

文章编号: 1005-8982(2015)36-0001-06

· 论著 ·

隐丹参酮对细胞色素 P450 酶 CYP3A4 和 CYP2C9 的影响*

王彧杰, 王蓉, 王媛媛, 原永芳

(上海交通大学医学院附属第三人民医院 药剂科, 上海 201999)

摘要: 目的 研究丹参中脂溶性成分隐丹参酮对 Chang 肝脏细胞细胞色素 P450 酶(CYP450)CYP3A4、CYP2C9 表达的影响,明确丹参主要成分对 CYP450 酶的作用,以阐明基于 CYP450 酶隐丹参酮与其他药物间相互作用的分子基础,为临床合理使用含隐丹参酮的丹参制剂提供依据。方法 采用 CCK-8 法考察隐丹参酮对 Chang 肝脏细胞活力的影响,以确定药物的给药剂量范围;通过 Western blotting 法考察隐丹参酮在给药后 1、3 和 7 d 对 Chang 肝脏细胞中 CYP3A4 和 CYP2C9 蛋白表达的影响;通过定量 RT-PCR 法考察隐丹参酮对 Chang 肝脏细胞中 CYP3A4 和 CYP2C9 mRNA 表达的影响。结果 给药 1 d,隐丹参酮对 CYP3A4 蛋白及 mRNA 表达无显著影响。但随时间延长,给药 3 d 和 7 d,隐丹参酮可抑制 CYP3A4 蛋白及 mRNA 的表达($P < 0.05$)。给药 1、3 和 7 d,隐丹参酮对 CYP2C9 蛋白及 mRNA 的表达均无显著影响。结论 连续给予隐丹参酮可抑制 CYP3A4 mRNA 和蛋白的表达。提示临床在连续使用含隐丹参酮时,需要关注其与 CYP3A4 底物药物之间可能的相互作用。

关键词: 隐丹参酮;Chang 肝脏细胞;CYP3A4;CYP2C9

中图分类号: R943

文献标识码: A

Effects of Cryptotanshinone on CYP3A4 and CYP2C9 expressions*

Yu-jie WANG, Rong WANG, Yuan-yuan WANG, Yong-fang YUAN

(Department of Pharmacy, the Third People's Hospital, School of Medicine,
Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201999, P.R. China)

Abstract: [Objective] To investigate the effects of Cryptotanshinone on CYP3A4 and CYP2C9 expressions in Chang liver cells, confirm its effect on cytochrome P450 enzyme and analyze the drug-drug interaction so as to lay a foundation for rational medicine administration. [Methods] CCK-8 assay was performed to determine the proliferation of Chang liver cells after treatment with Cryptotanshinone for 1 day, 3 and 7 days. Quantificational reverse transcription polymerase chain reaction and Western blot were performed to determine mRNA and protein expressions of CYP3A4 and CYP2C9 respectively. [Results] After 1-day treatment, Cryptotanshinone had no effect on protein or mRNA expression of CYP3A4. However, Cryptotanshinone significantly inhibited the mRNA and protein expressions of CYP3A4 ($P < 0.05$) after 3- and 7-day treatment, and had no significant effect on the mRNA and protein expressions of CYP2C9 after 1-, 3- or 7-day treatment. [Conclusions] Continual administration of Cryptotanshinone could inhibit the protein and mRNA expressions of CYP3A4, which suggests that the drug-drug interaction should be concerned about in clinic.

