

复方丹参方对大鼠心脏细胞色素 P450 酶的影响

胡东华^{1,2}, 王宇光^{2*}, 陈志武¹, 马增春², 梁乾德², 肖成荣², 谭洪玲², 汤响林², 张伯礼³, 高月^{2*}

1. 安徽医科大学 药理教研室, 安徽 合肥 230032

2. 军事医学科学院放射医学研究所药理毒理研究所, 北京 100850

3. 天津中医药大学, 天津 300193

摘要: 目的 研究复方丹参方及其单味药对大鼠心脏细胞色素 P450 酶 (CYPs) 主要亚型的影响。方法 雄性 SD 大鼠随机分为 5 组, 分别用复方丹参方 [0.32 g/(kg·d)]、丹参 [0.27 g/(kg·d)]、三七 [0.05 g/(kg·d)]、冰片 [0.003 g/(kg·d)] 或生理盐水连续 ig 诱导处理 28 d, 取各组大鼠心脏组织, 利用 Real Time 荧光定量 PCR 技术检测各组大鼠心脏 CYPs 各亚型 mRNA 表达水平的变化。结果 与对照组比较, 复方丹参方对大鼠心脏 CYP1B1、CYP2B1、CYP2E1、CYP4A1 和 CYP4F4 的 mRNA 表达有下调趋势 ($P < 0.05$)。丹参对 CYP1A1、CYP1B1、CYP2B1、CYP2C11、CYP2E1、CYP2J3、CYP4A1、CYP4F4 和 CYP4F5 的 mRNA 表达有下调趋势 ($P < 0.05, 0.01$), 而对 CYP4A3、CYP4F1 和 CYP4F6 的 mRNA 表达有上调趋势 ($P < 0.05$)。三七对 CYP1A1、CYP1B1、CYP2B1、CYP2C11、CYP2E1、CYP2J3、CYP4A1、CYP4A3、CYP4F4、CYP4F5 和 CYP4F6 的 mRNA 表达均有不同程度的抑制趋势 ($P < 0.05, 0.01$)。冰片对 CYP1A1、CYP1B1、CYP2B1、CYP2C11、CYP4A1 和 CYP4F4 的 mRNA 表达有下调作用 ($P < 0.01$)。结论 复方丹参方全方对心脏 CYPs 亚型 mRNA 表达影响弱于方中各单味药对 CYPs 的影响, 显示复方对 CYPs 影响可能是各单味药作用的综合和叠加, 同时全方及单味药对 CYP2 家族和 CYP4 家族的影响显示其对心脏均有双向调节作用。

关键词: 复方丹参方; 细胞色素 P450 酶; 丹参; 三七; 冰片

中图分类号: R285.51 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)01-0075-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.01.015

Effect of Compound Salvia Recipe on cardiac cytochrome P450 in rats

HU Dong-hua^{1,2}, WANG Yu-guang², CHEN Zhi-wu¹, MA Zeng-chun², LIANG Qian-de², XIAO Cheng-yong², TAN Hong-ling², TANG Xiang-lin², ZHANG Bo-li³, GAO Yue²

1. Department of Pharmacology, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

2. The Radiation Medical Institute, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

3. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To study the effects of Composite Salvia Recipe (CSR) and its single drugs on the main subtypes of cardiac cytochrome P450 (CYPs) in rats. **Methods** Male SD rats were randomly divided into five groups, CSR [0.32 g/(kg·d)], *Salvia miltiorrhiza* [0.27 g/(kg·d)], *Panax notoginseng* [0.05 g/(kg·d)], borneol [0.003 g/(kg·d)], and physiological saline were ig given for 28 d, then the cardiac tissues were taken. The mRNA expression change of cardiac CYPs was detected by real time PCR. **Results** Compared with the control group, CSR could down-regulate the mRNA expression of CYP1B1, CYP2B1, CYP2E1, CYP4A1, and CYP4F4 ($P < 0.05$). *S. miltiorrhiza* could significantly down-regulate the mRNA expression of CYP1A1, CYP1B1, CYP2B1, CYP2C11, CYP2E1, CYP2J3, CYP4A1, CYP4F4, and CYP4F5 ($P < 0.05, 0.01$), while up-regulate the mRNA expression of CYP4A3, CYP4F1, and CYP4F6 ($P < 0.05$). *P. notoginseng* inhibited the mRNA expression of CYP1A1, CYP1B1, CYP2B1, CYP2C11, CYP2E1, CYP2J3, CYP4A1, CYP4A3, CYP4F4, CYP4F5, and CYP4F6 ($P < 0.05, 0.01$); Borneol could inhibit the mRNA expression of CYP1A1, CYP1B1, CYP2B1, CYP2C11, CYP4A1, and CYP4F4 ($P < 0.01$). **Conclusion** The study declares that the single drugs have more significant influences on the mRNA expression of CYP than CSR. CSR and its single drugs might protect heart, and its effect on CYP2 and CYP4 families might be bidirection regulation.

