

## 黄芩苷镁诱导三阴性乳腺癌细胞铁死亡的作用研究

孙雨<sup>1</sup>, 唐熙峻<sup>1</sup>, 田 烨<sup>1</sup>, 赵 爽<sup>2</sup>, 肖丽君<sup>1\*</sup>

(1. 承德医学院基础医学院, 河北 承德 067000; 2. 承德医学院附属医院中心实验室, 河北 承德 067000)

**摘要:** **目的** 结合网络药理学与分子对接技术筛选黄芩苷镁诱导三阴性乳腺癌(TNBC)细胞铁死亡的潜在作用靶点,并探讨其可能的作用机制。**方法** 通过CTD、HERB、GeneCards、OMIM及FerrDb数据库筛选黄芩苷镁、TNBC及铁死亡相关靶点,采用Venny获取三者交集基因,结合STRING、Cytoscape进行PPI网络分析,并开展GO/KEGG富集及分子对接分析,筛选黄芩苷镁诱导TNBC细胞铁死亡的潜在关键靶点。以不同浓度黄芩苷镁(50、100、200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )处理TNBC细胞MDA-MB-231,检测细胞活力,以及细胞内还原型谷胱甘肽(GSH)、 $\text{Fe}^{2+}$ 、脂质过氧化物和活性氧(ROS)含量/水平,并检测铁死亡相关蛋白表达。**结果** 网络药理学分析获得57个黄芩苷镁-TNBC共同作用靶点,与铁死亡相关基因进一步交集获得21个候选靶点。PPI网络及拓扑分析筛选出关键靶点,包括Kelch样ECH关联蛋白1(KEAP1, Keap1)、核因子E2相关因子2(NFE2L2, Nrf2)以及血红素加氧酶-1(HMOX1, HO-1)等铁死亡调控相关基因。分子对接结果显示,黄芩苷镁与Keap1、Nrf2及HO-1具有一定结合能力。体外实验发现,3个浓度的黄芩苷镁均可降低MDA-MB-231细胞活力和GSH水平,升高MDA-MB-231细胞 $\text{Fe}^{2+}$ 、脂质过氧化物和ROS含量/水平;下调MDA-MB-231细胞Nrf2、HO-1、GPX4蛋白表达,上调Keap1蛋白表达。**结论** 通过网络药理学及分子对接分析筛选黄芩苷镁诱导TNBC细胞铁死亡的潜在关键靶点及作用通路,黄芩苷镁可能通过调控Keap1/Nrf2/HO-1轴促进MDA-MB-231细胞铁死亡。

**关键词:** 黄芩苷镁;网络药理学;三阴性乳腺癌;铁死亡;Keap1/Nrf2/HO-1轴;氧化应激

中图分类号: R737.9

文献标志码: A

文章编号: 1004-6879(2026)-05-0372-08

## Study on the role of baicalin magnesium in inducing ferroptosis in triple-negative breast cancer cells

SUN Yu<sup>1</sup>, TANG Xijun<sup>1</sup>, TIAN Ye<sup>1</sup>, ZHAO Shuang<sup>2</sup>, XIAO Lijun<sup>1\*</sup>

(1. Basic Medical Institute of Chengde Medical University, Chengde, Hebei, 067000, China;

2. Central Laboratory, Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde, Hebei, 067000, China)

**Abstract:** **Objective** To screen the potential targets of baicalin magnesium in inducing ferroptosis in triple-negative breast cancer (TNBC) cells using network pharmacology and molecular docking, and to investigate its potential mechanisms.

**Methods** CTD, HERB, GeneCards, OMIM, and FerrDb databases were used to screen the targets related to baicalin magnesium, TNBC, and ferroptosis; Venny was used to obtain the intersection genes among the three. PPI network analysis was conducted using STRING and Cytoscape, as well as GO and KEGG enrichment analyses and molecular docking to screen potential key targets of baicalin magnesium-induced ferroptosis in TNBC cells. TNBC cells MDA-MB-231 were treated with baicalin magnesium at different concentrations (50, 100, 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). The cell viability, as well as intracellular glutathione (GSH),  $\text{Fe}^{2+}$ , lipid peroxides, reactive oxygen species (ROS) content/level, and ferroptosis-related proteins were detected. **Results** Network pharmacological analysis identified 57 common targets associated with baicalin magnesium and TNBC, of which 21 candidate targets were obtained by further intersection with ferroptosis-related genes. PPI network and

资助项目:承德医学院校级课题(KY202601)

作者简介:孙雨(2000—),女,硕士,研究方向:中药对肿瘤细胞铁死亡的作用。

\*通信作者:肖丽君(1973—),女,硕士,教授,研究方向:中药免疫;E-mail: xiaolijun1233@cdmc.cn。

topological analyses screened key targets, including Kelch-like ECH-associated protein 1 (KEAP1), nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NFE2L2, Nrf2), and heme oxygenase-1 (HMOX1, HO-1), which are related to ferroptosis regulation. Molecular docking analysis showed that baicalin magnesium exhibited a certain binding ability toward Keap1, Nrf2, and HO-1. In vitro experiments showed that baicalinmagnesium at all three concentrations reduced cell viability and GSH content in MDA-MB-231 cells, while increasing the levels of  $\text{Fe}^{2+}$ , lipid peroxides and ROS. It down-regulated the protein expression of Nrf2, HO-1 and GPX4, and upregulated Keap1 protein expression. **Conclusion** Network pharmacological and molecular docking analyses identified potential key targets and signaling pathways involved in baicalin magnesium-induced ferroptosis in TNBC cells, baicalin magnesium may promote ferroptosis in MDA-MB-231 cells by regulating the Keap1/Nrf2/HO-1 axis.