Key words: Cryptotanshinone; Chang liver cell; CYP3A4; CYP2C9

收稿日期: 2015-08-12

* 基金项目: 国家自然科学基金(No:81373375), 上海交通大学医学院科研基金(No:14XJ10067)

[通信作者] 原永芳, E-mail: nmxyyf@126.com; Tel: 021-56786907

· 1 ·

隐丹参酮是丹参中主要脂溶性成分之一,属于二萜醌类化合物,可抑制细胞黏附分子的表达,具有抗炎和抑制免疫黏附的作用^[1],可用于心血管疾病的治疗。近期研究发现隐丹参酮具有抗肿瘤活性,可以通过抑制 mTOR 信号通路,抑制肿瘤细胞生长^[2];通过抑制血管生成,促进肿瘤细胞凋亡^[3];通过抑制肿瘤细胞黏附而减少肿瘤细胞的转移^[4]。然而,已有研究发现隐丹参酮可影响其他药物的代谢^[5-6]。

近年来,随着合理用药认识的不断增强,发现许多中草药存在药物相互作用^[7]。而这些相互作用大多与肝脏药物代谢酶有关。在肝脏药物代谢酶的研究中,细胞色素 P450 酶(cytochromes P450,CYP450)是一类重要的氧化酶系统,与许多内源性和外源性物质的生物转化有关^[8]。约有 75%的药物通过 CYP450 酶系中 CYP3A4^[9]和 CYP2C9^[10]亚型代谢,是药物代谢的主要途径。在含有隐丹参酮成分的丹参制剂研究中已发现,丹参通过 CYP3A4 和 CYP2C9 与咪达唑仑^[11]、5-氟尿嘧啶^[12]、氯沙坦^[13]、环孢素 A^[14]、华法林等^[15]药物间存在相互作用。隐丹参酮在肝微粒体中可竞争性抑制 CYP2C9 的活性^[16],然而隐丹参酮对肝细胞中 CYP3A4、CYP2C9 表达的影响尚未见报道。故本研究将揭示隐丹参酮对 CYP3A4 和 CYP2C9 蛋白及 mRNA 的变化,进而阐明隐丹参酮的药物代谢途径。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

Chang 肝脏细胞(上海中科院细胞研究所),RPMI 1640 培养基、10%胎牛血清(美国 Hyclone 公司),0.25%胰蛋白酶-0.02%EDTA、青-链霉素(美国 Gibco 公司),隐丹参酮(批号:110852,纯度>98%)(中国食品药品检定所),CCK-8 试剂盒(日本 Dojindo 公司),BCA 蛋白浓度测定试剂盒、苯甲基磺酰氟(PMSF)、RIPA 裂解液、SDS-PAGE 上样缓冲液(江苏碧云天生物有限公司),CYP3A4 抗体(美国 Merk Millipore 公司),CYP2C9 抗体(英国 Abcam 公司),辣根过氧化物酶标记的甘油醛-3-磷酸脱氢酶(HRP-GAPDH,上海康成生物工程有限公司),化学发光试剂盒(美国 Thermo 公司),Trizol 试剂(美国 Invitrogen 公司),逆转录试剂盒、SYBR Premix Ex Taq™ II(日本 TaKaRa 公司)。

1.2 仪器与设备

恒温二氧化碳 CO₂ 培养箱(美国 Thermal 公司),

酶标仪、免疫印迹电泳转膜仪(美国 Bio-RAD 公司),凝胶图像分析系统(法国 Vilber 公司),PCR 热循环仪、7500 实时荧光定量 PCR 系统(美国 Life Technologies 公司),ND2000 超微量分光光度计(美国 nanodrop 公司),低温高速离心机(美国 Beckman Coulter 公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 细胞培养 Chang 肝脏细胞培养于含有 10% FBS、1%青-链霉素的 RPMI 1640 培养基,37℃、5%二氧化碳 CO₂ 饱和湿度培养箱内。当单层贴壁细胞覆盖培养皿 70%~80%时,用 0.25%胰蛋白酶消化 90 s,进行细胞传代。

