

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.10.016

白花蛇舌草、半枝莲及其药对配伍对人胰腺癌 Panc28 细胞及人肝癌 Bel7402 细胞葡萄糖摄取能力及乳酸水平的影响

刘晓卉, 詹盛, 林秀坤, 许焕丽*

首都医科大学基础医学院, 北京市丰台区右安门外西头条十号, 100069

摘要 目的 探讨白花蛇舌草、半枝莲及其药对组合抗肿瘤作用及可能机制。方法 将人胰腺癌 Panc28 细胞接种于 BALB/c 雌性小鼠腋部皮下, 当皮下移植瘤长到约 100 mm³ 后开始给药, 以注射用环磷酰胺 (50 mg/kg) 为阳性对照, 白花蛇舌草、半枝莲、白花蛇舌草-半枝莲药对浓缩液各 200 mg/kg 腹腔注射, 隔日 1 次, 共 8 次, 隔日测量小鼠肿瘤体积及体重。取对数生长期的 Panc28 和人肝癌 Bel7402 细胞培养, 分为对照组、白花蛇舌草组、半枝莲组、药对组, 除对照组外, 其余各组分别加入不同浓度 (400、200、100、50、25 μg/ml) 的白花蛇舌草单煎浓缩液、半枝莲单煎浓缩液、白花蛇舌草-半枝莲混煎浓缩液作用 48 h, 检测不同浓度干预下细胞抑制率并计算半数抑制浓度 (IC₅₀)。观察终浓度为 50 μg/ml 白花蛇舌草单煎浓缩液、半枝莲单煎浓缩液、白花蛇舌草-半枝莲混煎浓缩液处理 24 h 后上清液中相对葡萄糖含量和乳酸含量; 培养 48 h 后丙酮酸激酶 1 (PKM1)、丙酮酸激酶 2 (PKM2) 蛋白表达。结果 药对组和阳性对照组小鼠移植瘤体积均小于白花蛇舌草、半枝莲组 ($P < 0.05$); 各药物对小鼠体重无影响 ($P > 0.05$)。与白花蛇舌草组和半枝莲组比较, 药对组 Panc28 细胞及 Bel7402 细胞的 IC₅₀ 降低, 相对葡萄糖摄取量和乳酸水平明显降低 ($P < 0.05$), 药对组 Panc28 细胞及 Bel7402 细胞中 PKM1 蛋白表达升高, PKM2 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)。结论 白花蛇舌草-半枝莲药对可抑制肿瘤生长, 其机制可能与抑制肿瘤细胞糖酵解有关。

关键词 白花蛇舌草; 半枝莲; 胰腺癌; 肝癌; 肿瘤体积; 糖酵解; 丙酮酸激酶

药对是指临床常用的相对固定的两味药或三味药的配伍形式, 是中药配伍应用中的基本形式, 具有结构简单、配伍明确、宜于研究等优势^[1]。半枝莲为唇形科植物半枝莲 (*Scutellaria barbata* D. Don) 的干燥全草, 有清热解毒、化瘀利尿之功效, 现临床多用于治疗癌症、肝炎等疾病^[2]。白花蛇舌草为茜草科植物白花蛇舌草 (*Hedyotis diffusa* Willd.) 的全草, 有清热解毒、活血利尿等功效, 现临床多用于治疗恶性肿瘤、炎症等疾病^[3]。在长期的临床实践中, 二者不仅以药对的形式直接用于癌症治疗, 而且常以核心药对的形式出现于临床治疗肿瘤的经验方中^[4-8]。有临床研究^[9-10]表明, 二者以药对的形式用于肺癌、宫颈癌、乳腺癌、胃

癌等治疗疗效明确, 且优于单味药的使用。本研究探讨白花蛇舌草、半枝莲单味药及其药对配伍对人胰腺癌 Panc28 细胞及人肝癌 Bel7402 细胞葡萄糖摄取能力及乳酸水平的影响及可能作用机制。本实验通过首都医科大学实验动物管理信息平台动物伦理审查批准, 伦理审查号: AEEI-2019-078。