Key words: Composite Salvia Recipe; cytochrome P450; *Salvia miltiorrhiza* Bge.; *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; borneol

收稿日期: 2013-04-27

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (“973” 计划) 资助项目 (2012CB518402)

作者简介: 胡东华 (1987—), 男, 硕士研究生, 研究方向为心脑血管药理学。Tel: (010)66930267 E-mail: hudonghua6@126.com

*通信作者 王宇光 Tel: (010)66932201 E-mail: wangyg@nic.bmi.ac.cn

高月 Tel/Fax: (010)66931312 E-mail: gaoyue@nic.bmi.ac.cn

复方丹参方 (Composite Salvla Recipe, CSR) 由丹参、三七、冰片 3 味药材组成, 具活血化瘀、理气止痛之功效, 在治疗冠心病、心绞痛方面疗效确切^[1]。有研究表明, 复方丹参方可以抗大鼠心肌缺血, 使心肌缺血再灌注大鼠的心肌梗死面积减少, 增强超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性, 降低丙二醛 (MDA) 的量, 有保护心脏的作用^[2-4]。

细胞色素 P450 酶 (CYPs) 是一种多功能酶系, 是生物体内参与内源性化合物 (激素、脂肪酸) 和外源性化合物 (药物、前致癌物和前毒物) 主要生物转化的酶系^[5]。CYPs 是存在于多酶系统中末端结合于膜的氧化酶, 决定酶系底物的专一性, 在整个酶系功能中起着尤为关键的作用, 多表达于肝脏, 目前已知约 1 000 种 CYPs, 主要分为 17 个家族, 可进一步分为许多亚族与亚型。人体内约有 75% 的药物通过 CYPs 代谢^[6-7]。近年来许多 CYPs 家族在心脏、血管内皮细胞和平滑肌细胞中得以鉴定, 同时很多证据显示内源性物质经 CYPs 的代谢产物在维持心血管内环境稳态中发挥重要作用^[8]。如花生四烯酸可被 CYPs 环氧酶代谢为环氧二十碳三烯酸 (EET) 或被 CYPs ω -羟化酶代谢为 20-羟基二十碳四烯酸 (20-HETE)^[9]。研究表明, CYPs 已经确定存在于心脏和血管内, 通过抑制选择性 CYPs 能够对心肌缺血和再灌注损伤产生防护作用^[10-11]。

以往对于复方丹参方的药理机制研究主要集中于执行心血管重要功能的靶点或指标, 如氧化损伤、自由基清除、心肌细胞 Ca^{2+} 变化、脂质代谢及血液流变学和对心肌细胞的保护等方面, 未见复方丹参方对心脏 CYPs 调控的研究, 鉴于复方丹参方是治疗心血管疾病的临床常用药物, 同时 CYPs 在心血管功能中具有重要作用, 其对心肌 CYPs 影响和机制仍不是十分清楚, 因此本研究选择在心血管中表达并且执行重要功能的 CYPs 第 1 家族 2 种亚型、第 2 家族 4 种亚型和第 6 家族 6 种亚型的 CYPs 同工酶, 利用 Real Time PCR (RT-PCR) 方法考察连续、长期使用复方丹参方及其单药对上述亚酶的影响。以评价复方丹参方及其单药对心脏 CYPs 亚型的影响, 为进一步深入研究复方丹参方以心脏 CYPs 为靶点的心血管药理效应的机制提供线索, 同时为指导临床合理联合用药提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

DY89—1 匀浆机 (宁波新芝生物科技有限公

司), 制冰机 (Manitowoc QM20), PCR 仪 (GeneAmp 2400), 核酸蛋白分析仪 (Beckman DU640), 超低温冰箱 (Sanyo MDF—U53V), 高速低温离心机 (Heraeus Labofuge 400R), StepOne Plus™ Real Time PCR 仪 (Applied Biosystems)。