1.3.2 细胞存活率检测 取对数生长期的 Chang 肝脏细胞,制成单细胞悬液,接种于 96 孔板,每孔接种密度为 1×10⁵ 个/ml,在 37℃、5%二氧化碳 CO₂ 的培养箱内培养,至细胞单层铺满孔底,弃去培养基,分别加入含不同浓度的隐丹参酮(10、100、1 000、10 000 μmol)的培养基 100 μl,每个浓度设置 5 个复孔,同时设置只含细胞培养液的空白组、未经药物处理的细胞对照组。在 37℃、5%二氧化碳 CO₂ 的培养箱内分别培养 24、48 h 后,加入 10 μl CCK-8 溶液,继续培养 1 h,取上清液 50 μl,用酶标仪检测每孔在 450 nm 处的吸光度值。其中细胞存活率(%)=[(As-Ab)/(Ac-Ab)]×100%。As 为实验孔(含有细胞的培养基、CCK-8 和隐丹参酮),Ac 为对照孔(含有细胞的培养基和 CCK8,不含隐丹参酮),Ab 为空白孔(不含细胞和隐丹参酮的培养基、CCK-8)。

1.3.3 Western blot 法 细胞接种于培养皿中,隐丹参酮高低剂量组每天分别给予 10 和 100 μmol 隐丹参酮,CYP3A4 和 CYP2C9 阳性对照组给予 100 μmol 利福平,CYP3A4 阴性对照组给予 100 μmol 浓度酮康唑。处理 1、3 和 7 d 后,用预冷的 PBS 清洗细胞 3 次,加入含有 PMSF 的蛋白裂解液裂解细胞 200 μl,收集各组细胞裂解产物,上述操作均在冰上进行。裂解 30 min 后,4℃,12 000 r/min 离心 15 min,取上清液,用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量。调整蛋白浓度一致后,加入 1/4 体积的 5×上样缓冲液,涡旋混匀,在 100℃水浴中煮沸 10 min 使蛋白变性。配制 5%浓缩胶、10%分离胶,根据蛋白浓度决定加样量。浓缩胶用电压 100 V 电泳,当样品移动到分离胶后改用 120 V 电压至结束。取下凝胶,在 100 V 电压下,将凝胶上蛋白转至 PVDF 膜 100 min,5%脱脂牛奶室温封闭 2 h。含有目的蛋白的 PVDF 膜分别

加入一抗,CYP3A4(1:2 000)、CYP2C9(1:2 000),GAPDH (1:5 000),4℃摇床孵育过夜。次日,用 TBST 溶液洗膜 3 次,后加入 1:2 000 稀释的二抗,室温孵育 1 h,TBST 洗膜 3 次;化学发光试剂显色发光,通过凝胶图像分析系统成像。

1.3.4 定量 RT-PCR 法 Chang 肝脏细胞接种于细胞培养皿中,接种密度 1×10^6 个/ml,在 37℃、5% 二氧化碳 CO₂ 培养箱中培养。待细胞单层贴壁生长至 70%时,每天隐丹参酮高低剂量组分别给予 100 μmol 和 10 μmol 隐丹参酮,CYP3A4 和 CYP2C9 阳性对照组给予 100 μmol 利福平,CYP3A4 阴性对照组给予 100 μmol 浓度酮康唑,空白对照组给予仅含有 10% FBS、1%青-链霉素的 RPMI 1640 培养基溶液。处理 1、3 和 7 d。培养结束后,弃去培养液,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 2 次后,依次加入 Trizol、氯仿、异丙醇、75%酒精等试剂提取细胞总 RNA,超微量分光光度计测定 RNA 浓度。根据 TaKaRa 逆转录试剂盒说明书,将 RNA 反转录为 cDNA。再根据 TaKaRa 定量 PCR 试剂盒说明书,用 cDNA 作为模板,通过 SYBR 法进行实时定量 PCR 反应。反应条件如下:95℃预变性 30 s,PCR 反应 95℃、5 s,60℃、34 s,循环数为 40 次,测定融解曲线,通过 Ct 值计算相对表达量 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。以 GAPDH 为内参,引物由上海生物工程技术有限公司合成,引物序列见表 1。

