（1 : 1 000）、Vimentin（1 : 1 000）、E-cadherin（1 : 1 000）、MMP9（1 : 1 000）、c-Myc（1 : 1 000）、PCNA（1 : 1 000）、Cyclin D1（1 : 1 000）、p-STAT3（1 : 1 000）、STAT3（1 : 1 000）和 Tubulin（1 : 5 000）孵育过夜，其中 EMT 相关蛋白包括 E-cadherin、Slug 和 Vimentin。次日用 TBST 洗涤 3 次后，将 PVDF 膜与相应二抗（羊抗兔和羊抗鼠辣根过氧化物酶标记的 IgG 二抗，1 : 4 000）在室温条件下孵育 1 h，最后将膜与 ECL 底物反应液均匀接触后进行显影。

### 1.14 统计学处理

使用 GraphPad Prism 10 软件进行统计分析，每个实验独立重复 3 次，两组间差异采用独立样本  $t$  检验分析，多组间比较采用单因素方差分析，事后两两比较采用 Dunnett- $t$  检验， $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 木兰花碱与结肠癌的共同靶点筛选及 PPI 网络构建

首先，通过 TCMSP 数据库获取木兰花碱的结构式（图 1A），利用 Swiss Target Prediction 数据库筛选获得木兰花碱潜在作用靶点 108 个；在 DisGeNET 数据库筛选出结肠癌相关靶点 31 个，在 OMIM 数据库中筛选得到结肠癌相关靶点 505 个，Genecards 数据库筛选得到结肠癌相关靶点 2 000 个，将这三个数据库的靶点合并并删除重复靶点后共得到 2 355 个疾病相关靶点。将上述的 108 个木兰花碱的作用靶点与 2 355 个结肠癌相关靶点输入 Venny 2.1.0 软件分析得到 44 个交集靶点，即为木兰花碱调控结肠癌的潜在靶点（图 1B）。将上述的 44 个交集靶点导入到 String 数据库即获得木兰花碱-结肠癌共同靶点的 PPI 图（图 1C），并导入 Cytoscape 3.10.2 软件将其可视化，利用 Degree 值由大到小排列筛选与木兰花碱互作

的核心靶点，得到 PPI 网络图同心圆结构（图 1D），排名前五的靶点依次是 STAT3、表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor, EGFR）、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3（cysteiny aspartate specific protease 3, CASP3）、MMP9 和肉瘤基因酪氨酸蛋白激酶（SRC proto-oncogene, non-receptor tyrosine kinase, SRC），见表 1。

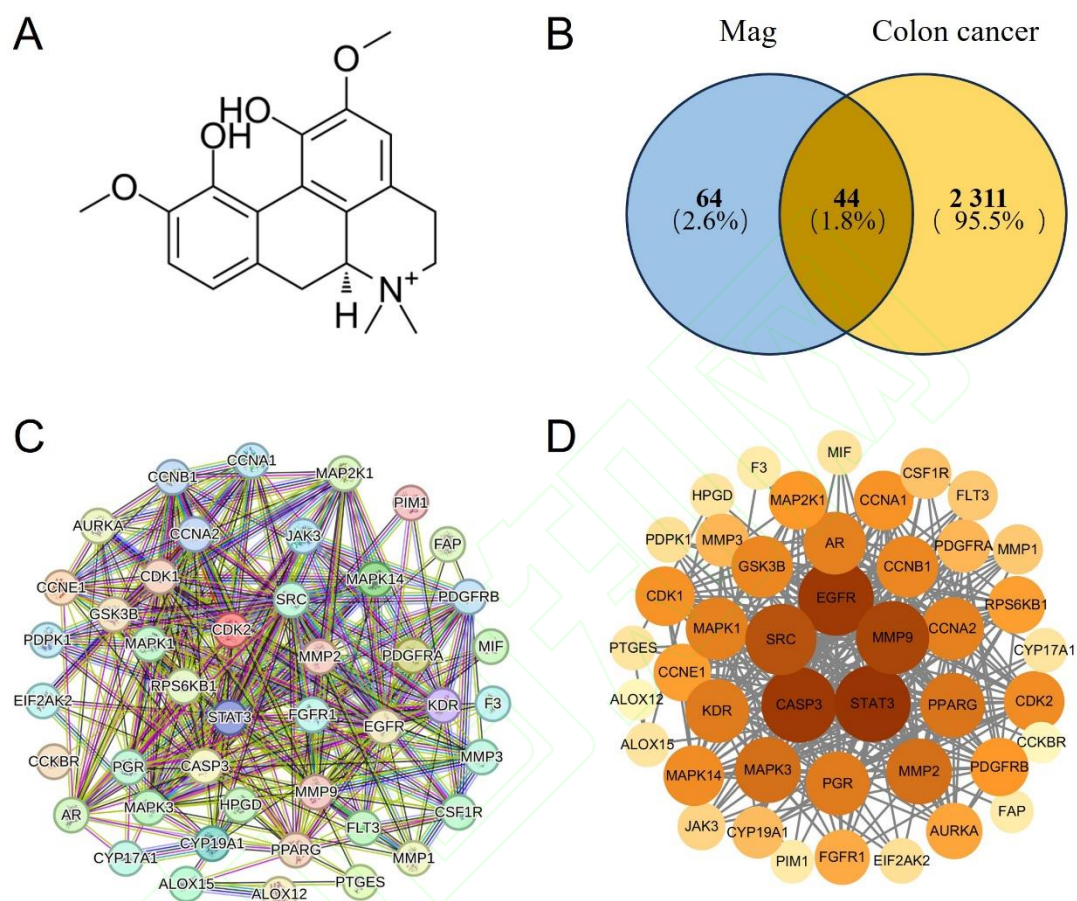


图 1 木兰花碱-结肠癌共同靶点网络构建

Fig. 1 Network construction of common targets for magnoflorine-colon cancer

A: Chemical structure of magnoflorine; B: Venny diagram of magnoflorine targets and colon cancer-related targets; C: PPI network of common targets of magnoflorine and colon cancer; D: Visualization of the PPI network of common targets of magnoflorine and colon cancer.