1.2 药品与试剂

丹参、三七、冰片药材均购自安徽绿源公司, 并经军事医学科学院放射医学研究所药理毒理研究所马百平教授鉴定为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根和根茎, 五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根和根茎, 合成龙脑。1 000 粒复方丹参滴丸的组成: 丹参 90 g、三七 17.6 g、冰片 1 g^[12], 参考《中国药典》2010 年版一部复方丹参滴丸煎煮方法, 以上 3 味药, 丹参、三七加水煎煮, 煎液滤过, 滤液浓缩, 加入乙醇, 静置使沉淀, 取上清液, 回收乙醇, 浓缩成稠膏, 加入冰片细粉, 再浓缩成 1 g/mL 稠膏, 备用^[13]。丹参、三七和冰片的煎煮方法和复方丹参方的煎煮方法一致, 浓缩成 1 g/mL。各水煎液用时以蒸馏水配制。

超纯总 RNA 快速提取试剂盒 (北京博迈德生物技术有限公司); TransScript™ One-Step RT-PCR SuperMix (北京全式金生物技术有限公司); Fast SYBR® Green Master Mix (Applied Biosystems)。其他试剂均为市售分析纯。

1.3 动物

雄性 SD 大鼠, 清洁级, 体质量 180~220 g, 军事医学科学院实验动物中心提供, 动物合格证号: SCXK-(军)-2007-004。动物常规喂养, 自由饮水; 饲养室光照 10 h, 黑暗 14 h, 温度 21~25 °C, 湿度 30%~70%。

2 方法

2.1 动物分组及给药

40 只 SD 大鼠随机分为 5 组, 每组 8 只。分别为对照组、复方丹参方组、丹参组、三七组、冰片组。按《中国药典》2010 年版一部规定的临床剂量及相关文献按体表面积折算为大鼠给药剂量, 具体剂量为复方丹参方 0.32 g/(kg·d)、丹参 0.27 g/(kg·d)、三七 0.05 g/(kg·d)、冰片 0.003 g/(kg·d), ig 给药, 对照组给予同等剂量的生理盐水。每天给药 1 次, 给药时间为《中国药典》2010 年版规定的 1 个疗程, 即 28 d。

2.2 心脏 CYPs mRNA 水平测定

给药 28 d 后取各处理组大鼠心肌组织, 液氮速

冻后-80℃保存备用。实验时取适量心肌组织按试剂盒说明提取心肌组织总 RNA,电泳分析表明 18 S 和 28 S 条带清晰可见, A_{260}/A_{280} 值在 1.7~2.0, 总 RNA 片段完整未降解可用。取 2.0 μg RNA 按照 TransScript™ One-Step RT-PCR SuperMix 说明进行逆转录反应, 42℃、30 min; 85℃、5 min。用 ABI StepOne Plus™ Real Time PCR 仪进行 PCR 反应, 取 2.0 μL 逆转录反应产物作为 PCR 反应模板, 加入上下游引物 20 $\mu\text{mol/L}$ 各 0.5 μL , Fast SYBR® Green Master Mix 10 μL , 补充 Rase-free water 至 20 μL 。反应参数: 95℃、20 s 预变性, 95℃、3 s 变性, 60℃ 30 s 退火, 共 40 个循环。每次扩增设置 β -actin 内参照, 进行 PCR 扩增产物的实时定量

分析, 用 $2^{-(\Delta\Delta C_t)}$ 方法分析。特异性引物序列见表 1。

2.3 统计学分析

所有数据重复 3 次, 每次设置 3 个复孔。实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SAS 统计学软件, 两组间比较采用 t 检验。

