

## • 药理与临床 •

## 阿魏酸和异阿魏酸对 HepG2 细胞增殖及其细胞色素 P450 酶的影响

汤浩<sup>1\*</sup>, 高庆剑<sup>2</sup>, 陆铖<sup>2</sup>, 屈坤鹏<sup>1</sup>, 闵光涛<sup>3</sup>

1. 甘肃省人民医院, 甘肃 兰州 730000
2. 宁夏医科大学药学院 药理系, 宁夏 银川 750000
3. 兰州大学第一医院, 甘肃 兰州 730000

**摘要:** 目的 观察阿魏酸和异阿魏酸对 HepG2 细胞中细胞色素 P450 同工酶 1A1、3A4 (CYP1A1、CYP3A4) 的作用特点。方法 采用 MTT 比色法测定不同质量浓度阿魏酸和异阿魏酸对体外培养人肝癌 HepG2 细胞增殖的影响; 采用流式细胞术测定阿魏酸和异阿魏酸对 HepG2 细胞周期的影响; 实时定量 PCR 技术检测阿魏酸和异阿魏酸处理后 CYP1A1、CYP3A4 mRNA 的表达; Western blotting 检测 CYP3A4 蛋白表达。结果 作用 48 h 后, 阿魏酸和异阿魏酸对 HepG2 细胞均有抑制作用, 且有明显的剂量依赖关系; 阿魏酸和异阿魏酸 (50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 均阻滞 HepG2 细胞周期于 G<sub>2</sub>/M 期; 阿魏酸和异阿魏酸在不同作用质量浓度下均是 CYP1A1、CYP3A4 mRNA 的抑制剂; 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  阿魏酸和异阿魏酸处理细胞 48 h 后, CYP3A4 蛋白表达均明显低于对照组, 相比于对照组, 阿魏酸和异阿魏酸的表达量分别为 0.57、0.39。结论 阿魏酸和异阿魏酸均能抑制 HepG2 细胞的增殖, 其机制之一是影响细胞周期使其阻滞于 G<sub>2</sub>/M 期, 能够抑制药物代谢酶 CYP1A1、CYP3A4 mRNA 的表达, 同时抑制 CYP3A4 的蛋白表达, 但作用程度差别较大, 可能与其羟基和甲氧基异构有关。

**关键词:** 阿魏酸; 异阿魏酸; HepG2 细胞; 细胞周期; 药物代谢酶

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)12-1726-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.12.014

## Effects of ferulic acid and isoferulic acid on proliferation of HepG2 cells and its cytochrome P450 enzymes

TANG Hao<sup>1</sup>, GAO Qing-jian<sup>2</sup>, LU Cheng<sup>2</sup>, QU Kun-peng<sup>1</sup>, MIN Guang-tao<sup>3</sup>

1. Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou 730000, China
2. Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750000, China
3. Affiliated First Hospital, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

**Abstract: Objective** To observe the action characteristics of ferulic acid and isoferulic acid on cytochrome P450 isoenzymes 1A1 and 3A4 (CYP1A1, CYP3A4) in HepG2 cells. **Methods** MTT colorimetry was used to investigate the effects of ferulic acid and isoferulic acid at different concentration on the proliferation of *in vitro* cultured HepG2 cells. Flow cytometry was used to determine the effects of ferulic acid and isoferulic acid on cell cycle of human liver HepG2 cells; The expression of CYP1A1 and CYP3A4 mRNA was tested by real time quantitative PCR technology after drug treatment and then CYP3A4 protein expression was detected by protein immunoblot method (Western blotting). **Results** HepG2 cells were inhibited by ferulic acid and isoferulic acid after 48 h action, with a clear dose-response relationship; Two drugs (50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) blocked HepG2 cell cycle in G<sub>2</sub>-M phase; All of the concentration (100, 50, and 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) of the two drugs were CYP1A1 and CYP3A4 mRNA inhibitors; After cells were disposed by the two kinds of drugs (50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) with 48 h, protein expression was significantly lower than that in the control group; And compared with the control group, the expression amounts of ferulic acid and isoferulic acid were 0.57 and 0.39. **Conclusion** The proliferation of HepG2 cells is inhibited by the two drugs, and the cell cycle was arrested at G<sub>2</sub>/M phase, which that may be one of its mechanisms, so as to inhibit the mRNA expression of CYP1A1 and CYP3A4. At the same time, both of them could inhibit the protein expression of CYP3A4, as well as the effect degree of difference is bigger, which may be associated with its hydroxyl and the methoxyl isomerisation.