1 材料与方法

1.1 动物及细胞

SPF 级健康全雌 BALB/c 小鼠 120 只, 3~4 周龄, 体质量 (18 ± 2) g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物许可证号: AEEI-2018-081。人胰腺癌 Panc28 细胞及人肝癌 Bel7402 细胞均购自中国医学科学院基础医学研究所, 编号分别为: 3142C0001000000337, 3131C0001000700010。

1.2 药物及提取物制备

白花蛇舌草 (批号 1711046)、半枝莲 (批号 1704050) 均购自北京同仁堂药房, 精密称定白花

基金项目: 国家自然科学基金 (81774191); 北京市自然科学基金 (7172031); 北京市属高校高水平教师队伍支持计划青年拔尖人才培育计划 (CIT&TCD201804086)

* 通讯作者: 13301261635@163.com, (010) 83911837

蛇舌草 50 g、半枝莲 50 g、白花蛇舌草与半枝莲 1 : 1 混合物 50 g, 固液比 1 : 12, 加入去离子水 40 ℃ 提取 3 次, 提取液 5000 r/min (离心半径 12 cm) 常温离心 5 min, 合并 3 次离心上清液, 60 ℃ 下减压真空浓缩至药材量的 5 倍体积, 得白花蛇舌草单煎浓缩液、半枝莲单煎浓缩液、白花蛇舌草-半枝莲混煎浓缩液, 最终浓度为 0.1 mg/ml 样本溶液, 按实验所需配置各浓度药物。

1.3 主要试剂及仪器

注射用环磷酰胺 (CTX, 批号 86901445000566), 购自江苏恒瑞医药股份有限公司; DMEM 培养基 (批号 C11995500BT)、胎牛血清 (批号 16000-044), 均购自美国 Gibco 公司; 胰酶 (批号 25200072)、MTS β -(4,5-二甲基-2-噻唑基)-5-(3-羧甲氧基苯基)-2H-四氮唑 试剂盒 (批号 14965), 购自赛默飞世尔生物化学制品有限公司; PBS 溶液 (批号 ST476), 购自碧云天生物技术有限公司; 丙酮酸激酶 1 (PKM1, 货号 15821-1-AP) 和丙酮酸激酶 2 (PKM2, 货号 15822-1-AP) 及 β -tubulin (货号 10068-1-AP) 抗体, 均购自美国 Proteintech 公司; 0.9% NaCl (批号 B20187695), 购自南京森贝伽生物有限公司; 蛋白提取试剂盒 (批号 BC3640) 和蛋白定量试剂盒 (批号 PC0020), 均购自北京索莱宝科技有限公司; 化学发光显色液 (批号 KC3043), 购自上海青牧生物科技有限公司; 葡萄糖摄取检测试剂盒 (货号 KA4086), 购自美国 Abnova 公司; 乳酸检测试剂盒 (货号 MAK058), 购自德国默克 Sigma-Aldrich 公司。

冷冻离心机 (Centrifuge5430R 型), 德国贝克曼公司; 酶联免疫检测仪 (model 550 型)、化学发光成像仪 (ChemiDoc XRS + 型), 均购自美国伯乐公司。

1.4 观察指标及方法

1.4.1 体内抑制瘤实验 常规传代培养 Panc28 细胞, 0.25% 胰酶消化处于对数生长期细胞, 用 PBS 重悬成浓度为 1×10^7 个/ml 单细胞悬液。将约 2×10^6 个 (0.2 ml) 单细胞悬液接种于 BALB/c 雌性小鼠腋部皮下, 传代 1 次后, 将肿瘤组织无菌取出并切成大小相同 (2 mm^3) 的小块, 用套管针接种在 40 只小鼠腋部皮下。当皮下移植瘤长到约 100 mm^3 后开始给药。将接种的小鼠用随机数字表分为阴性对照组 (0.9% NaCl, 0.1 ml/10 g)、阳性对照组 (CTX 50 mg/kg)、白花蛇舌草组 (200 mg/kg)、半

枝莲组 (200 mg/kg)、药对组 (200 mg/kg), 每组 8 只, 腹腔注射给药, 隔日给药 1 次, 共 8 次。隔日测量各组小鼠体重和肿瘤体积。