表 1 RT-PCR 引物序列

引物名称	序列	扩增产物长度 /bp
CYP3A4	正向引物:5'-CCCCTGAAATTAAGCTTAGGAG-3'	162
	反向引物:5'-TAATTTGAGGTCTCTGGTGTCTCA-3'	
CYP2C9	正向引物:5'-AACGGATTTGTGTGGGAGAA-3'	121
	反向引物:5'-GGCCATCTGCTCTTCTTCAG-3'	
GAPDH	正向引物:5'-CCTTCATTGACCTCAACTA-3'	594
	反向引物:5'-GGAAGGCCATGCCAGTGAGC-3'	

1.4 统计学方法

细胞活力测定和蛋白表达量测定采用 Graph Pad Prism 5 统计软件进行数据分析,用 SPSS 19.0 统计软件进行定量 PCR 测定。计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间差异比较用方差分析,两两比较用 LSD-*t* 检验,分析前进行方差齐性检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 隐丹参酮对 Chang 肝脏细胞存活率的影响

隐丹参酮在 10、100 和 1 000 和 10 000 μmol 浓度下干预细胞 24 h 对细胞影响小,细胞生存率分别为 $(114.36 \pm 4.13)\%$ 、 $(76.43 \pm 3.32)\%$ 、 $(104.98 \pm 7.50)\%$ 和 $(135.97 \pm 3.81)\%$,细胞存活率均高于 50%。作用 48 h 后,细胞存活率略有下降,分别为 $(82.43 \pm 8.01)\%$ 、 $(102.28 \pm 6.91)\%$ 、 $(99.49 \pm 8.26)\%$ 和 $(105.18 \pm 0.67)\%$,但细胞存活率仍均高于 50%。见图 1。

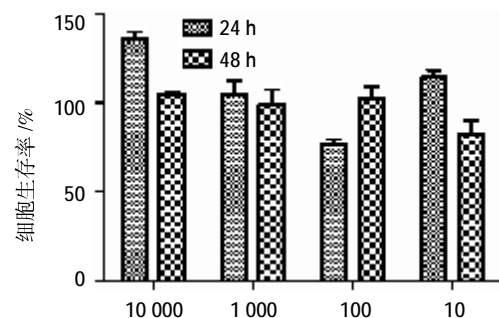


图 1 隐丹参酮对 Chang 肝脏细胞生存率影响

2.2 隐丹参酮对 CYP3A4、CYP2C9 蛋白表达的影响

2.2.1 隐丹参酮对 CYP3A4 蛋白表达的影响 10 μmol、100 μmol 隐丹参酮干预 Chang 肝脏细胞 1 d 后,CYP3A4 蛋白的表达相比于空白对照组略有下降,结果分别为 (0.84 ± 0.05) 和 (0.91 ± 0.03) 。随着隐丹参酮干预时间的延长,即 3 d 后,Chang 肝脏细胞 CYP3A4 蛋白的表达较空白对照组比较有下降,结果分别为 (0.68 ± 0.83) 和 (0.78 ± 0.13) 。隐丹参酮干预 Chang 肝脏细胞 7 d 后,对 CYP3A4 蛋白的抑制作用更为明显,结果分别为 (0.60 ± 0.13) 和 (0.70 ± 0.02) ,与 CYP3A4 抑制剂酮康唑组对蛋白的抑制作用相近。见图 2。