**Key words:** baicalin magnesium; network pharmacology; triple-negative breast cancer; ferroptosis; Keap1/Nrf2/HO-1 axis; oxidative stress

乳腺癌是全球女性最常见的恶性肿瘤之一,也是导致女性癌症相关死亡的重要原因<sup>[1]</sup>。其中,三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)由于缺乏雌激素受体、孕激素受体及人表皮生长因子受体2的表达,无法采用传统内分泌治疗,具有侵袭性强、异质性高、复发率高及预后较差等特点<sup>[2]</sup>。目前,常规剂量化疗在临床上被广泛应用于TNBC的治疗,但伴随着严重的毒性反应<sup>[3]</sup>。因此,迫切需要开发新的治疗策略。

黄芩苷<sup>[4]</sup>是唇形科植物黄芩干燥根部的黄酮类活性成分,具有抗肿瘤<sup>[5-6]</sup>、抗炎<sup>[7]</sup>、抗菌<sup>[8-9]</sup>、降脂<sup>[10]</sup>及神经保护<sup>[11]</sup>等多种作用。然而,黄芩苷水溶性极差,限制了其实际应用。承德医学院中药研究所制备的黄芩苷镁显著改善了黄芩苷的溶解性,并能保持原有药效,在多种疾病模型中均显示出优异的生物活性<sup>[12]</sup>。

铁死亡是一种依赖铁离子和脂质过氧化的细胞死亡方式,已被证实与多种肿瘤的发生发展密切相关<sup>[13-15]</sup>。目前,黄芩苷镁能否通过调控铁死亡影响TNBC发展,及其相关机制尚不明确。为此,本研究结合网络药理学与分子对接技术筛选黄芩苷镁抗TNBC作用的潜在核心靶点及铁死亡相关通路,并通过体外细胞实验进一步验证其诱导TNBC细胞铁死亡的作用及机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞

人TNBC细胞MDA-MB-231,由中国科学院上海细胞库提供。

### 1.2 试剂

黄芩苷镁由承德医学院中药研究所刘翠哲教授课

题组制备<sup>[16]</sup>,纯度为94.8%;高糖DMEM培养基、胎牛血清分别购自赛默飞世尔科技公司与武汉普诺赛生命科技有限公司;青霉素-链霉素混合液、胰蛋白酶、RIPA裂解液、BCA蛋白定量试剂盒、蛋白上样缓冲液均购自北京索莱宝科技有限公司;彩虹245广谱蛋白Marker购自苏州新赛美生物科技有限公司;ECL化学发光底物购自碧云天生物试剂有限公司;CCK-8细胞增殖检测试剂盒购自上海伟寰生物科技有限公司;还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;DCFH-DA活性氧荧光探针购自MCE公司;FerroOrange铁离子荧光探针购自同仁化学研究所;BODIPY™ 581/591 C11脂质过氧化物荧光探针购自赛默飞世尔科技公司。本实验所用一抗均为兔抗多克隆抗体:血红素加氧酶1(heme oxygenase 1, HO-1)、核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)及Kelch样ECH相关蛋白1(kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)购自武汉三鹰生物技术有限公司,谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase 4, GPX4)购自武汉爱博泰克生物科技有限公司, GAPDH购自北京博奥森生物技术有限公司;辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记羊抗兔IgG二抗购自武汉三鹰生物技术有限公司。

### 1.3 网络药理学及分子对接方法

1.3.1 获取黄芩苷镁作用靶点、TNBC治疗靶点以及构建共同作用靶点PPI网络图 利用CTD及HERB数据库检索黄芩苷镁相关作用靶点,通过GeneCards和OMIM数据库获取TNBC相关疾病靶点。将药物靶点与疾病靶点取交集,获得黄芩苷镁治疗TNBC的潜在作用靶点。利用

Venny工具绘制韦恩图,并将共同靶点导入STRING数据库构建蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络,进一步利用Cytoscape软件进行网络可视化和拓扑分析。

### 1.3.2 黄芩苷镁治疗TNBC靶点的GO和KEGG富集分析

将共同靶点上传至DAVID数据库进行GO功能富集分析和KEGG通路富集分析,筛选显著富集条目,并采用微生信在线平台进行可视化展示。

### 1.3.3 获取黄芩苷镁-TNBC与铁死亡相关基因的共同靶点及PPI网络图

将黄芩苷镁-TNBC共同靶点与FerrDb数据库中的铁死亡相关基因进行交集分析,获得黄芩苷镁调控TNBC铁死亡的候选靶点,并进一步构建PPI网络。

1.3.4 分子对接验证黄芩苷镁与作用靶点的关联 利用AutoDockTools软件进行分子对接分析。从蛋白质结构数据库下载关键靶点蛋白的结构,从PubChem获取化合物的结构文件。在AutoDock平台上完成分子对接,并使用PyMOL软件对结合模式进行可视化分析,验证黄芩苷镁与靶点的相互作用关系。