1.4.2 细胞抑制率及半数抑制浓度 (IC_{50}) 将对数生长期的 Panc28 和 Bel7402 细胞接种于 96 孔培养板, 3000 个/孔, 实验分为对照组、白花蛇舌草组、半枝莲组、药对组, 除对照组外, 其余各组分别加入浓度为 400、200、100、50、25 $\mu\text{g/ml}$ 的白花蛇舌草单煎浓缩液、半枝莲单煎浓缩液、白花蛇舌草-半枝莲混煎浓缩液作用 48 h。以 20 : 1 的比例将 MTS 和吩嗪硫酸二甲酯 (PMS) 混合, 立即加入至培养基 (1 : 5)。继续培养 2 h 后, 用酶联免疫检测仪检测各孔吸光度值, 波长 490 nm。每个样本设 3 ~ 5 个平行孔, 每种实验重复 3 次。计算抑制率及 IC_{50} 。抑制率 = (对照组平均 OD 值 - 加药组平均 OD 值) / 对照组平均 OD 值 $\times 100\%$ 。根据各抑制率, 通过 Prism 2.0 软件计算 IC_{50} 值。

1.4.3 葡萄糖摄取能力及乳酸水平检测 取对数生长期的 Panc28 细胞、Bel7402 细胞, 接种于 6 孔板, 实验分组同 1.4.2, 待细胞贴壁状态良好时, 加白花蛇舌草单煎浓缩液、半枝莲单煎浓缩液、白花蛇舌草-半枝莲混煎浓缩液至终浓度 50 $\mu\text{g/ml}$, 处理 24 h 后, 吸出培养液, 3000 r/min 4 ℃ 离心 (半径 12 cm) 5 min, 留取上清备用。细胞上清按照葡萄糖摄取检测试剂盒及乳酸检测试剂盒说明书操作后, 计算得出细胞培养上清液中葡萄糖含量和乳酸浓度, 结果以 OD 值表示。

1.4.4 PKM1、PKM2 蛋白表达 采用 Western blot 方法, 取对数生长期的 Panc28 细胞、Bel7402 细胞, 实验分组同 1.4.2, 待细胞贴壁状态良好时, 加白花蛇舌草单煎浓缩液、半枝莲单煎浓缩液、白花蛇舌草-半枝莲混煎浓缩液至终浓度 50 $\mu\text{g/ml}$, 处理 48 h 后, 收集细胞, 提取细胞总蛋白, 并进行蛋白定量。分别取 20 μg 蛋白进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶 (12%) 电泳, 并转至到 PVDF 膜上。将膜置于 5% BSA 中 37 ℃ 孵育 2 h, 然后在 4 ℃ 下与一抗孵育过夜。辣根过氧化物酶标记的二抗进行孵育后, 用增强化学发光显色液对蛋白条带进行显色, β -tubulin 为内参。每个样品在相同的条件下重复 3 次, ImageJ 1.52 软件进行条带灰度值分析。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计分析, 计量资料符合正态分布以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 方差齐性用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有

统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠 Panc28 细胞移植瘤不同时间肿瘤体积及体重比较

图 1 示, 各组小鼠 Panc28 细胞移植瘤体积均小于阴性对照组 ($P < 0.05$); 药对组和阳性对照组小鼠移植瘤体积均小于白花蛇舌草组和半枝莲组 ($P < 0.05$)。各组小鼠体重比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 各组细胞不同浓度药物干预下细胞抑制率及 IC_{50} 比较

表 1 示, Bel7402 细胞时, 与半枝莲组比较, 白花蛇舌草组和药对组细胞在各浓度干预下细胞抑制率均上升 ($P < 0.05$); 与白花蛇舌草组比较, 药对组在 400、200、100、50 $\mu\text{g/ml}$ 浓度干预下细胞抑制率均升高 ($P < 0.05$)。表 2 示, 在 Panc28