3 结果

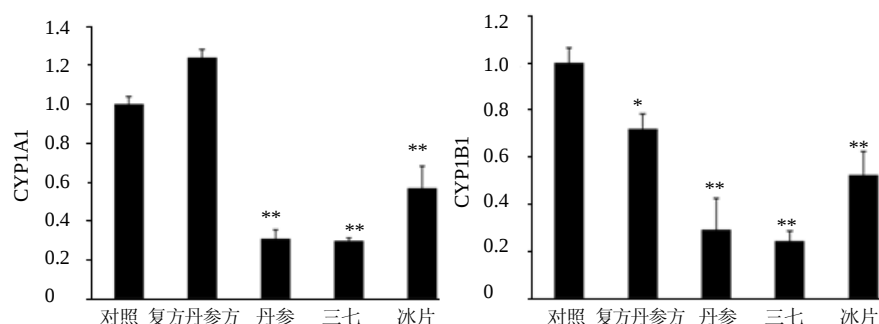
3.1 复方丹参方对大鼠心脏 CYP1 家族中 CYP1A1 和 CYP1B1 亚型 mRNA 水平的影响

复方丹参方及其单味药对大鼠心脏 CYP1 家族代表亚型 mRNA 水平的影响结果见图 1。与对照组比较, 丹参组、三七组和冰片组对 CYP1A1 都有下调趋势 ($P < 0.01$); 复方及其单味药组对 CYP1B1 都具有下调趋势 ($P < 0.05$ 、0.01)。

表 1 RT-PCR PCR 用的特异性引物序列

Table 1 Specific primer sequences used in RT-PCR analysis

基因	引物序列	基因	引物序列
CYP1A1	正向引物: CCAAACGAGTTCGGGCCT 反向引物: TGCCCAAACCAAAGAGAATGA	CYP4A3	正向引物: CTCGCCATAGCCATGCTTATC 反向引物: CCTTCAGCTCATTCATGGCAATC
CYP1B1	正向引物: GCTTTACTGTGCAAGGGAGACA 反向引物: GGAAGGAGGATTCAAGTCAGGA	CYP4F1	正向引物: CCCCCAAGGCTTTTGTATG 反向引物: GAGCGCAACGGCAGCT
CYP2B1	正向引物: AACCCCTTGATGACCGCAGTAAA 反向引物: TGTGGTACTCCAATAGGGACAAGATC	CYP4F4	正向引物: CAGGTCTGAAGCAGGTAAGTAAGC 反向引物: CCGTCAGGGTGGCACAGAGT
CYP2C11	正向引物: CACCAGCTATCAGTGGATTTGG 反向引物: GTCTGCCCTTTGCACAGGAA	CYP4F5	正向引物: AGGATGCCGTGGCTAACTG 反向引物: GGCTCCAAGCAGCAGAAG A
CYP2E1	正向引物: AAAGCGTGTGTGTGTTGGAGAA 反向引物: AGAGACTTCAGGTTAAAATGCTGCA	CYP4F6	正向引物: TCACTTGACCTTGATGAAGAACAAC 反向引物: AAGAGAGGTGGATATCACGGAAG
CYP2J3	正向引物: CATTGAGCTCACAAGTGGCTTT 反向引物: CAATTCCTAGGCTGTGATGTCG	β -actin	正向引物: CCAGATCATGTTTGAGACCTTCAA 反向引物: GTGGTACGACCAGAGGCATACA
CYP4A1	正向引物: TTGAGCTACTGCCAGATCCCAC 反向引物: CCCATTTTGGACTTCAGCACA		



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 下图同

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group, same as below

图 1 复方丹参方及其单味药对大鼠心脏 CYP1A1 和 CYP1B1 亚型 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 1 Effects of CSR and its single drugs on subtype mRNA expression of cardiac CYP1A1 and CYP1B1 in rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

3.2 复方丹参方对大鼠心脏 CYP2 家族 CYP2B1、CYP2C11、CYP2E1 和 CYP2J3 mRNA 水平的影响

对大鼠心脏 CYP2 家族来说,与对照组比较,复方丹参方组、丹参组、三七组和冰片组对 CYP2B1 有抑制作用 ($P<0.05$ 、 0.01);丹参组、三七组和

冰片组对 CYP2C11 有下调趋势 ($P<0.01$);而复方丹参方组、丹参组和三七组对 CYP2E1 有抑制趋势 ($P<0.05$ 、 0.01);丹参组和三七组对 CYP2J3 有下调作用 ($P<0.01$),而复方丹参方组对 CYP2J3 有上调趋势。结果见图 2。