## 1.4 体外细胞实验

1.4.1 细胞培养 将MDA-MB-231细胞接种于含10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素的DMEM高糖培养基中,于37℃、5% CO<sub>2</sub>恒温培养箱中培养。每2 d更换培养基并传代,取对数生长期细胞用于后续实验。

1.4.2 CCK-8法检测细胞活性 将对数生长期的MDA-MB-231细胞消化后制成悬液,以 $5 \times 10^3$ 个/孔接种于96孔板中,每孔加入100 μL培养基。将细胞分为空白组(仅加培养基、不接种细胞)、对照组(不加药物处理)以及实验组,实验组细胞中加入不同浓度黄芩苷镁(25、50、100、200、400 μg·mL<sup>-1</sup>)分别处理24、48、72 h,每组设6个复孔。各孔加入10 μL CCK-8溶液,37℃孵育1 h后,于450 nm波长处检测OD值,计算细胞存活率。

细胞存活率(%)=[(OD实验-OD空白)/(OD对照-OD空白)]×100%

1.4.3 使用GSH试剂盒检测GSH含量 取对数生长期MDA-MB-231细胞,以 $6 \times 10^6$ 个/皿的密度接种于10 cm培养皿中。待细胞贴壁后,将细胞分为Control组(不加任何药物处理)和黄芩苷镁处理组(50、100、200 μg·mL<sup>-1</sup>),分别给予相应处理48 h。收集细胞样本,按照GSH检测试剂盒说

明书进行操作,于405 nm波长处检测吸光度,GSH含量按照蛋白浓度进行归一化,计算细胞内GSH含量:

$$\text{GSH含量}(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\text{蛋白})=(\text{A测定}-\text{A空白})/(\text{A标准}-\text{A空白})\times\text{C标准}\times 2\times\text{N}\div\text{Cpr}$$
 [C标准为标准液浓度,20 μmol·L<sup>-1</sup>;N为样本测试前稀释倍数(不包括匀浆操作);Cpr为样本蛋白浓度,g·L<sup>-1</sup>]。

1.4.4 使用BODIPY™ 581/591 C11荧光探针检测脂质过氧化物水平 取对数生长期MDA-MB-231细胞,以 $1.5 \times 10^5$ 个/皿接种于6 cm培养皿,细胞分组、药物干预时间同1.4.3节。处理结束后,加入2 μM的BODIPY 581/591 C11探针,37℃避光孵育30 min。每皿加入1 mL PBS,采用活细胞成像系统分别采集绿色与红色荧光信号,采用ImageJ软件分析绿色和红色荧光强度,并计算绿/红荧光强度比值,以反映细胞脂质过氧化物水平。

1.4.5 使用FerroOrange探针检测Fe<sup>2+</sup>含量 取对数生长期MDA-MB-231细胞,以 $4 \times 10^5$ 个/孔接种于12孔板,贴壁过夜。细胞分组、药物干预时间同1.4.3节。弃去培养基,加入终浓度1 μM的FerroOrange探针,37℃孵育30 min。采用活细胞成像系统拍摄细胞红色荧光图像,Image J软件分析计算Fe<sup>2+</sup>相对荧光强度,评估细胞内Fe<sup>2+</sup>含量。

1.4.6 使用DCFH-DA探针检测ROS水平 取对数生长期MDA-MB-231细胞,以 $4 \times 10^5$ 个/孔接种于12孔板,贴壁过夜,细胞分组、药物干预时间同1.4.3节。弃去培养基,加入终浓度10 μM的DCFH-DA探针,37℃孵育30 min。每孔加入200 μL PBS,采用活细胞成像系统采集细胞绿色荧光图像,通过Image J软件分析计算细胞ROS相对荧光强度,以此评价细胞内ROS水平。

### 1.4.7 Western blot检测Keap1、Nrf2、HO-1及GPX4蛋白表达

取对数生长期MDA-MB-231细胞,细胞分组、药物干预时间同1.4.3节。取等量蛋白经SDS-PAGE电泳分离后转印至PVDF膜,室温下采用5%脱脂奶粉封闭1 h;加入相应一抗,于4℃孵育过夜,随后加入HRP标记二抗室温孵育60 min,经化学发光显影。使用Image J软件分析目的蛋白条带与GAPDH条带的灰度比值,作为各目的蛋白的相对表达水平。

1.4.8 统计学分析 采用GraphPad Prism 10.0对实验数据进行绘图和统计分析。组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),并采用Tukey法进行两两多重比较。

$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 网络药理学及分子对接结果

2.1.1 黄芩苷镁作用靶点及TNBC治疗靶点筛选 通过CTD及HERB数据库检索并去重后,共获得黄芩苷镁相关潜在作用靶点73个。通过GeneCards及OMIM数据库获取TNBC相关疾病靶点,共获得2 027个候选基因。利用Venny工具对两者进行交集分析,最终获得57个黄芩苷镁干预TNBC的潜在共同作用靶点(图1)。