细胞时, 与半枝莲组比较, 白花蛇舌草组和药对组细胞在各浓度干预下细胞抑制率均上升 ($P < 0.05$); 与白花蛇舌草组比较, 药对组在 400、200 $\mu\text{g/ml}$ 浓度干预下细胞抑制率均升高 ($P < 0.05$)。表 3 示, 半枝莲组 Panc28 细胞及 Bel7402 细胞的 IC_{50} 明显高于白花蛇舌草组和药对组 ($P < 0.05$); 药对组各肿瘤细胞的 IC_{50} 明显低于白花蛇舌草组 ($P < 0.05$)。

表 3 各组 Panc28 细胞及 Bel7402 细胞 IC_{50} 比较 ($\mu\text{g/ml}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	Bel7402	Panc28
半枝莲组	3	235.2 $\pm$ 15.8	224.4 $\pm$ 18.7
白花蛇舌草组	3	190.9 $\pm$ 20.1*	170.1 $\pm$ 19.7*
药对组	3	110.4 $\pm$ 24.3* Δ	125.4 $\pm$ 10.4* Δ

注: 与半枝莲组比较, * $P < 0.05$; 与白花蛇舌草组比较, $\Delta P < 0.05$

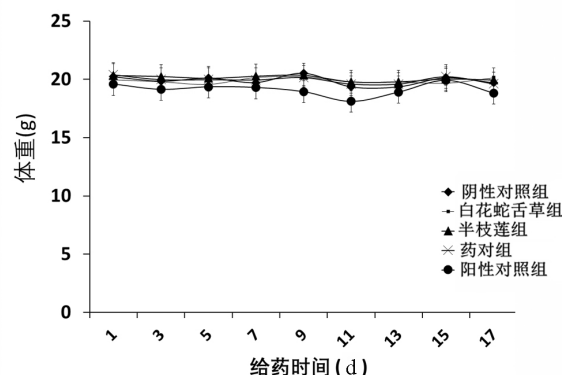
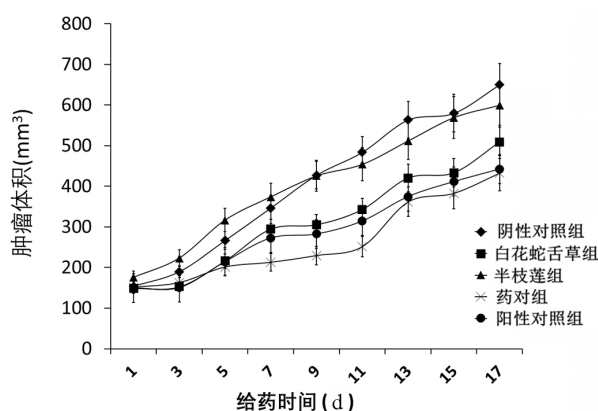


图 1 各组小鼠 Panc28 移植瘤肿瘤体积及体重变化曲线图

表 1 各组 Bel7402 细胞在不同浓度药物干预下细胞抑制率比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	400 $\mu\text{g/ml}$	200 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	50 $\mu\text{g/ml}$	25 $\mu\text{g/ml}$
半枝莲组	3	80.7 $\pm$ 6.5	47.6 $\pm$ 7.4	30.5 $\pm$ 8.3	11.5 $\pm$ 17.7	9.5 $\pm$ 1.6
白花蛇舌草组	3	89.9 $\pm$ 10.5*	60.2 $\pm$ 13.4*	39.5 $\pm$ 5.3*	21.5 $\pm$ 10.2*	15.5 $\pm$ 9.5*
药对组	3	93.7 $\pm$ 5.8* Δ	82.6 $\pm$ 9.8* Δ	45.6 $\pm$ 10.7* Δ	31.8 $\pm$ 9.7* Δ	19.5 $\pm$ 8.9*