**Key words:** ferulic acid; isoferulic acid; HepG2 cells; cell cycle; drug metabolism enzymes

收稿日期: 2013-11-28

基金项目: 甘肃省技术与开发专项计划 (1105TCYA024); 兰州市科技计划项目 (2010-1-72)

\*通信作者 汤浩, 女, 副主任药师, 硕士生导师, 从事医院药学和中药新药开发研究。Tel: (0931)8281682 E-mail: gsy-th@sina.cn

人体内主要药物代谢酶是细胞色素 P450 (CYP) 超家族<sup>[1]</sup>, 其中 CYP1A1、CYP3A4 是体内重要的药物代谢酶<sup>[2]</sup>, CYP1A1 作为药物评价致癌性的重要指标<sup>[1]</sup>, CYP3A4 是预测药物敏感性的模型<sup>[3]</sup>。由于 CYP3A4 酶是人体内一类非常重要的 CYP 代谢酶, 临床 60% 的药物都要经其代谢转化<sup>[3]</sup>, 而且许多药物也是其诱导剂或抑制剂。

阿魏酸 (ferulic acid) 和异阿魏酸 (isoferulic acid), 两者结构相似, 为一对同分异构体<sup>[4]</sup>, 是一种植物来源的酚酸<sup>[5]</sup>, 是阿魏、当归、升麻和川芎等中药的主要成分之一<sup>[6-7]</sup>, 是以桂皮酸为母核的酚酸类成分的代表<sup>[8]</sup>。阿魏酸具有广泛的药理学作用, 如抗肿瘤、抗氧化、解毒、保肝等作用, 是一种多靶点的抗肿瘤天然药物, 且性质稳定、毒性低<sup>[9]</sup>。阿魏酸和异阿魏酸细胞给药后对 CYP 的影响目前尚未见文献报道, HepG2 细胞具有典型肝癌细胞的一系列恶性特征<sup>[10-11]</sup>, 保留了一系列生物转化过程中的 I 相和 II 相酶, 是研究和评价防治肝癌药物的较理想模型, 本实验采用肝癌细胞 HepG2 给药模型, 观察给药后 HepG2 细胞的生长以及细胞中 CYP1A1、CYP3A4 的活性变化, 考察阿魏酸和异阿魏酸对 CYP 同工酶 CYP1A1 和 CYP3A4 的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要药品与试剂

阿魏酸 (110773-201012) 和异阿魏酸 (111698-201103) 均购自中国食品药品检定研究院, 质量分数  $\geq 98\%$ , 用二甲基亚砜 (DMSO) 助溶。新生牛血清购自 PAA 公司; 噻唑蓝 (MTT, 美国 Sigma 公司)。反转录 qPCR RT Master Mix 购自 Toyobo 公司; TaKaRa RNAiso Plus 购自宝生物工程 (大连) 有限公司; 实验所用引物用 Primer Premier 5.0 软件设计, 委托上海生工生物工程有限公司合成, CYP3A4 抗体购自 Santa Cruz 公司。

### 1.2 仪器

超净台、细胞培养箱、梯度 PCR 测定仪 (购自 PCR 公司), ABI7500 实时荧光 PCR、高速低温离心机 (Sigma 公司), 超声波裂解仪 VCX750 (美国 SONICS 公司)。

### 1.3 细胞

细胞株人肝癌细胞 HepG2 为本实验室保存。将 HepG2 细胞加入至含 10% 新生牛血清、100 U/mL 青霉素、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  链霉素的 DMEM 培养基中, 置于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的饱和湿度培养箱中孵育传代培养。

### 1.4 MTT 方法检测细胞增殖抑制率

取对数生长期 HepG2 细胞接种于 96 孔板中,  $1 \times 10^4$  个/孔, 16 h 后加入含不同质量浓度阿魏酸和异阿魏酸的培养基, 药物终质量浓度为 6.25、12.5、25、50、100、150、200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 各质量浓度设 3 个复孔, 设正常生长细胞为对照组。各组细胞置 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  的饱和湿度培养箱内培养 48 h 后, 每孔加入 20  $\mu\text{L}$  的 MTT (5  $\text{mg}/\text{mL}$ ), 继续培养 4 h 后弃培养基, 每孔加入 DMSO 150  $\mu\text{L}$  震荡溶解 10 min。在酶联免疫检测分析仪上于波长 490 nm 处测定吸光度 (A) 值, 计算细胞增殖抑制率, 以 3 次平行实验数据为最终结果。

$$\text{增殖抑制率} = 1 - A_{\text{实验}} / A_{\text{对照}}$$

### 1.5 细胞周期测定

取对数生长期细胞接种于 1 次性细胞培养瓶,  $1 \times 10^6$  个/瓶, 培养 16 h 后, 加入终质量浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的阿魏酸和异阿魏酸的培养基, 继续培养 48 h 后, 参照文献方法<sup>[12]</sup>进行操作, 用流式细胞仪分析细胞周期分布。