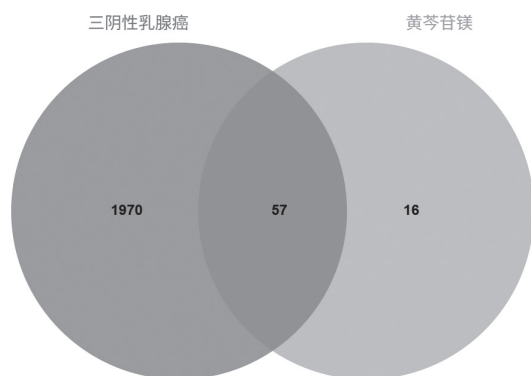
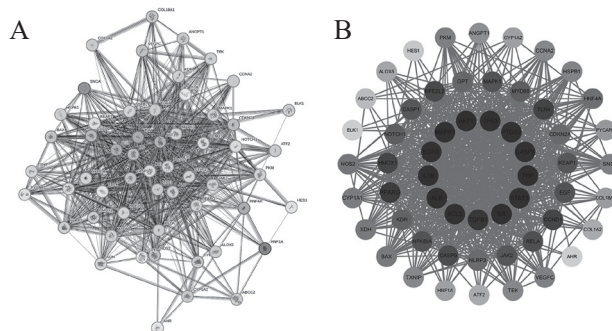


图1 黄芩苷镁与三阴性乳腺癌共同作用靶点的筛选

2.1.2 共同靶点PPI网络构建 将57个交集靶点导入STRING数据库开展PPI分析,所得结果导入Cytoscape软

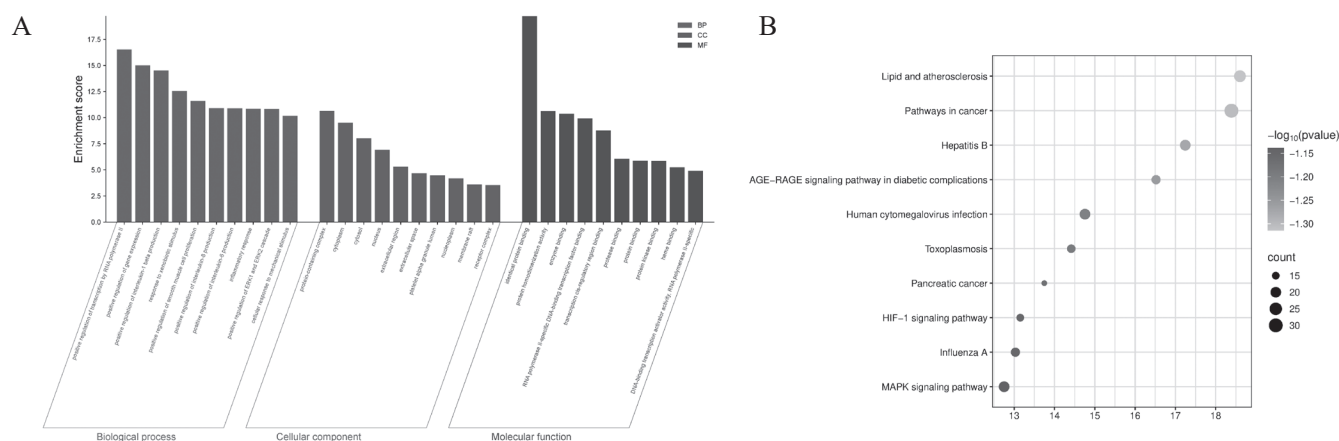
件完成可视化(图2A);再次利用Cytoscape构建PPI网络图(图2B)。依据节点Degree值调整节点大小与颜色,Degree值越高,节点尺寸越大、颜色越红。其中核心靶点有HMOX1(HO-1)、NFE2L2(Nrf2)和KEAP1(Keap1)等。



注:A. STRING图;B. PPI图。

### 图2 黄芩苷镁作用于TNBC相关靶点的PPI网络分析

2.1.3 黄芩苷镁治疗TNBC的GO及KEGG富集分析 对57个共同靶点进行GO富集分析,共获得BP、CC、MF3个维度的条目分别为515、54及100项。主要富集于转录正调控、炎症反应及细胞因子生成等生物过程;分子功能涉及蛋白结合与酶活性调控;细胞定位集中于细胞质、蛋白复合物及细胞器(图3A)。KEGG富集结果共获得144条显著通路,其中前10条主要与脂质代谢、癌症相关通路及HIF-1信号通路有关(图3B)。