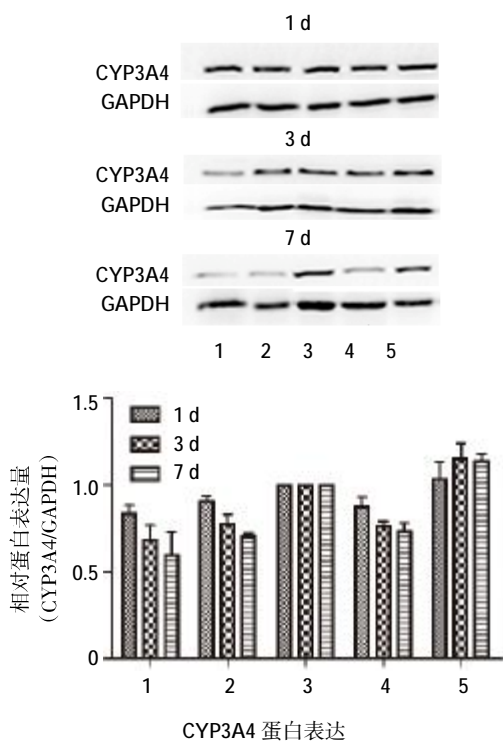
2.2.2 隐丹参酮对 CYP2C9 蛋白表达的影响 10 μmol 隐丹参酮干预 Chang 肝脏细胞 1、3 和 7 d 后,CYP2C9 蛋白的表达与空白对照组相比 CYP2C9 蛋白的表达差异无统计学意义,结果分别为 (0.94 ± 0.14) 、 (0.96 ± 0.20) 和 (0.83 ± 0.19) 。100 μmol 隐丹参酮干预 Chang 肝脏细胞 1、3 和 7 d 后,与空白对照组比较 CYP2C9 蛋白的表达差异无统计学意义,结果分别为 (1.19 ± 0.24) 、 (1.05 ± 0.09) 和 (1.10 ± 0.15) ,见图 3。

2.3 隐丹参酮对 CYP3A4 mRNA、CYP2C9 mRNA 表达的影响

2.3.1 隐丹参酮对 CYP3A4 mRNA 表达的影响 10 μmol 隐丹参酮干预 Chang 肝脏细胞 1 d 后对

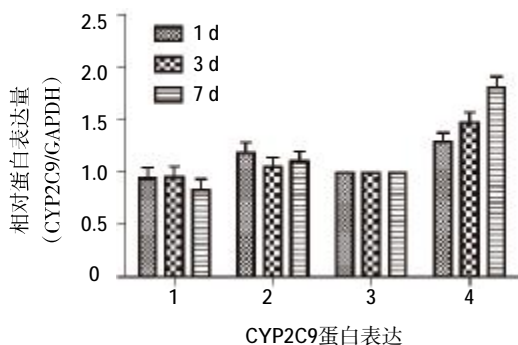
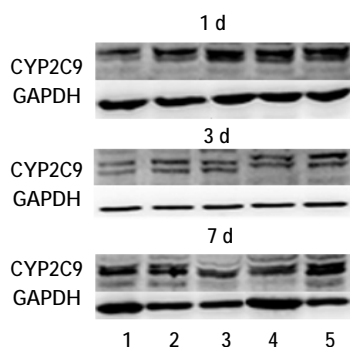
CYP3A4 mRNA 表达无显著影响, 结果为 (0.86 ± 0.19) , 而持续给予 $10 \mu\text{mol}$ 隐丹参酮 3 d 和 7 d 后 CYP3A4 mRNA 表达下降, 结果分别为 (0.31 ± 0.09) 和 (0.56 ± 0.04) 。 $100 \mu\text{mol}$ 隐丹参酮干预 Chang 肝脏细胞 1 d 后对 CYP3A4 mRNA 的表达也无显著影响, 结果为 (1.11 ± 0.03) , 而持续给予 $100 \mu\text{mol}$ 隐丹参酮 3 d 和 7 d 后, 逐步抑制 CYP3A4 mRNA 的表达, 结果分别为 (0.80 ± 0.05) 和 (0.74 ± 0.04) , 见图 4。

2.3.2 隐丹参酮对 CYP2C9 mRNA 表达的影响
 $10 \mu\text{mol}$ 隐丹参酮干预 Chang 肝脏细胞 1、3 和 7 d 后对 CYP2C9 mRNA 的表达无显著影响, 结果分别为 (1.14 ± 0.17) 、 (0.81 ± 0.08) 和 (0.97 ± 0.07) 。 $100 \mu\text{mol}$