表 1 PPI 网络中 Degree 值排名前 5 位的核心靶点

Tab.1 Top 5 targets in terms of degree value in the PPI network

Name	Degree	Closeness	Betweenness
STAT3	34	0.811320755	0.077474049
EGFR	33	0.796296296	0.078729484
CASP3	33	0.796296296	0.061883601
MMP9	31	0.767857143	0.077066214
SRC	29	0.74137931	0.079441998

## 2.2 GO 功能分析和 KEGG 通路分析

为了探究木兰花碱抵抗结肠癌的潜在机制，将 Venny 分析得到的 44 个交集靶点输入至 DAVID 数据库进行分析。GO 功能富集结果显示，木兰花碱抵抗结肠癌的生物学过程（biological process, BP）主要集中在磷酸化、细胞增殖、细胞迁移和激酶活性调节等；分子功能（molecular function, MF）主要集中在 ATP 结合和血管内皮生长因子结合等方面；细胞成分（cellular component, CC）则主要包含有胞浆、细胞质、细胞核、细胞质膜等（图 2A）。KEGG 富集分析结果显示，木兰花碱抵抗结肠癌主要涉及 Janus 激酶-信号转导和转录激活因子通路（janus kinase-signal transducer-activator of transcription pathway, JAK-STAT），腺苷酸活化蛋白激酶通路[adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase, AMPK] 以及 B 细胞受体信号通路等（图 2B）。

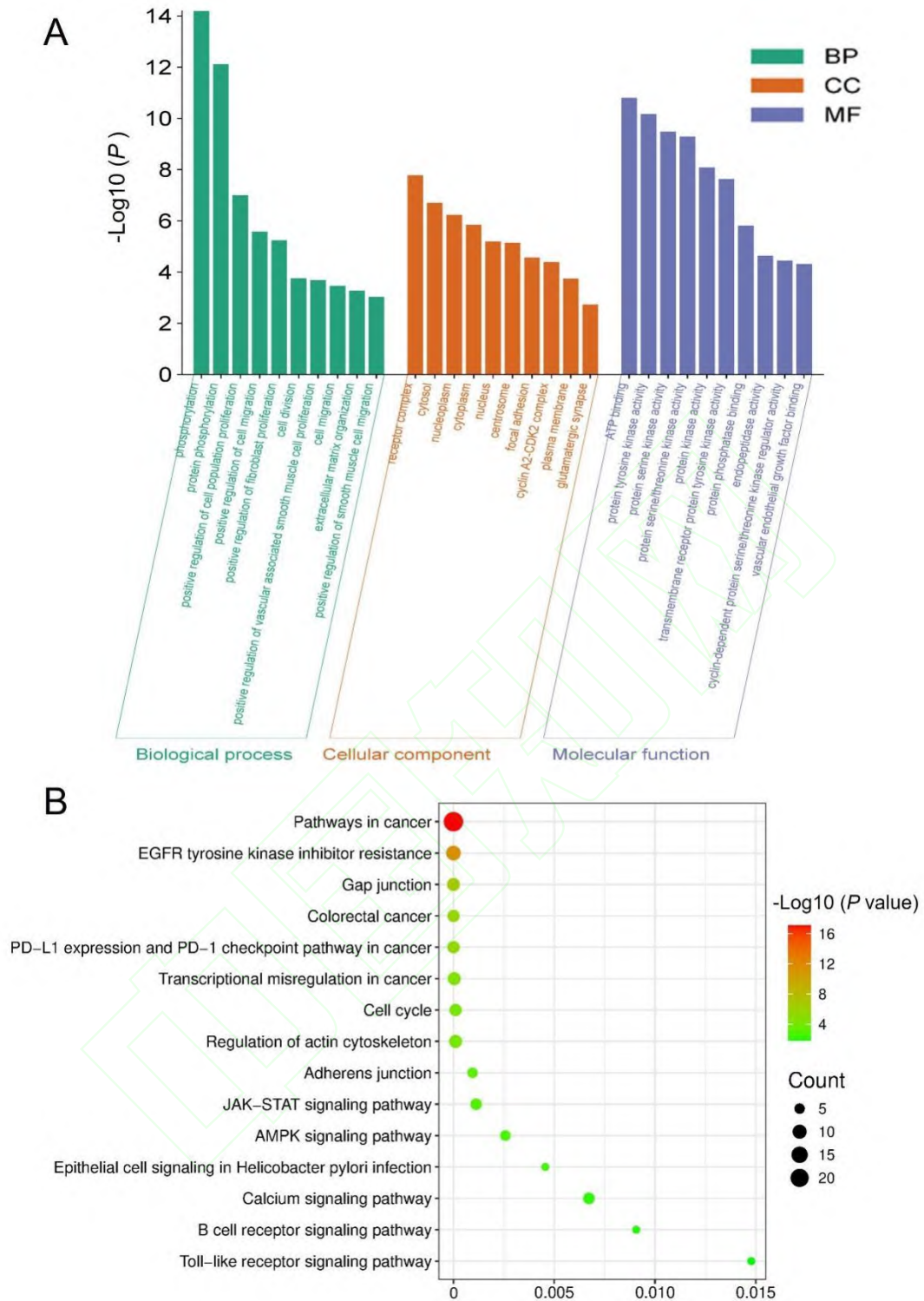


图 2 木兰花碱-结肠癌共同靶点的 GO 功能和 KEGG 富集分析

Fig.2 GO functional and KEGG enrichment analysis of common targets for magnoflorine-colon cancer