注: 与半枝莲组比较, * $P < 0.05$; 与白花蛇舌草组比较, $\Delta P < 0.05$

表 2 各组 Panc28 细胞在不同浓度药物干预下细胞抑制率比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	400 $\mu\text{g/ml}$	200 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	50 $\mu\text{g/ml}$	25 $\mu\text{g/ml}$
半枝莲组	3	75.0 $\pm$ 7.1	48.9 $\pm$ 9.4	32.5 $\pm$ 10.7	21.7 $\pm$ 12.7	10.5 $\pm$ 4.5
白花蛇舌草组	3	91.4 $\pm$ 11.0*	68.7 $\pm$ 7.4*	42.5 $\pm$ 8.8*	30.8 $\pm$ 10.0*	25.5 $\pm$ 9.8*
药对组	3	94.5 $\pm$ 5.6* Δ	72.7 $\pm$ 6.9* Δ	44.3 $\pm$ 12.0*	30.0 $\pm$ 9.5*	21.7 $\pm$ 9.7*

注: 与半枝莲组比较, * $P < 0.05$; 与白花蛇舌草组比较, $\Delta P < 0.05$

表 4 各组细胞相对葡萄糖摄取量和乳酸水平比较 (OD 值, $\bar{x} \pm s$)

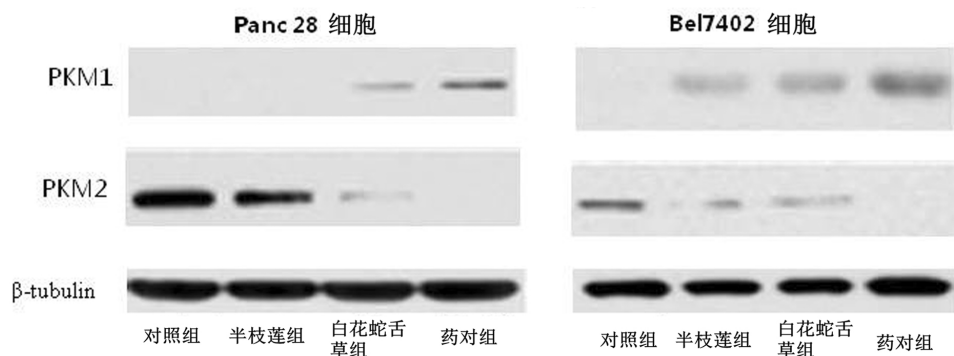
组别	样本数	Panc28 细胞		Bel7402 细胞	
		相对葡萄糖摄取量	相对乳酸水平	相对葡萄糖摄取量	相对乳酸水平
对照组	3	1.42 ± 0.56	1.51 ± 0.42	1.20 ± 0.18	1.31 ± 0.26
白花蛇舌草组	3	0.87 ± 0.34 ^{*△}	1.15 ± 0.11 ^{*△}	0.80 ± 0.21 ^{*△}	0.90 ± 0.17 ^{*△}
半枝莲组	3	0.99 ± 0.20 ^{*△}	1.03 ± 0.24 ^{*△}	0.83 ± 0.16 ^{*△}	0.85 ± 0.21 ^{*△}
药对组	3	0.65 ± 0.31 [*]	0.77 ± 0.19 [*]	0.61 ± 0.27 [*]	0.76 ± 0.13 [*]

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与药对组比较, $\Delta P < 0.05$

表 5 各组细胞 PKM1 和 PKM2 蛋白相对表达量比较 (灰度值, $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	Panc28 细胞		Bel7402 细胞	
		PKM1	PKM2	PKM1	PKM2
对照组	3	0.01 ± 0.00	15.48 ± 4.52	0.01 ± 0.00	5.54 ± 0.57
白花蛇舌草组	3	0.01 ± 0.00 [△]	13.16 ± 1.53 ^{*△}	3.14 ± 0.20 ^{*△}	3.16 ± 0.11 ^{*△}
半枝莲组	3	0.10 ± 0.02 ^{*△}	0.93 ± 0.11 ^{*△}	3.56 ± 0.14 ^{*△}	0.72 ± 0.04 ^{*△}
药对组	3	0.34 ± 0.01 [*]	0.15 ± 0.01 [*]	13.57 ± 0.54 [*]	0.06 ± 0.00 [*]