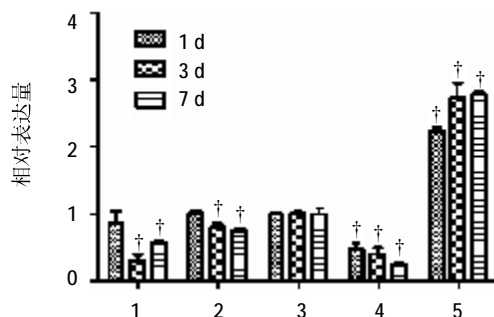
1: Cry $10 \mu\text{mol}$: 隐丹参酮低剂量组; 2: Cry $100 \mu\text{mol}$: 隐丹参酮高剂量组; 3: Contorl: 空白对照组; 4: KET $100 \mu\text{mol}$: 阴性对照组; 5: RIF $100 \mu\text{mol}$: 阳性对照组

图 2 隐丹参酮对 CYP3A4 蛋白表达的影响



1: Cry $10 \mu\text{mol}$: 隐丹参酮低剂量组; 2: Cry $100 \mu\text{mol}$: 隐丹参酮高剂量组; 3: Contorl: 空白对照组; 4: RIF $100 \mu\text{mol}$: 阳性对照组

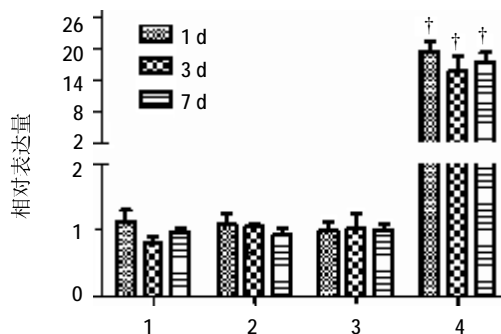
图 3 隐丹参酮对 CYP2C9 蛋白表达的影响



1: CRY $10 \mu\text{mol}$: 隐丹参酮低剂量组; 2: CRY $100 \mu\text{mol}$: 隐丹参酮高剂量组; 3: Contorl: 空白对照组; 4: KET $100 \mu\text{mol}$: 阴性对照组; 5: RIF $100 \mu\text{mol}$: 阳性对照组; † 与 Contorl 组比较, $P < 0.05$

图 4 隐丹参酮对 CYP3A4 mRNA 表达的影响

隐丹参酮干预 Chang 肝脏细胞 1、3 和 7 d 后, 也对 CYP2C9 mRNA 的表达无显著影响, 结果分别为 (1.10 ± 0.16) 、 (1.05 ± 0.05) 和 (0.93 ± 0.10) 。见图 5。



1: CRY $10 \mu\text{mol}$: 隐丹参酮低剂量组; 2: CRY $100 \mu\text{mol}$: 隐丹参酮高剂量组; 3: Contorl: 空白对照组; 4: RIF $100 \mu\text{mol}$: 阳性对照组; † 与 Contorl 组比较, $P < 0.05$

图 5 隐丹参酮对 CYP2C9 mRNA 表达的影响

3 讨论

在 Chang 肝脏细胞的体外研究中, 隐丹参酮对细胞毒性的影响较小, 在 $10 \sim 10\,000 \mu\text{mol}$ 浓度下培

养 48 h 内细胞生存率均大于 50%。但隐丹参酮是丹参中的脂溶性成分,1 000 μmol 和 10 000 μmol 的隐丹参酮不能完全溶解于 PRMI 1640 培养液中,而在前期研究中笔者发现常用的助溶剂——二甲亚砜会影响 P450 酶的表达^[18]。此外已有文献报道,1 000 μmol 、10 000 μmol 隐丹参酮干预结肠癌细胞以及 HepG2 细胞,细胞生存率低于 50%^[19-20]。因此,在研究隐丹参酮对 CYP450 酶的影响中,选用 10 μmol 和 100 μmol 两个浓度。