A: GO functional analysis results of common targets of magnoflorine and colon cancer; the top ten items in each branch of BP, CC and MF; B: KEGG enrichment analysis results of common targets of magnoflorine and colon cancer; the top fifteen signaling pathways were shown.

### 2.3 分子对接

为了评估木兰花碱-结肠癌共同靶点 PPI 网络中排名靠前的核心靶点与木兰花碱的结合活性，将木兰花碱和 PPI 网络中按 Degree 值由大到小排名前 5 位的靶点 STAT3、EGFR、CASP3、MMP9 和 SRC 分别进行分子对接，木兰花碱与各靶点的结合度可以通过结合能的高低预判，结合能越低预示着木兰花碱与靶点之间的结合越稳定。分子对接结果显示，木兰花碱与 STAT3、MMP9、EGFR、CASP3 和 SRC 的结合能依次为-8.50 kcal/mol、-9.56 kcal/mol、-6.39 kcal/mol、-5.84 kcal/mol 和-6.13 kcal/mol。随后利用 PyMOL 软件将以上分子对接结果分别进行可视化，并使用 Ligplus 软件获取相应对接结果的平面 2D 图（图 3）。

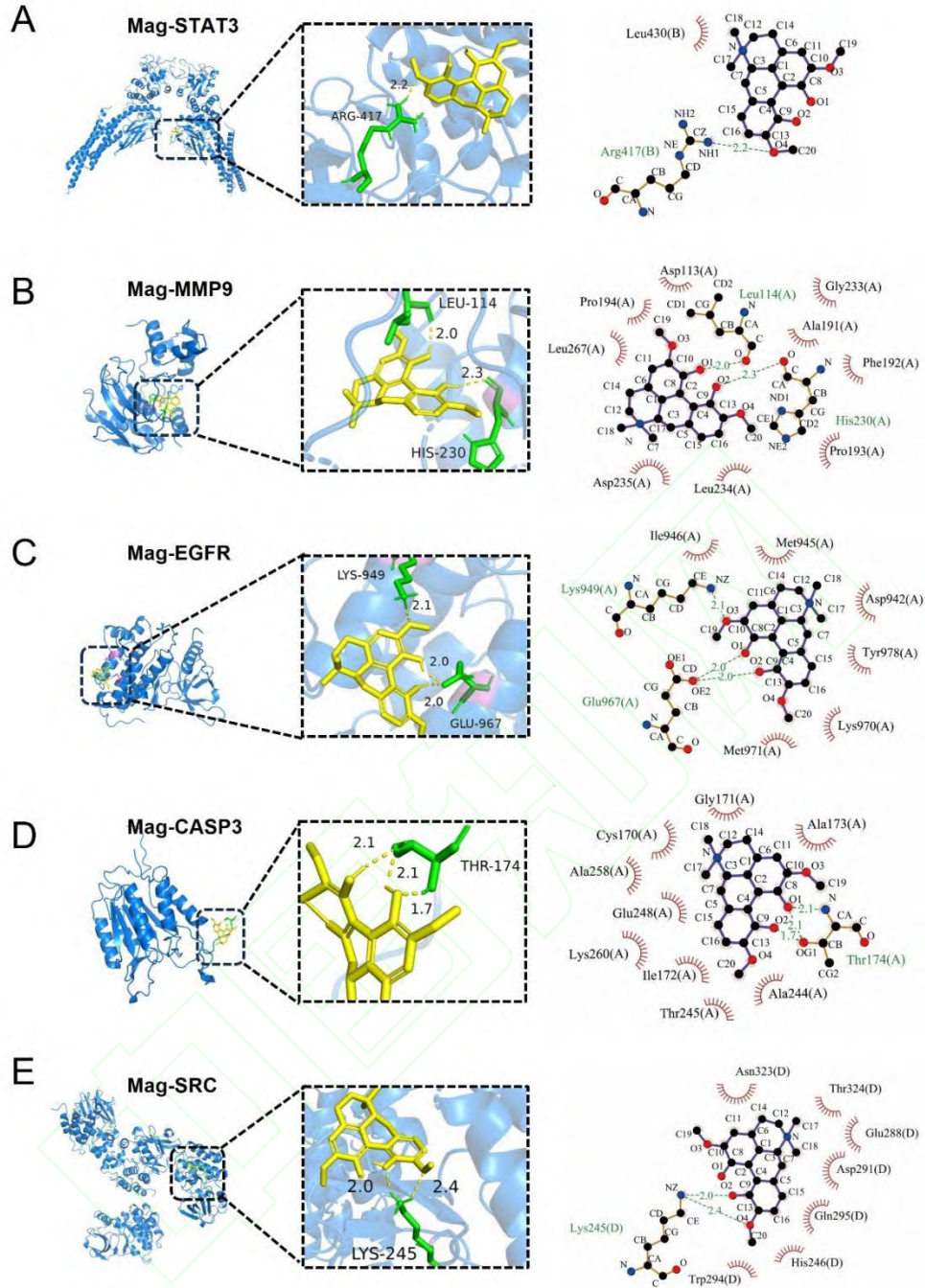


图3 木兰花碱-结肠癌共同核心靶点的分子对接可视化结果

**Fig.3 Visualization of molecular docking results for magnoflorine and common core targets in colon cancer**

A-E: 3D and 2D Representations of molecular docking of magnoflorine with STAT3, MMP9, EGFR, CASP3 and SRC; Mag: magnoflorine.