注:A. GO功能分析;B. KEGG富集分析。

### 图3 黄芩苷镁治疗TNBC靶点的GO功能分析和KEGG富集分析

2.1.4 获取黄芩苷镁-TNBC与铁死亡相关基因的共同靶点 获取黄芩苷镁-TNBC共同靶点后,与铁死亡相关基

因取交集得到21个共同靶点,绘制Venny图(图4)。

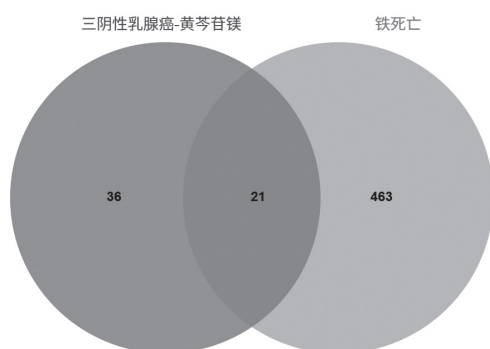
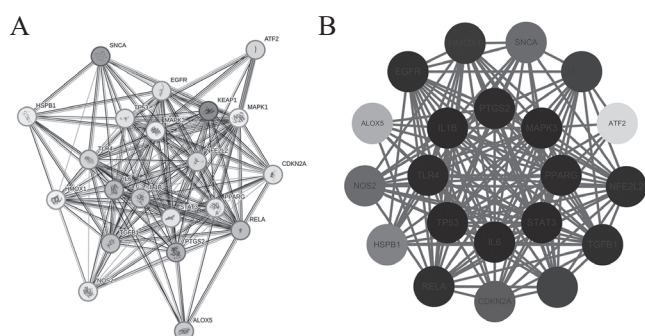


图4 黄芩苷- TNBC与铁死亡基因共同作用靶点

#### 2.1.5 构建黄芩苷- TNBC与铁死亡共同靶点PPI网络图

将21个共同靶点导入STRING数据库进行PPI分析,并在Cytoscape中可视化。依据节点Degree值对关键靶点进行排序,筛选出NFE2L2(Nrf2)、HMOX1(HO-1)及KEAP1(Keap1)等关键候选靶点(图5)。



注:A. STRING图;B. PPI图。

图5 黄芩苷调控铁死亡治疗TNBC靶点的PPI图

#### 2.1.6 分子对接验证黄芩苷与核心靶点的结合能力

分子对接结果显示,黄芩苷与Keap1、Nrf2及HO-1的结合能分别为 $-5.53 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ 、 $-3.12 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ 和 $-1.81 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,均小于0,提示黄芩苷与上述靶蛋白具有一定结合能力(图6)。

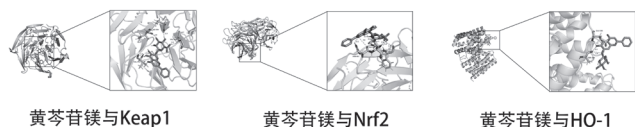


图6 黄芩苷与核心靶点的分子对接

### 2.2 体外实验结果

#### 2.2.1 黄芩苷可降低MDA-MB-231细胞存活率

CCK-8结果显示(图7),各浓度黄芩苷可降低MDA-MB-231细胞活力,并呈现浓度及时间依赖性。因 $25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 作用较

弱,因此未作为后续机制实验浓度; $400 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 处理组细胞活力下降较明显,可能存在较强的非特异性细胞毒作用;72 h长时间处理可能导致继发性细胞损伤。因此,综合药物作用强度、细胞存活状态及后续机制研究需求,选择48 h作为处理时间,并选用50、100和 $200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 黄芩苷作为后续实验浓度。

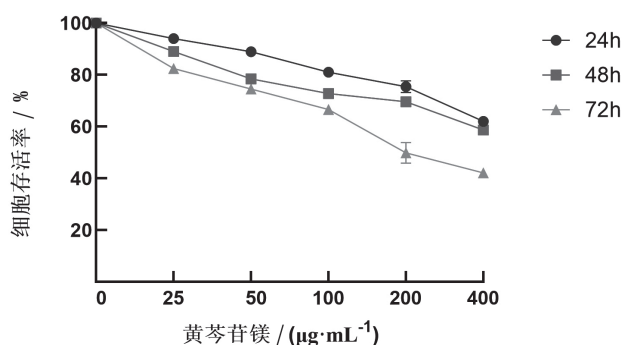
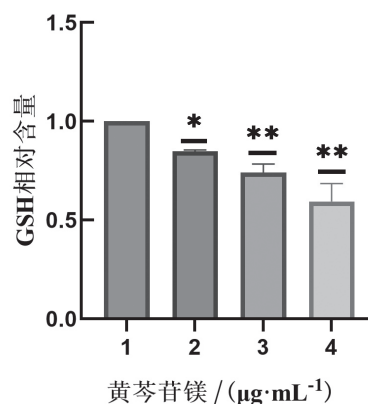


图7 黄芩苷对MDA-MB-231细胞存活率的影响

#### 2.2.2 黄芩苷可降低MDA-MB-231细胞GSH含量

与Control组相比,50、100、 $200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 梯度浓度黄芩苷干预MDA-MB-231细胞后,随着黄芩苷浓度升高,细胞内GSH水平总体呈下降趋势,提示黄芩苷可降低MDA-MB-231细胞内GSH水平(图8)。