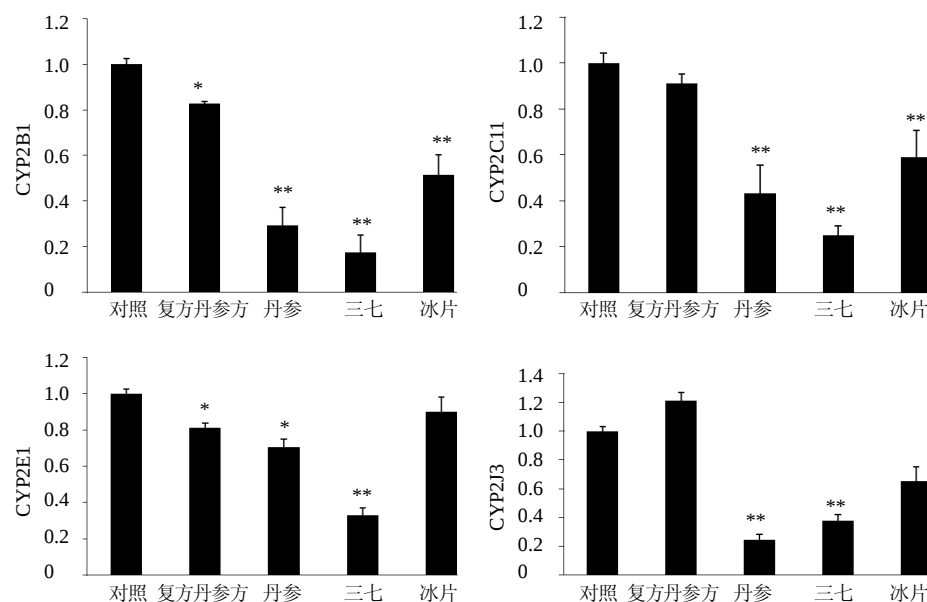


图2 复方丹参方及其单味药对大鼠心脏 CYP2B1、CYP2C11、CYP2E1 和 CYP2J3 亚型的 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)
Fig. 2 Effects of CSR and its single drugs on subtype mRNA expression of cardiac CYP2B1, CYP2C11, CYP2E1, and CYP2J3 in rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

3.3 复方丹参方对大鼠心脏 CYP4 家族 CYP4A1、CYP4A3、CYP4F1、CYP4F4、CYP4F5 和 CYP4F6 mRNA 水平的影响

与对照组比较,复方丹参方组对 CYP4A1 和 CYP4F4 的 mRNA 表达有抑制作用 ($P<0.05$);丹参组对 CYP4A1、CYP4F4 和 CYP4F5 亚型的 mRNA 表达有下调作用 ($P<0.05$ 、 0.01),对 CYP4A3、CYP4F1 和 CYP4F6 的 mRNA 表达有上调趋势 ($P<0.05$);三七组对 CYP4A1、CYP4A3、CYP4F4、CYP4F5 和 CYP4F6 的 mRNA 表达均有不同程度的抑制趋势 ($P<0.05$ 、 0.01);冰片组对 CYP4A1 和 CYP4F4 的 mRNA 表达有下调趋势 ($P<0.01$)。结果见图 3。

4 讨论

CYPs 最初发现于肝微粒体,其在生物转化、药物代谢、解毒等方面研究进行较早且较广泛,而 AA 经 CYPs 途径的代谢产物对心血管系统的影响近年来日益受到重视,其代谢产物中 EETs 和

20-HETE 在调节血管张力和高血压的发展中有重要影响^[11]。大鼠血管内皮、心肌组织和平滑肌细胞等富含 CYPs 表氧化酶(如 CYP2C11、CYP2J3 等)和羟化酶(如 CYP4A1、CYP4F1 等),代谢 AA 分别产生 EETs 和 20-HETE。EETs 由血管活性物质如乙酰胆碱、缓激肽、AA 促进内皮细胞释放,通过激活钙敏感性钾通道 (Ca^{2+} -sensitive potassium channel, K_{Ca})使内皮下的平滑肌细胞发生超级化反应而产生扩血管效应^[14]。20-HETE 在大鼠中主要由 CYPs 4 家族代谢,这是一种强有力的缩血管物质,对血压调节有重要影响^[15-17]。

复方丹参方及其单味药连续 ig 诱导处理 28 d 后,发现复方丹参方及其单味药对 CYP1A1 和 CYP1B1 有不同程度的抑制作用。有文献报道,在一定范围内,吸烟者的 CYP1A1 的基因变异体增加了心血管疾病的风险性,同时可能提高动脉粥样硬化的发病率^[18];心力衰竭时, CYP1B1 的表达会上调^[19],这说明复方丹参方及其单味药一定程度上减少心血管