#### 2.4 木兰花碱对结肠癌细胞活力及细胞增殖的影响

为了评估木兰花碱对结肠癌细胞增殖的影响，分别以不同浓度的木兰花碱处理 HCT116 和 SW620 两种结肠癌细胞，随后通过 CCK-8 实验对木兰花碱处理不同时间（24、48 和 72 h）后的结肠癌细胞的细胞活力进行检测，结果显示随木兰花碱药物浓度升高，HCT116 和 SW620 两种结肠癌细胞的细胞活力均显著下降（趋势性方差检验： $F_{24\text{h}} = 150.200$ 、 $60.790$ ， $F_{48\text{h}} = 299.200$ 、 $202.100$ ， $F_{72\text{h}} = 856.700$ 、 $1\ 661.000$ ，均  $P < 0.05$ ）（图 4A），结合 CCK-8 实验结果，本研究选择采用  $0.80\ \text{mmol/L}$  的木兰花碱进行后续实验。细胞克隆形成实验结果显示，木兰花碱处理组 HCT116 和 SW620 细胞克隆数量与对照空白处理组相比明显减少（ $t = 13.290$ 、 $5.462$ ，均  $P < 0.01$ ）（图 4B）；EdU 实验结果显示木兰花碱处理组与对照空白处理组相比细胞增殖能力明显下降（ $t = 9.475$ 、 $23.280$ ，均  $P < 0.001$ ）（图 4C）。Western blot 检测结果显示木兰花碱处理组与对照空白处理组相比细胞增殖相关分子 c-Myc、Cyclin D1 和 PCNA 的蛋白表达水平降低（ $t_{\text{c-Myc}} = 7.295$ 、 $15.340$ ， $t_{\text{Cyclin D1}} = 24.010$ 、 $8.898$ ， $t_{\text{PCNA}} = 15.370$ 、 $10.300$ ，均  $P < 0.01$ ）（图 4D）。上述结果表明木兰花碱可以显著抑制结肠癌细胞的增殖。