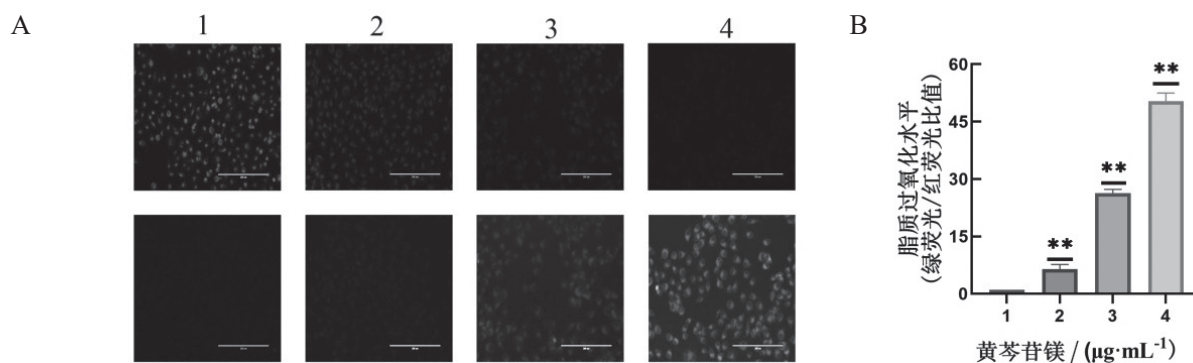


注:1. Control组;2. 黄芩苷处理组( $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ );3. 黄芩苷处理组( $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ );4. 黄芩苷处理组( $200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ );与Control组相比,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ 。

图8 黄芩苷对MDA-MB-231细胞GSH含量的影响

#### 2.2.3 黄芩苷可增强MDA-MB-231细胞脂质过氧化水平

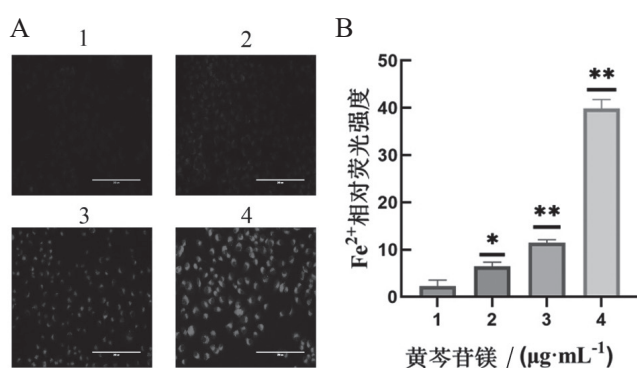
与Control组相比,50、100、 $200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 黄芩苷处理MDA-MB-231细胞后,细胞内绿色/红色荧光强度比值显著升高,提示黄芩苷可促进MDA-MB-231细胞脂质过氧化物水平升高(图9)。



注:A. 各组细胞脂质过氧化物水平, bar=200 μm; B. 脂质过氧化物水平定量分析; 1. Control组; 2. 黄芩苷镁处理组(50 μg·mL<sup>-1</sup>); 3. 黄芩苷镁处理组(100 μg·mL<sup>-1</sup>); 4. 黄芩苷镁处理组(200 μg·mL<sup>-1</sup>); 与Control组相比, \*\**P*<0.01。

图9 黄芩苷镁对MDA-MB-231细胞脂质过氧化物水平的影响

2.2.4 黄芩苷镁可促进MDA-MB-231细胞内Fe<sup>2+</sup>蓄积 与Control组相比, 50、100、200 μg·mL<sup>-1</sup>黄芩苷镁处理后, MDA-MB-231细胞内Fe<sup>2+</sup>红色荧光信号逐步增强, 提示黄芩苷镁能够促进MDA-MB-231细胞Fe<sup>2+</sup>蓄积(图10)。

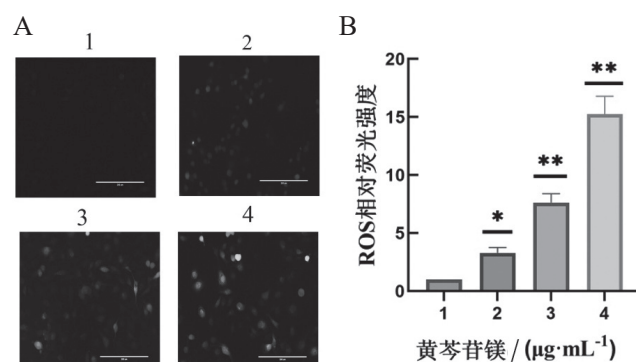


注:A. 各组细胞Fe<sup>2+</sup>含量, bar=200 μm; B. Fe<sup>2+</sup>含量定量分析; 1. Control组; 2. 黄芩苷镁处理组(50 μg·mL<sup>-1</sup>); 3. 黄芩苷镁处理组(100 μg·mL<sup>-1</sup>); 4. 黄芩苷镁处理组(200 μg·mL<sup>-1</sup>); 与Control组相比, \**P*<0.05, \*\**P*<0.01。

图10 黄芩苷镁对MDA-MB-231细胞内Fe<sup>2+</sup>含量的影响

2.2.5 黄芩苷镁可促进MDA-MB-231细胞ROS积累 与Control组相比, 50、100、200 μg·mL<sup>-1</sup>黄芩苷镁处理MDA-MB-231细胞后, 胞内ROS绿色荧光信号明显增强, 提示黄