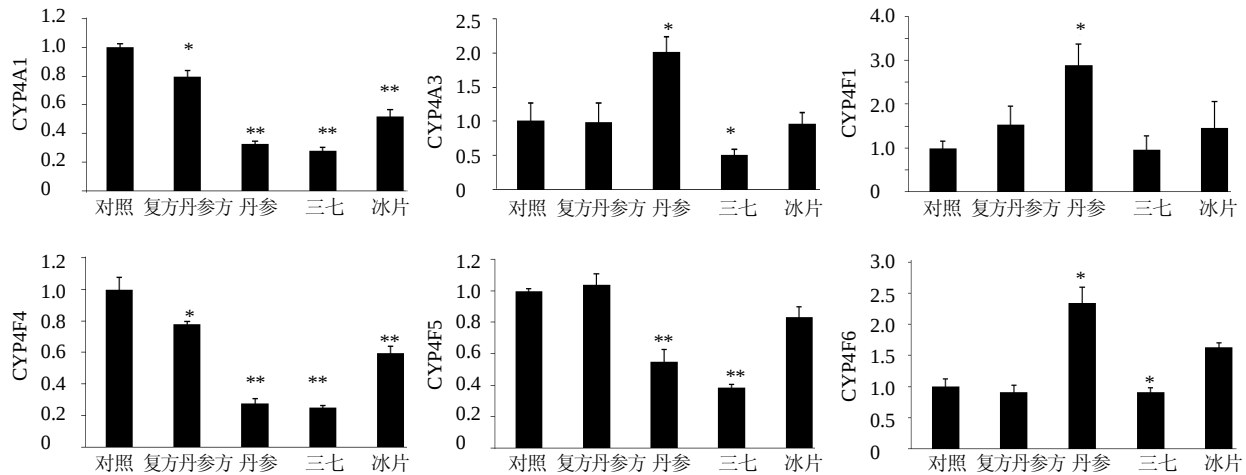


图 3 复方丹参方对大鼠心脏 CYP4A1、CYP4A3、CYP4F1、CYP4F4、CYP4F5 和 CYP4F6 亚型的 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 3 Effect of CSR on subtype mRNA expression of cardiac CYP4A1, CYP4A3, CYP4F1, CYP4F4, CYP4F5, and CYP4F6 in rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

疾病发生的概率。CYP2J2/3 主要表达于心脏，且主要合成具有心脏保护作用的 EETs。大鼠心脏 CYP2J3 与人类心脏 CYP2J2 具有 70% 的同源性。复方丹参方对大鼠 CYP2J3 有诱导趋势，而单味药组对其是抑制趋势，复方对心脏的保护作用强于单味药，有增效作用。Bhatnagar^[20]研究发现 CYP2J 对心脏表现为保护作用，而 CYP2C 则表现为加重损伤，提出 CYPs 不同亚型可能产生氧自由基不同，而表现为加重或拮抗心肌缺血/再灌注损伤。本研究中复方丹参方及其单味药组对 CYP2B1、CYP2C11 和 CYP2E1 都有不同程度的下调作用，从一个侧面支持了 Bhatnagar 的观点。复方丹参方及其单味药组对大鼠心脏 CYP4A1、CYP4A3、CYP4F1、CYP4F4、CYP4F5 和 CYP4F6 亚型 mRNA 水平，有不同程度的诱导或者抑制趋势，这说明复方丹参方及其单味药对血压的调节可能是一个双向的作用，从而支持中药复方对机体是双向调节的作用，维持机体的平衡。复方丹参方和单味药对心脏 CYPsmRNA 表达影响的贡献度不同，例如丹参、三七和冰片对 CYP1A1 和 CYP2J3 都有抑制趋势，而复方丹参方对其是诱导趋势，说明复方及其单味药对这两种亚型 CYPs mRNA 表达影响的贡献度不同。丹参、三七和冰片对 CYP1A1 和 CYP1B1 都有抑制作用，但配伍后，复方对这两个的亚型的抑制作用减弱。三七对这 12 种亚型都有不同程度抑制作用，而丹参和冰片对 12 种亚型有不同的诱导或者抑制作用，