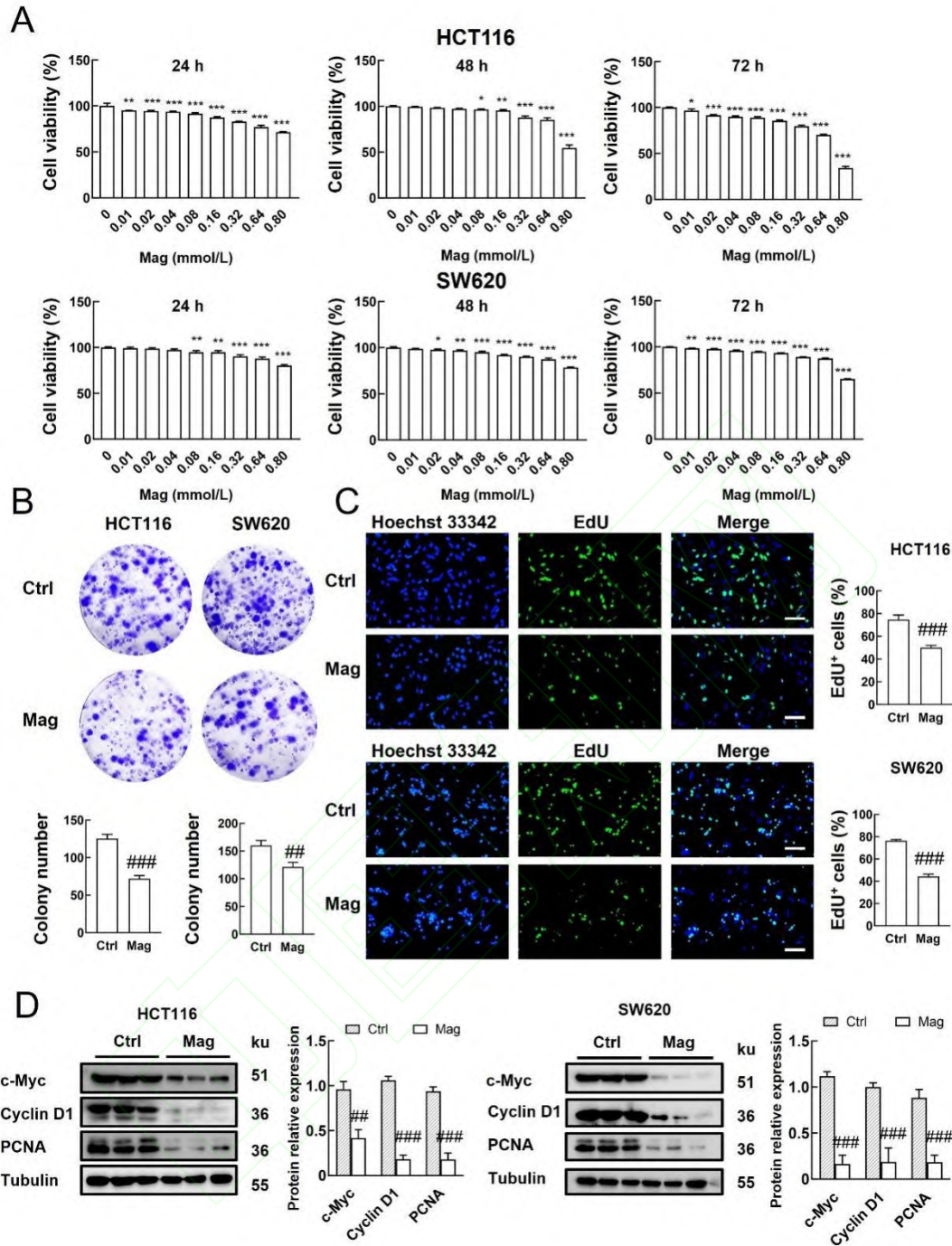


图 4 木兰花碱对结肠癌细胞活力及细胞增殖的影响 ( $n = 3$ )

**Fig. 4** The effects of magnoflorine on viability and proliferation of colon cancer cells ( $n = 3$ )

A: CCK-8 assay was used to examine the cell viability of HCT116 and SW620 colon cells treated with different concentrations of magnoflorine after 24, 48, or 72 hours; B: Colony formation assay was conducted to evaluate the colony formation ability in HCT116 and SW620 colon cells treated with magnoflorine or negative control; C: EdU assay was performed to detect the proliferation of

HCT116 and SW620 colon cells treated with magnoflorine or negative control  $\times 200$ ; D: Western blot was performed to detect the expression of c-Myc, Cyclin D1, and PCNA in HCT116 and SW620 colon cells treated with magnoflorine or negative control; Mag: magnoflorine; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs 0 mmol/L group; ## $P < 0.01$ , ### $P < 0.001$  vs Ctrl group.

## 2.5 木兰花碱对结肠癌细胞迁移的影响

细胞划痕实验结果显示,与对照组相比,木兰花碱显著降低了两种结肠癌细胞的细胞迁移能力 ( $t_{48h} = 8.586$ 、 $3.486$ ,  $t_{72h} = 25.69$ 、 $10.54$ , 均  $P < 0.05$ ) (图 5A)。Transwell 实验结果同样显示,与对照组相比,木兰花碱处理后显著抑制了结肠癌细胞的迁移 ( $t = 11.61$ 、 $23.84$ , 均  $P < 0.001$ ) (图 5B)。为了评估木兰花碱对结肠癌细胞迁移运动的影响,本研究通过 Western blot 实验检测了 EMT 相关蛋白 E-cadherin、Slug、Vimentin 以及基质金属蛋白 MMP9 的表达情况,实验结果显示,相较于对照空白处理组,木兰花碱处理组结肠癌细胞 EMT 相关标志物 (Slug、Vimentin、MMP9) 的蛋白表达显著下调 ( $t_{\text{Slug}} = 14.330$ 、 $9.542$ ,  $t_{\text{Vimentin}} = 4.727$ 、 $4.969$ ,  $t_{\text{MMP9}} = 3.177$ 、 $9.658$ , 均  $P < 0.05$ ), 而上皮标志物 E-cadherin 的表达则显著上调 ( $t = 6.226$ 、 $7.413$ , 均  $P < 0.01$ ) (图 5C)。以上研究结果表明木兰花碱可显著抑制结肠癌细胞的迁移。