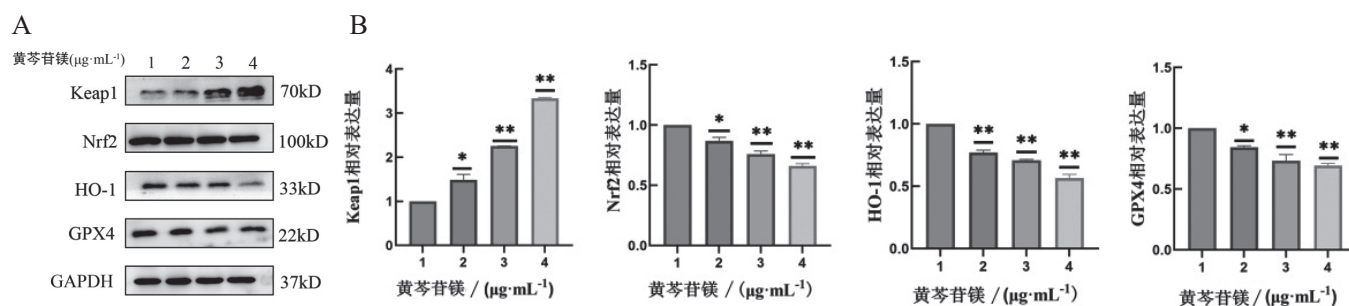
芩苷镁能够促进MDA-MB-231细胞ROS水平升高(图11)。



注:A. 各组细胞ROS水平, bar=200 μm; B. ROS水平定量分析; 1. Control组; 2. 黄芩苷镁处理组(50 μg·mL<sup>-1</sup>); 3. 黄芩苷镁处理组(100 μg·mL<sup>-1</sup>); 4. 黄芩苷镁处理组(200 μg·mL<sup>-1</sup>); 与Control相比, \**P*<0.05, \*\**P*<0.01。

图11 黄芩苷镁对MDA-MB-231细胞ROS水平的影响

2.2.6 黄芩苷镁可影响MDA-MB-231细胞Keap1、Nrf2、HO-1、GPX4蛋白表达水平 Western blot结果显示(图12), 与Control组相比, 50、100、200 μg·mL<sup>-1</sup>黄芩苷镁处理MDA-MB-231细胞后, 能够明显上调Keap1蛋白表达, 下调Nrf2、HO-1和GPX4蛋白表达。



注:1. Control组;2. 黄芩苷镁处理组(50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ );3.黄芩苷镁处理组(100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ );4. 黄芩苷镁处理组(200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ );A. 各组细胞Western blot条带图;B. 各目的蛋白定量分析;与Control组相比,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ 。

图12 黄芩苷镁对MDA-MB-231细胞铁死亡相关蛋白表达的影响

### 3 讨论

TNBC因缺乏雌激素受体、孕激素受体及人表皮生长因子受体2的表达而缺少有效靶向治疗,目前主要依赖化疗,但疗效有限且耐药性显著,临床预后普遍不佳<sup>[17]</sup>。因此,亟须探索新的治疗策略以改善TNBC的治疗效果。近年研究显示<sup>[18]</sup>,调控过程可能成为治疗TNBC的重要策略之一。有研究表明<sup>[19]</sup>,黄芩苷可通过抑制NRF2/SLC7A11/GPX4通路诱导皮肤鳞状细胞癌细胞发生铁死亡,提示黄芩类成分具有调控铁死亡的潜在作用。与黄芩苷相比,黄芩苷镁具有更好的水溶性和潜在生物利用度,可能具有更高的药理应用价值。黄芩苷镁可通过调控脂质过氧化过程,缓解氧化应激介导的肝细胞损伤,对四氯化碳或脂多糖联合D-半乳糖诱导的大鼠急性肝损伤具有保护作用<sup>[20]</sup>。然而,目前关于黄芩苷镁是否参与调控TNBC铁死亡尚缺乏研究报道。

本研究利用网络药理学和分子对接方法预测黄芩苷镁治疗TNBC的潜在作用靶点,并筛选获得与铁死亡相关的关键节点,包括Keap1、Nrf2及HO-1等。分子对接结果显示,黄芩苷镁与上述蛋白具有一定结合能力,提示上述靶点可能参与黄芩苷镁抗TNBC的作用过程。Nrf2/Keap1信号通路是维持细胞氧化还原稳态的重要调控机制。在正常条件下,Keap1作为Nrf2负调控蛋白,促进Nrf2泛素化降解;当细胞受到氧化应激刺激时,Nrf2可从Keap1复合物中释放并进入细胞核,结合抗氧化反应元件ARE,促进HO-1等抗氧化基因表达,从而增强细胞抗氧化能力<sup>[21-22]</sup>。本研究通过体外实验观察到黄芩苷镁可以有效抑制MDA-MB-231细胞的增殖,提示其具有潜

在的抗TNBC活性。进一步检测发现,3个浓度(50、100、200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )的黄芩苷镁处理后可显著降低MDA-MB-231细胞GSH含量,促进 $\text{Fe}^{2+}$ 积累和脂质过氧化物生成,并诱导细胞内ROS水平升高,呈现出典型的铁死亡特征。Western blot结果表明,黄芩苷镁处理后上调Keap1蛋白表达水平,下调Nrf2、HO-1及GPX4的表达水平。该结果提示,黄芩苷镁可能通过抑制Keap1-Nrf2-HO-1轴,削弱细胞清除活性氧的能力,同时抑制GPX4介导的脂质过氧化物清除,导致ROS和脂质过氧化物水平的过度积累,最终诱导铁死亡发生,但后续仍需使用铁死亡特异性抑制剂进一步验证其因果关系。