注: PKM1, 丙酮酸激酶 1, PKM2, 丙酮酸激酶 2; 与对照组比较, * $P < 0.05$; 与药对组比较, $\Delta P < 0.05$



注: PKM1, 丙酮酸激酶 1, PKM2, 丙酮酸激酶 2

图 2 各组细胞 PKM1 和 PKM2 蛋白电泳图

2.3 各组细胞相对葡萄糖摄取量和乳酸水平比较

表 4 示, 与对照组比较, 其余各组 Panc28 细胞和 Bel7402 细胞相对葡萄糖摄取量和乳酸水平均明显降低 ($P < 0.05$)。白花蛇舌草组和半枝莲组相对葡萄糖摄取量和乳酸水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 药对组相对葡萄糖摄取量和乳酸水平明显低于白花蛇舌草组和半枝莲组 ($P < 0.05$)。

2.4 各组细胞 PKM2、PKM1 蛋白表达比较

表 5 示, 与对照组比较, 白花蛇舌草组 Panc28 细胞及 Bel7402 细胞中 PKM2 蛋白表达降低, Bel7402 细胞中 PKM1 蛋白表达增加, 半枝莲组和药对组 Panc28 细胞及 Bel7402 细胞中 PKM1 表达增加, PKM2 表达降低 ($P < 0.05$)。与药对组比较, 白花蛇舌草组和半枝莲组 Panc28 细胞及 Bel7402 细胞中 PKM1 表达降低, PKM2 表达升高 ($P < 0.05$)。各组 Panc28 细胞及 Bel7402 细胞中 PKM1、PKM2 蛋白电泳图见图 2。

3 讨论

药对是依据中医基础理论、中药药性理论总结出来的, 并经过长期临床检验的方剂形式, 白花蛇舌草-半枝莲药对常出现于临床治疗肿瘤的经验方中^[1]。本研究结果表明, 相比白花蛇舌草和半枝莲单药, 其药对组合表现出更显著的抑瘤作用, 且对体重影响较小, 说明其毒性低、耐受性较好。同时药对组对 Panc28、Bel7402 肿瘤细胞的 IC_{50} 明显低于白花蛇舌草组和半枝莲组, 说明白花蛇舌草-半枝莲药对组抗肿瘤活性明显比单药强。

肿瘤的发生、发展离不开能量的供应, 糖酵解途径是肿瘤细胞的主要供能方式, 即使是在氧气供应充足的情况下也优先进行糖酵解, 而非线粒体的氧化磷酸化, 这种异常代谢现象即为“Warburg”效应^[2]。活跃的糖酵解代谢已成为恶性肿瘤最显著的特征之一^[3], 故葡萄糖摄取量和乳酸的积累量的升高是肿瘤糖酵解增强的重要标准。本研究结