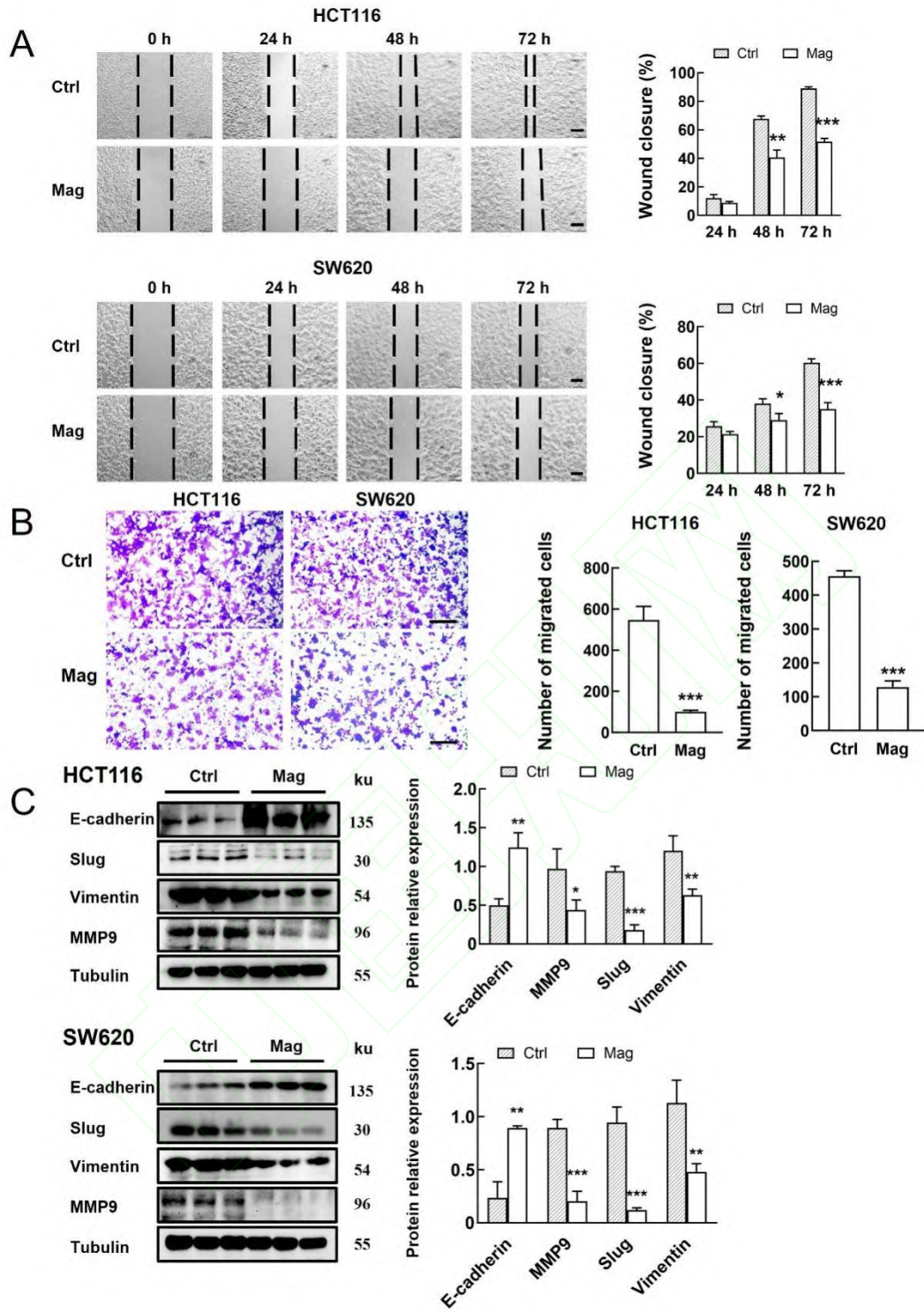


图 5 木兰花碱对结肠癌细胞迁移运动能力的影响 ( $n = 3$ )

Fig.5 The effects of magnoflorine on the migration ability of colon cells ( $n = 3$ )

A: Cell scratch assay was used to evaluate the migration ability of HCT116 and SW620 colon cells treated with magnoflorine or negative control  $\times 40$ ; B: Transwell assay was used to evaluate the

migration ability of HCT116 and SW620 colon cells treated with magnoflorine or negative control  $\times 100$ ; C: Western blot was performed to detect the expression of E-cadherin, MMP9, Vimentin, and Slug in HCT116 and SW620 colon cells treated with magnoflorine or negative control; Mag: magnoflorine; \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  vs Ctrl group.

## 2.6 木兰花碱可通过抑制 JAK-STAT3 信号通路抵抗结肠癌

为了探究木兰花碱抵抗结肠癌的相关机制,KEGG 富集分析结果初步显示 JAK-STAT 信号通路可能是木兰花碱抵抗结肠癌的关键信号通路之一,因此本研究进一步在结肠癌细胞 HCT116 和 SW620 中验证木兰花碱对 JAK-STAT 信号通路关键蛋白的影响。Western blot 检测结果显示,与对照空白处理组相比,木兰花碱处理组结肠癌细胞中 p-STAT3 蛋白表达水平显著降低 ( $t = 7.455$ 、 $5.406$ , 均  $P < 0.01$ ) (图 6),这表明木兰花碱通过一定程度抑制 JAK-STAT3 信号通路在结肠癌中发挥功能。

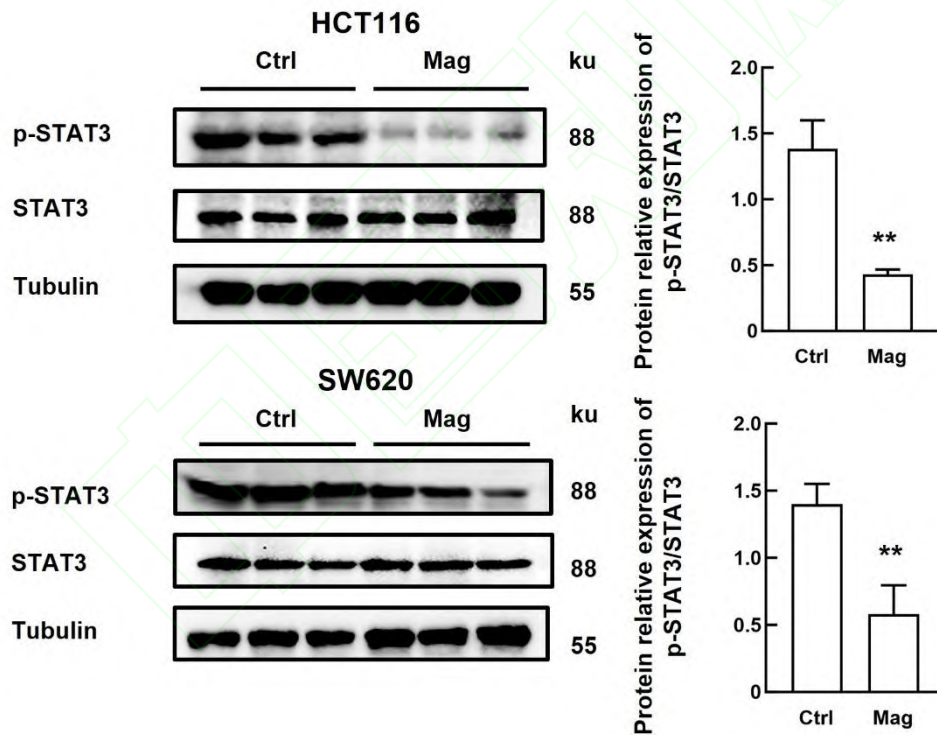


图 6 木兰花碱对 JAK-STAT3 信号通路的影响 ( $n = 3$ )

Fig.6 The effects of magnoflorine on the JAK-STAT3 signaling pathway ( $n = 3$ )

Mag: magnoflorine; \*\* $P < 0.01$  vs Ctrl group.