研究结果表明 10 μmol 和 100 μmol 隐丹参酮可影响 CYP3A4 蛋白和 mRNA 的表达,而对 CYP2C9 蛋白及 mRNA 的表达无显著影响。已有学者研究发现,隐丹参酮可以抑制 LS174T 细胞中 PXR 的表达^[21]。PXR 是 CYP3A4 基因转录的启动子,隐丹参酮可以通过 PXR 通路抑制 Chang 肝脏细胞中 CYP3A4 基因的转录,从而减少 CYP3A4 mRNA 和蛋白的表达。然而,本实验发现隐丹参酮干预 1 d 没有对 CYP3A4 mRNA 及蛋白的表达产生显著的影响,但随着干预时间的延长隐丹参酮可抑制 CYP3A4 蛋白和 mRNA 的表达。已有报道其他中草药对 P450 酶系也存在相似的情况^[22],但机制尚不明确。由此提示在长期使用隐丹参酮时应关注其与经 CYP3A4 酶代谢的药物间的相互作用。在慢性疾病或其他需要长期服药的疾病中,许多药物是 CYP3A4 代谢酶为底物,包括硝苯地平、氨氯地平、阿普唑仑、环孢素、他克莫司、辛伐他汀等。若在临床上需长期联合使用含隐丹参酮制剂与 CYP3A4 代谢酶为底物的药物时,应注意可能由于药物代谢减慢而出现的不良反应。

本研究发现 10 μmol 和 100 μmol 隐丹参酮对 CYP2C9 蛋白及 mRNA 的表达无显著影响。这可能是因为尽管隐丹参酮可抑制 PXR 的表达,但 CYP2C9 的转录还会受到 HNF4^[23]、GATA-4^[24]、CAR 等转录因子的调控,所以综合因素下未受到影响。因此,隐丹参酮对细胞色素 P450 酶的影响应主要关注其对 CYP3A4 的影响,而对 CYP2C9 无显著影响。

参 考 文 献:

- [1] XIU C, MI S, WANG N. The effect of cryptotanshinone on the expression of ICAM-1 in TNF- α -induced human umbilical vein endothelial cells[J]. *Pharmacology & Clinics of Chinese Materia Medica*, 2009, 25(2): 16-19.
- [2] CHEN, WX, LU Y, CHEN GY. et al. Molecular evidence of