果表明,药对组葡萄糖摄取量和乳酸水平明显低于白花蛇舌草组和半枝莲组,提示二者可协同抑制糖酵解过程。

丙酮酸激酶(PK)是糖酵解3个限速酶之一,也是糖酵解催化反应的最后一步,M型PK(PKM)产生编码PKM1和PKM2的剪接变体,PKM2是肿瘤细胞中最主要的PK形式^[4]。PKM1可持续活化,可以根据细胞需要转化为高活性的PKM2^[5]。本研究结果显示,白花蛇舌草和半枝莲均可以显著增加Bel7402细胞PKM1表达,并显著抑制Panc28细胞及Bel7402细胞中PKM2的表达,且药对组对PKM2的抑制作用大于单味药,升高PKM1表达亦优于单味药,说明PKM可能是白花蛇舌草和半枝莲协同抑制糖酵解的重要靶点之一。因中药多具有多途径、多靶点等特征,白花蛇舌草-半枝莲药对对糖酵解途径中的其他可能靶点的影响有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 魏佳明,朱俊平,刘瑞连,等. 古代经典名方的药对研究[J]. 中医药临床杂志,2019,31(6):999-1003.
- [2] 李相陵,钱志瑶,范菊娣,等. 半枝莲活性物质含量测定及RAPD遗传多样性分析[J]. 中药材,2018,41(7):1571-1576.
- [3] 王骁,范焕芳,李德辉,等. 白花蛇舌草的抗癌作用研究进展[J]. 中国药房,2019,30(10):1428-1431.
- [4] 范沈祥,陈建明,王明泉. 扶正化毒汤用于胃癌术后105例[J]. 中国中西医结合外科杂志,2008,14(6):595-596.
- [5] 余朋千,唯文发. 实用中西医肿瘤治疗大全[M]. 重庆:重庆大学出版社,1995:179.
- [6] 宋燕,刘春花,于杰. 扶正解毒汤治疗宫颈癌的安全性探究[J]. 光明中医,2018,33(15):2200-2202.
- [7] 陈友芝,何晓. 陈友芝中医治癌百例[M]. 杭州:浙江人民出版社,2007:327.
- [8] 陈洪. 肿瘤和方加减治疗胃癌康复期20例[J]. 福建中医药,1997,28(1):24-25.
- [9] YEH YC, CHEN HY, YANG SH, et al. Hedyotis diffusa combined with Scutellaria barbata are the core treatment of Chinese herbal medicine used for breast cancer patients: a population-based study[J]. Evid Based Complement Alternat Med,2014,2014:202378. doi: 10.1155/2014/202378.
- [10] SHEUNG PY, GUO WP, RONG ZB, et al. Hedyotis diffusa plus scutellaria barbata induce bladder cancer cell apoptosis by inhibiting akt signaling pathway through downregulating miR-155 expression[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2016,2016:9174903. doi: 10.1155/2016/9174903.
- [11] 欧水平,王森,陈灵,等. 白花蛇舌草-半枝莲药对配伍研究分析[J]. 中国中医基础医学杂志,2015,21(2):215-217.
- [12] VANDER HEIDEN MG, CANTLEY LC, THOMPSON CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation[J]. Science, 2009,324(5930):1029-1033.
- [13] AMIN S, YANG P, LI Z. Pyruvate kinase M2: a multifarious enzyme in non-canonical localization to promote cancer progression[J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2019,1871(2):331-341.
- [14] SCHWARTZ L, SUPURAN CT, ALFAROUK KO. The warburg effect and the hallmarks of cancer[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2017,17(2):164-170.
- [15] YANG W, LU Z. Nuclear PKM2 regulates the Warburg effect[J]. Cell Cycle, 2013,12(19):3154-3158.

Effects of *Herba Hedyotis*, *Herba Scutellariae Barbatae* and Their Drug Pair Compatibility on the Glucose Uptake Capacity and Lactate Levels of Panc28 Cells of Human Pancreatic and Bel7402 Cells of Liver Cancer

LIU Xiaohui, ZHAN Sheng, LIN Xiukun, XU Huanli

School of Basic Medical Sciences, Capital Medical University, Beijing, 100069

ABSTRACT Objective To explore the anti-tumor effects and possible mechanism of *Herba Hedyotis*, *Herba Scutellariae Barbatae* and their drug pair combination. **Methods** Human pancreatic cancer Panc28 cells were inoculated subcutaneously in the armpits of BALB/c female mice. When the subcutaneous transplanted tumor grew to about 100 mm³, the drug was administered. The cytoxan for injection (50 mg/kg) was used as a positive control. *Herba Hedyotis*, *Herba Scutellariae Barbatae*, *Herba Hedyotis* with *Herba Scutellariae Barbatae* were injected intraperitoneally into the concentrated solution at 200 mg/kg, once every other day for 8 times, and the tumor volume and body weight of mice were measured every other day. Panc28 and human liver cancer Bel7402 cells in logarithmic growth phase were cultured and was divided into a control group, a *Herba Hedyotis* group, a *Herba Scutellariae Barbatae* group, and a drug pair group. All group but the control group were added with the concentrations of 400, 200, 100, 50 and 25 μg/ml of *Herba Hedyotis* concentrate, *Herba Scutellariae Barbatae* Concentrate, and *Herba Hedyotis* with *Herba*

Scutellariae Barbatae respectively concentrate for 48 hours to detect cells inhibition rate under different concentrations and calculate half the inhibitory concentration (IC_{50}). We observed relative content of glucose and lactate in supernate after 24 h treated with the final concentration 50 $\mu\text{g/ml}$ *Herba Hedyotis* single decoction concentrate, *Herba Scutellariae Barbatae* single decoction concentrate, and *Herba Hedyotis*, *Herba Scutellariae Barbatae* mixed decoction concentrate and the expression of pyruvate kinase 1 (PKM1) and pyruvate kinase 2 (PKM2) proteins after 48 hours.