## 3 讨论

结肠癌是一种高病死率的全球性疾病,其发病率和病死率呈急剧上升的趋势<sup>[8]</sup>。植物天

然提取物生物碱在调节肿瘤发生发展方面显示出重要作用<sup>[9]</sup>，木兰花碱作为重要的生物碱之一，已被报道可以协同阿霉素抑制乳腺癌细胞的迁移和侵袭<sup>[10]</sup>；此外木兰花碱还被证实以剂量依赖性方式抑制骨肉瘤细胞的活力、侵袭和 EMT，进而提高了骨肉瘤细胞对顺铂的药物敏感性<sup>[11]</sup>。关于木兰花碱在结肠癌中的作用及机制尚不完全清楚，本研究结合网络药理学及细胞实验探究木兰花碱在结肠癌中的作用及相关机制。

通过网络药理学初步分析发现木兰花碱与核心靶点 STAT3、MMP9 结合较稳定，同时 KEGG 富集分析筛选得到 JAK-STAT 信号通路可能是木兰花碱抵抗结肠癌的关键信号通路之一。本研究进一步通过细胞实验验证木兰花碱抵抗结肠癌的靶点和作用机制，发现木兰花碱可以显著抑制结肠癌细胞活力以及抑制增殖情况，Western blot 实验结果显示木兰花碱显著抑制结肠癌细胞中增殖相关蛋白 c-Myc、Cyclin D1 和 PCNA 的表达，这些均表明木兰花碱对结肠癌细胞的增殖具有抑制作用。肿瘤细胞的迁移能力是其恶性表型的重要体现，EMT 在赋予肿瘤细胞迁移与侵袭能力中起到关键作用，因此，靶向干预 EMT 已成为阻断肿瘤转移的重要策略。Slug 作为 EMT 的核心转录因子通过抑制上皮标志物 E-cadherin 的转录，从而使细胞间黏附受到破坏并诱导间充质标志物 Vimentin 表达进而使细胞骨架重组，最终导致肿瘤细胞迁移和侵袭能力增强<sup>[12]</sup>。此外，基质金属蛋白酶 MMP9 也是 EMT 中促进肿瘤细胞迁移的关键因子。既往研究<sup>[13]</sup>证明蛋白磷酸酶 5 催化亚基（protein phosphatase 5 catalytic subunit, PPP5C）可通过正向调控 MMP9 促进肺腺癌 H1299 细胞的迁移，此外亦有研究<sup>[14]</sup>表明 hsa\_circ\_0009128 通过靶向 MMP9 激活 EMT 过程进而刺激口腔鳞癌细胞的增殖和迁移，本研究网络药理学分析结果发现木兰花碱与 MMP9 具有较高的结合活性，这就提示 MMP9 可能是木兰花碱发挥生物学效应的另一潜在重要靶点。同时本研究细胞划痕实验、Transwell 实验均证实木兰花碱显著抑制了结肠癌细胞的迁移能力，Western blot 实验结果显示木兰花碱显著抑制 Slug、Vimentin 和 MMP9 蛋白的表达，而上皮细胞标志物 E-cadherin 的蛋白表达水平在木兰花碱处理组结肠癌细胞中显著升高，提示木兰花碱可通过抑制结肠癌细胞的迁移运动从而抑制结肠癌细胞的恶性行为。

JAK-STAT 信号通路的持续激活可驱动一系列生理和病理过程，包括参与肿瘤细胞代谢、调节炎症反应和加速恶性肿瘤进展等<sup>[15-16]</sup>。STAT3 的过度激活几乎存在于所有癌症类型中，包括胰腺癌、乳腺癌、结直肠癌等<sup>[17-19]</sup>。此外，STAT3 作为 EMT 的关键上游调控因子，可通过激活 EMT 过程显著促进肿瘤进展，因此靶向干预 STAT3 能够有效调节 EMT 相关分子的表达从而抑制肿瘤细胞的迁移<sup>[20]</sup>。本研究通过 Western blot 实验，表明木兰花碱可以抑制

结肠癌细胞中 p-STAT3 的表达, 由此可知木兰花碱对结肠癌细胞增殖与迁移的抑制作用, 可能与其一定程度抑制 JAK-STAT3 信号通路的激活有关。本研究现阶段通过“网络药理学-分子对接-体外细胞实验”初步探究木兰花碱抵抗结肠癌的作用及潜在靶点, 未来将进一步开展木兰花碱抵抗结肠癌相关的体内动物实验, 深入探究木兰花碱在复杂肿瘤微环境中抗癌作用及相关分子机制。