从结果来看，初步推测出对 CYPs 抑制作用的贡献度主要来自三七，而对其有诱导作用的贡献度主要来自丹参和冰片。另外，配伍后，复方丹参方全方对心脏 CYPsmRNA 表达影响弱于方中各单药对心脏 CYPs 的影响，显示复方对心脏 CYPs 影响可能是各单味药作用的综合和叠加。

复方丹参方及其单味药的成分复杂，对大鼠心脏 CYPs 酶不同的亚型有不同程度的诱导或者抑制作用，而不同的亚型对心脏血管有不同的收缩或者舒张作用，复方丹参方及其单药对心脏有一定的保护作用，并且其保护可能是双向的调节作用，以达到机体的平衡。

参考文献

- [1] 张伯礼, 高秀梅. 复方丹参方的现代研究——组分配伍研制现代中药的理论与实践 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [2] 高秀梅, 王 怡, 商洪才, 等. 复方丹参方抗大鼠心肌缺血作用研究 [J]. 天津中医药, 2003, 2(1): 23-25.
- [3] 高秀梅, 张伯礼, 商洪才, 等. 复方丹参方预处理对心肌缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 中国临床康复, 2003, 7(12): 1754-1756.
- [4] 李凌艳, 赵 颖, 王 平, 等. 复方丹参滴丸对豚鼠离体心脏心电图的影响 [J]. 中草药, 2012, 43(11): 2236-2241.
- [5] 李 彬, 朱照静. 心脏不同细胞色素 P-450 亚型的作用机制 [J]. 中国药师, 2007, 10(2): 169-170.
- [6] 高 虹, 陈 焱, 段钟平. 细胞色素 P450 与肝脏疾病

- 的联系及其影响因素 [J]. 中国医学理论与实践, 2005, 15(9): 1321-1322.
- [7] 董宇, 王阶, 杨庆, 等. CYP450 酶与中药代谢相互作用关系研究概况 [J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(1): 100-104.
- [8] Elbekai R H, El-Kadi A O S. Cytochrome P450 enzymes: Central players in cardiovascular health and disease [J]. *Pharmacol Therap*, 2006, 112: 564-587.
- [9] Roman R J. P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function [J]. *Physiol Rev*, 2002, 82: 131-185.
- [10] Medhora M, Narayanan J, Harder D. Dual regulation of the cerebral microvasculature by epoxyeicosatrienoic acids [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2001, 11: 38-42.
- [11] Roman R J, Maier K G, Sun C W, *et al.* Alonso-Galicia M. Renal and cardiovascular actions of 20-hydroxy-eicosatetraenoic acid and epoxyeicosatrienoic acids [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2000, 27: 855-865.
- [12] 束云, 李连达. 复方丹参制剂有效成分及药理作用的比较研究 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2009.
- [13] 中国药典[S]. 一部. 2010.
- [14] Hu S, Kim H S. Activation of K^+ channel in vascular smooth muscles by cytochrome P-450 metabolites of arachidonic acid [J]. *Eur J Pharmacol*, 1993, 230: 215-221.
- [15] Zou A P, Fleming J T, Falck J R, *et al.* 20-HETE is an endogenous inhibitor of the large-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel in renal arterioles [J]. *Am J Physiol*, 1996, 270: 228-237.
- [16] Ma Y H, Gebremedhin D, Schwartzman M L, *et al.* 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid is an endogenous vasoconstrictor renal arcuate arteries [J]. *Circ Res*, 1993, 72: 126-136.
- [17] Sun C W, Alonso-Galicia M, Taheri M R, *et al.* Nitric oxide-20-hydroxyeicosatetraenoic acid interaction in regulation of K^+ channel activity and vascular tone in renal arterioles [J]. *Circ Res*, 1998, 83: 1069-1079.
- [18] Wang X L, Raveendran M, Wang J. Genetic influence of cigarette-induced cardiovascular disease [J]. *Prog Cardiovasc Dis*, 2003, 45: 361-382.
- [19] 魏秋华, 苏瑞斌. 细胞色素 P-450: 心脏和冠脉循环中的新靶标 [J]. 国外医学: 药学分册, 2006, 33(2): 104-106.
- [20] Bhatnagar A. Beating ischemia: a new feat of EETs? [J]. *Circ Res*, 2004, 95(5): 443-445.