Results The transplanted tumor volume of the drug pair group and the positive control group of mice was smaller than that of *Herba Hedyotis* group, *Herba Scutellariae Barbatae* group ($P < 0.05$). All drugs had no effects on the body weight of the mice ($P > 0.05$). Compared with the *Herba Hedyotis* group and *Herba Scutellariae Barbatae* group, the IC_{50} of Panc28 cells and Bel7402 cells in the drug-pair group decreased, and the relative glucose uptake and lactate levels were significantly reduced ($P < 0.05$), while PKM1 protein expression increased in Panc28 cells and Bel7402 cells, and PKM2 protein expression decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** *Herba Hedyotis*, and *Herba Scutellariae Barbatae* drug pair could inhibit tumor growth, and its mechanism may be related to the inhibition of tumor cell glycolysis.

Keywords *Herba Hedyotis*, *Herba Scutellariae Barbatae*; pancreatic cancer; liver cancer; tumor volume; glycolysis; pyruvate kinase

(收稿日期: 2019-08-28; 修回日期: 2019-12-03)

编辑: 邓 媛

(上接第 889 页)

Effects of *Jianpi Huatan Formula* (健脾化痰方) on Endothelial Function of Small Pig Model of Hyperlipidemia with Spleen Deficiency and Phlegm Turbid Syndrome

LI Qin¹, ZHANG Huiyong¹, ZHOU He¹, PANG Linlin¹, LI Jia¹, XIAO Chengyu¹, YANG Guanlin²

1. Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang, 110032; 2. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine

ABSTRACT **Objective** To explore the possible mechanism of *Jianpi Huatan Formula* (健脾化痰方) in the treatment of hyperlipidemia with spleen deficiency and phlegm turbid syndrome. **Methods** A total of 15 ordinary Guangxi Bama minipigs were randomly divided into a normal group, a model group and a treatment group, with 5 in each group. The normal group was fed with basic feed, the model group and the treatment group were fed with high-fat feed for 24 weeks to establish a small pig model of hyperlipidemia with spleen deficiency and phlegm turbidity syndrome. The treatment group was given *Jianpi Huatan Formula Granules* (健脾化痰方颗粒剂) at the same time given high-fat feed. The granules were dissolved in 100 ml of normal saline and evenly mixed into the feed. One dose per day for 24 weeks. At 0 week and 24 weeks, fasting auricular venous blood of the minipigs was collected to detect the levels of nitric oxide (NO), endothelial nitric oxide synthase (eNOS), inducible nitric oxide synthase (iNOS), total nitric oxide synthase (tNOS), serum endothelin 1 (ET-1) and intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1). After 24 weeks, the endothelial function index and ET-1, ICAM-1 level in endothelium homogenate of coronary artery was measured. **Results** At 24 weeks, compared with the control group, the levels of tNOS, iNOS, ET-1, ICAM-1 were increased, and the levels of eNOS, NO were decreased in the model group ($P < 0.05$). Compared with the model group, the levels of tNOS, iNOS, ET-1, ICAM-1 in minipig serum and coronary artery endothelial tissue homogenate were decreased, and the levels of eNOS and NO were increased ($P < 0.05$). **Conclusion** *Jianpi Huatan Formula* (健脾化痰方) can effectively improve the function of endothelium, which may be one of the mechanisms of its treatment of hyperlipidemia with spleen deficiency and phlegm turbid syndrome.

Keywords hyperlipidemia; spleen deficiency and phlegm turbid syndrome; *Jianpi Huatan Formula* 健脾化痰方; endothelial function; nitric oxide synthetase

(收稿日期: 2019-08-22; 修回日期: 2019-11-21)

编辑: 邓 媛