### 参考文献

- [1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-63. doi:10.3322/caac.21834.
- [2] 黄嘉恩, 梁冠仪, 何鉴洪, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨番连化浊颗粒治疗溃疡性结肠炎作用机制[J]. *新中医*, 2025, 57(2): 154-65. doi:10.13457/j.cnki.jncm.2025.02.029.
- Huang J E, Liang G Y, He J H, et al. Exploration on action mechanism of fanlian Huazhuo Granules for ulcerative colitis based on network pharmacology and molecular docking[J]. *New Chin Med*, 2025, 57(2): 154-65. doi:10.13457/j.cnki.jncm.2025.02.029.
- [3] Ishii N, Araki K, Yokobori T, et al. Conophylline suppresses pancreatic cancer desmoplasia and cancer-promoting cytokines produced by cancer-associated fibroblasts[J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(1): 334-44. doi:10.1111/cas.13847.
- [4] Zhang S, Ren Y, Qiu J. Dauricine inhibits viability and induces cell cycle arrest and apoptosis *via* inhibiting the PI3K/Akt signaling pathway in renal cell carcinoma cells[J]. *Mol Med Report*, 2018,17(5):7403-8. doi:10.3892/mmr.2018.8732.
- [5] Shukla R, Singh A, Singh K K. Vincristine-based nanoformulations: a preclinical and clinical studies overview[J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2024, 14(1): 1-16. doi:10.1007/s13346-023-01389-6.
- [6] Okon E, Kukula-Koch W, Jarzab A, et al. Advances in chemistry and bioactivity of magnoflorine and magnoflorine-containing extracts[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(4): 1330. doi:10.3390/ijms21041330.
- [7] Shen Y, Fan X, Qu Y, et al. Magnoflorine attenuates inflammatory responses in RA by regulating the PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B and Keap1-Nrf2/HO-1 signalling pathways *in vivo* and *in vitro*[J]. *Phytomedicine*, 2022, 104: 154339. doi:10.1016/j.phymed.2022.154339.
- [8] Xia C, Dong X, Li H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: profiles, trends,

and determinants[J]. Chin Med J, 2022, 135(5): 584-90. doi:10.1097/cm9.0000000000002108.

[9] Khan H, Alam W, Alsharif K F, et al. Alkaloids and colon cancer: molecular mechanisms and therapeutic implications for cell cycle arrest[J]. Molecules, 2022, 27(3): 920. doi:10.3390/molecules27030920.

[10] Tian W, Xie X J, Cao P. Magnoflorine improves sensitivity to doxorubicin (DOX) of breast cancer cells *via* inducing apoptosis and autophagy through AKT/mTOR and p38 signaling pathways[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 121: 109139. doi:10.1016/j.biopha.2019.109139.

[11] Wang Y, Shang G, Wang W, et al. Magnoflorine inhibits the malignant phenotypes and increases cisplatin sensitivity of osteosarcoma cells *via* regulating miR-410-3p/HMGB1/NF- $\kappa$ B pathway[J]. Life Sci, 2020, 256: 117967. doi:10.1016/j.lfs.2020.117967.

[12] Huang Y, Hong W, Wei X. The molecular mechanisms and therapeutic strategies of EMT in tumor progression and metastasis[J]. J Hematol Oncol, 2022, 15(1): 129. doi:10.1186/s13045-022-01347-8.

[13] 曾莉莉, 陈微微, 马向瑞, 等. PPP5C 对人肺腺癌 H1299 细胞迁移侵袭及肿瘤干性的影响及机制研究[J]. 安徽医科大学学报, 2023, 58(1): 94-100. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.01.016.

Zeng L L, Chen W W, Ma X R, et al. The effect and mechanism of PPP5C on the migration and invasion and tumor stemness of human lung adenocarcinoma H1299 cells[J]. Acta Univ Med Anhui, 2023, 58(1): 94-100. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.01.016.

[14] Zhang H, Wang Z, Zhang Z. Hsa\_circ\_0009128 mediates progression of oral squamous cell carcinoma by influencing MMP9[J]. Oral Dis, 2023, 29(2): 661-71. doi:10.1111/odi.14019.

[15] Zhong S, Tong J. The essential link: how STAT3 connects tumor metabolism to immunity[J]. Biochim Biophys Acta BBA Gene Regul Mech, 2024, 1867(2): 195028. doi:10.1016/j.bbagr.2024.195028.

[16] Xue C, Yao Q, Gu X, et al. Evolving cognition of the JAK-STAT signaling pathway: autoimmune disorders and cancer[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8: 204. doi:10.1038/s41392-023-01468-7.

[17] Zhang W, Gong M, Zhang W, et al. Thiostrepton induces ferroptosis in pancreatic cancer cells through STAT3/GPX4 signalling[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(7): 630. doi:10.1038/s41419-022-

05082-3.

[18] Chen Q, Hu Q, Chen Y, et al. PRMT6 methylation of STAT3 regulates tumor metastasis in breast cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14: 655. doi:10.1038/s41419-023-06148-6.

[19] Sun Y, Gong W, Zhang S. METTL3 promotes colorectal cancer progression through activating JAK1/STAT3 signaling pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14: 765. doi:10.1038/s41419-023-06287-w.

[20] 马贝贝, 程联钰, 张忠伟, 等. 澳洲茄碱调控 STAT3 信号通路对肺腺癌细胞生物学行为的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2025, 60(7): 1187-93. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.07.004.

Ma B B, Cheng L Y, Zhang Z W, et al. Solasonine regulate the effect of STAT3 signaling pathway on biological behavior of lung adenocarcinoma cells[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2025, 60(7): 1187-93. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.07.004.