- cryptotanshinone for treatment and prevention of human cancer[J]. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2013, 13(7): 979-987.
- [3] LUO Y, CHEN W, ZHOU H, et al. Cryptotanshinone inhibits lymphatic endothelial cell tube formation by suppressing VEGFR-3/ERK and small GTPase pathways[J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2011, 4(12): 2083-2091.
- [4] 叶欢,阮君山,王少明,等. 隐丹参酮抗肿瘤转移的研究进展[J]. *中国药理学通报*, 2014, 7: 893-896.
- [5] QIU F. Effects of danshen ethanol extract on the pharmacokinetics of fexofenadine in healthy volunteers[J]. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, 2014, 2014: 473213-473213.
- [6] MING C, HU CM, CAO YF, et al. Cryptotanshinone and dihydrodrotanshinone I exhibit strong inhibition towards human liver microsomal (HLM)-catalyzed propofol glucuronidation[J]. *Fitoterapia*, 2013, 85(1): 109-113.
- [7] BUDZINSKI JW, FOSTER B C, VANDENHOEK S, et al. An in vitro evaluation of human cytochrome P450 3A4 inhibition by selected commercial herbal extracts and tinctures[J]. *Phytomedicine*, 2000, 7(4): 273-282.
- [8] RENDIC S. Summary of information on human CYP enzymes: human P450 metabolism data[J]. *Drug Metabolism Reviews*, 2002, 34(1/2): 83-448.
- [9] SEVRIOUKOVA IF, POULOS T.L. Understanding the mechanism of cytochrome P450 3A4: recent advances and remaining problems[J]. *Dalton Trans*, 2013, 42: 3116-3126.
- [10] ZHOU SF, ZHOU ZW, YANG LP, et al. Substrates, inducers, inhibitors and structure-activity relationships of human Cytochrome P450 2C9 and implications in drug development[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2009, 16: 3480-3675.
- [11] QIU F. Activation of CYP3A-mediated testosterone 6 β -hydroxylation by tanshinone IIA and midazolam 1-hydroxylation by cryptotanshinone in human liver microsomes[J]. *Xenobiotica*, 2010, 40(12): 800-806.
- [12] GU CX, QIAO JP, ZHU ML, et al. Preliminary Evaluation of the Interactions of Panax ginseng and Salvia miltiorrhiza Bunge with 5-Fluorouracil on Pharmacokinetics in Rats and Pharmacodynamics in Human cells[J]. *American Journal of Chinese Medicine*, 2013, 41(2): 443-458.
- [13] YUAN YF, ZHANG H, MA WN, et al. Influence of compound danshen tablet on the pharmacokinetics of losartan and its metabolite EXP3174 by liquid chromatography coupled with mass spectrometry[J]. *Biomedical Chromatography*, 2013, 27(9): 1219-1224.
- [14] 李明春,梁东升,王春燕,等. 复方丹参滴丸对环孢素 A 药动学的影响[C]. 第六届全国青年药学科工作者最新科研成果学术交流会论文集, 2002: 244.
- [15] CHAN TYK. Interaction between warfarin and danshen (*Salvia miltiorrhiza*) [J]. *Annals of Pharmacotherapy*, 2001, 35(4): 501-504.
- [16] QIU F, ZHANG R, SUN J, et al. Inhibitory effects of seven components of danshen extract on catalytic activity of cy-

- tochrome P450 enzyme in human liver microsomes [J]. *Drug Metab Dispos*, 2008, 36(7): 1308-1314.
- [17] LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(T) (-Delta Delta C) method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [18] 王彧杰, 王媛媛, 王蓉, 等. 二甲亚砜对细胞色素 P450 酶 3A4 和 2C9 的影响[J]. *中国医药导报*, 2014(36): 4-8.
- [19] HU T, TO KK, WANG L, et al. Reversal of P-glycoprotein (P-gp) mediated multidrug resistance in colon cancer cells by cryptotanshinone and dihydrotanshinone of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(11): 1264-1272.
- [20] LEE WY, CHIU LC, YEUNG JH. Cytotoxicity of major tanshinones isolated from Danshen (*Salvia miltiorrhiza*) on HepG2 cells in relation to glutathione perturbation[J]. *Food Chem Toxicol*, 2008, 46(1): 328-338.
- [21] LIU YH, MO SL, BI HC, et al. Regulation of human pregnane X receptor and its target gene cytochrome P450 3A4 by Chinese herbal compounds and a molecular docking study [J]. *Xenobiotica*, 2011, 41(4): 259-280.
- [22] WANG X, HU X, CHEN G, et al. Effects of vitexin on the pharmacokinetics and mRNA expression of CYP isozymes in rats[J]. *Phytotherapy Research*, 2015, 29(3): 366-372.
- [23] JOVER R, BORT R, GOMEZ-LECHON MJ, et al. Cytochrome P450 regulation by hepatocyte nuclear factor 4 in human hepatocytes: A study using adenovirus-mediated antisense targeting [J]. *Hepatology*, 2001, 33(3): 668-675.
- [24] MWINYI J, NEKVINDOVA J, CAVACO I, et al. New Insights into the regulation of CYP2C9 gene expression: the role of the transcription factor GATA-4 [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2010, 38(3): 415-421.

(张蕾 编辑)