本研究通过网络药理学与分子对接分析,筛选黄芩苷镁诱导TNBC细胞铁死亡的潜在关键靶点及作用通路。体外实验表明,黄芩苷镁可能通过调控Keap1/Nrf2/HO-1轴促进MDA-MB-231细胞铁死亡。

### 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): 229-263.
- [2] Vagia E, Mahalingam D, Cristofanilli M. The Landscape of Targeted Therapies in TNBC[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(4): 916.
- [3] Baranova A, Krasnoselskiy M, Starikov V, et al. Triple-negative breast cancer: current treatment strategies and factors of negative prognosis [J]. J Med Life, 2022, 15(2): 153-161.

- [4] 李杨,杨建宇,范竹雯,等. 中国道地药材研究近况系列(11) 道地药材黄芩的研究近况[J]. 光明中医,2020,35(7):1106-1109.
  - [5] Capó X, Kumar R, Mishra A P, et al. Baicalein and baicalin in cancer therapy: Multifaceted mechanisms, preclinical evidence, and translational challenges[J]. Semin Oncol, 2025, 52(5): 152377.
  - [6] Zhang L, Yang L, Xie X, et al. Baicalin Magnesium Salt Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury via Inhibiting of TLR4/NF- $\kappa$ B Signaling Pathway[J]. J Immunol Res, 2021, 2021: 6629531.
  - [7] Kim Y J, Kim H J, Lee J Y, et al. Anti-Inflammatory Effect of Baicalein on Polyinosinic Polycytidylic Acid-Induced RAW 264.7 Mouse Macrophages[J]. Viruses, 2018, 10(5): 224.
  - [8] Mu L, Xie K, Chen R, et al. The antibacterial activity, action mechanisms and prospects of Baicalein as an antibacterial adjuvant[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2025, 41(8): 304.
  - [9] Lin C C, Su C H, Huang W C, et al. Molecular mechanisms of baicalein in treating recalcitrant chronic rhinosinusitis Caused by Staphylococcus aureus: An in vitro study[J]. Microbiol Immunol Infect, 2025, 58(6): 720-727.
  - [10] Miao Q, Sun L, Wu J, et al. Lipid-Lowering Potential of Almond Hulls (Quercetin, Baicalein, and Kaempferol): Insights from Network Pharmacology and Molecular Dynamics[J]. Curr Issues Mol Biol, 2025, 47(6): 450.
  - [11] He P, Qiao R, Liu C, et al. Neuroprotective Mechanisms of Baicalin in Ischemia Stroke[J]. ACS Chem Neurosci, 2025, 16(11): 1978-1995.
  - [12] 许海舰,刘一鑫,刘喜纲,等. 黄芩苷镁盐和黄芩苷的肠吸收动力学和药代动力学比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018,24(4):78-83.
  - [13] Dixon S J, Lemberg K M, Lamprecht M R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. Cell, 2012, 149(5): 1060-1072.
  - [14] Chen X, Li J, Kang R, et al. Ferroptosis: machinery and regulation[J]. Autophagy, 2021, 17(9): 2054-2081.
  - [15] Lei G, Zhuang L, Gan B. The roles of ferroptosis in cancer: Tumor suppression, tumor microenvironment, and therapeutic interventions[J]. Cancer Cell, 2024, 42(4): 513-534.
  - [16] 刘翠哲,王志轩,苗策禹,等. 一种黄芩苷镁化合物及其制备方法与它的用途:CN105732753A[P]. 2016-07-06.
  - [17] Yang Y, Li H, Yang W, et al. Improving efficacy of TNBC immunotherapy: based on analysis and subtyping of immune microenvironment[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1441667.
  - [18] Yang F, Xiao Y, Ding J H, et al. Ferroptosis heterogeneity in triple-negative breast cancer reveals an innovative immunotherapy combination strategy[J]. Cell Metab, 2023, 35(1): 84-100.
  - [19] Zhou Q, Du H, Gao Y, et al. Baicalin induces ferroptosis in cervical squamous cell carcinoma via the NRF2/SLC7A11/GPX4 signaling axis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2026, 822: 153876.
  - [20] Guan X, Shen S, Liu J, et al. Protective effects of baicalin magnesium on non-alcoholic steatohepatitis rats are based on inhibiting NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$  signaling pathway[J]. BMC Complement Med Ther, 2023, 23(1): 72.
  - [21] Adelusi T I, Du L, Hao M, et al. Keap1/Nrf2/ARE signaling unfolds therapeutic targets for redox imbalanced-mediated diseases and diabetic nephropathy[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 123: 109732.
  - [22] Furfaro A L, Traverso N, Domenicotti C, et al. The Nrf2/HO-1 Axis in Cancer Cell Growth and Chemoresistance[J]. Oxid Med Cell Longev, 2016, 2016: 1958174.
- (收稿日期:2025-11-26)
- (基础医学栏目编辑:张明溪)

(收稿日期:2025-11-26)

(基础医学栏目编辑:张明溪)

\*\*\*\*\*