### 1.6 对 HepG2 细胞中 CYP1A1 和 CYP3A4 mRNA 表达的影响

**1.6.1 分组** 实验组: 阿魏酸和异阿魏酸质量浓度分别为 25、50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 对照组: 正常细胞生长组; 阳性对照组: 酮康唑<sup>[13]</sup>质量浓度分别为 25、50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

**1.6.2 RNA 的提取和 cDNA 的合成** 细胞接种于 1 次性细胞培养瓶, 16 h 后弃培养基, 用 PBS 清洗 2 遍, 加入含不同质量浓度阿魏酸和异阿魏酸的培养基, 作用 48 h。用 RNAiso Plus 试剂盒提取 RNA, RNA 溶解于 15  $\mu\text{L}$  RNase-free  $\text{H}_2\text{O}$  中, 5  $\mu\text{L}$  用于测定 RNA 的纯度, 8  $\mu\text{L}$  用于反转录。用紫外分光光度计测  $A_{260}$ 、 $A_{280}$ ,  $2.1 \geq A_{260}/A_{280} \geq 1.8$  合格, 计算总 RNA 纯度及浓度。反转录体系为 5  $\times$  RT Master Mix 2  $\mu\text{L}$ , 酶混合物 0.5  $\mu\text{L}$ , 引物混合物 0.5  $\mu\text{L}$ , RNA 1  $\mu\text{L}$ , 无 RNA 酶水 6  $\mu\text{L}$ , 反转录总体积 10  $\mu\text{L}$ 。反转录的条件为 37  $^{\circ}\text{C}$ 、15 min, 98  $^{\circ}\text{C}$ 、5 min, 反转录产物 -20  $^{\circ}\text{C}$  保存。

**1.6.3 实时荧光 PCR 反应** 将反转录产物 10 倍稀释后作为 PCR 反应模板, PCR 的反应体系: 1  $\mu\text{L}$  稀释液, 上下游引物 10  $\mu\text{mol}/\text{L}$  (表 1) 各 1  $\mu\text{L}$ , 2  $\times$  SYBR Green I 12.5  $\mu\text{L}$ , 添加高压灭菌的三蒸水至终体积 25  $\mu\text{L}$ , 混匀。反应条件: 起始 95  $^{\circ}\text{C}$ 、5 min, 扩增时 95  $^{\circ}\text{C}$ 、15 s, 60  $^{\circ}\text{C}$ 、15 s, 72  $^{\circ}\text{C}$ 、45 s 循

表 1 PCR 反应引物及序列

Table 1 Primer and sequence used in real-time PCR reaction

基因	序列
GAPDH	正向引物: GAGTCAACGGATTTGGTC 反向引物: GACAAGCTTCCCGTTCTC
CYP1A1	正向引物: GGCGTTGTGCTTTTGTAACCA 反向引物: AGGTAGGAATCAGATGGGAC
CYP3A4	正向引物: CTGTGTGTTTCCAAGAGAAGT 反向引物: TGCATCAATAATTCCTCCTG

环 40 次, 溶解曲线分析。以 GAPDH 为内参, 进行 PCR 扩增产物的实时定量分析。

**1.6.4 数据分析** 实时定量 PCR 数据采用比较阈值法进行相对定量分析。计算方法: 目的基因诱导或抑制倍数 =  $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ,  $C_t$  值是热循环仪中荧光达到阈值循环数,  $\Delta\Delta C_t = \text{实验组}\Delta C_t (\text{目的基因 } C_t - \text{内参基因 } C_t) - \text{对照组}\Delta C_t (\text{目的基因 } C_t - \text{内参基因 } C_t)$ 。

**1.7 Western blotting 分析**

将对照组和 3 个不同质量浓度 (25、50、100  $\mu\text{g/mL}$ ) 阿魏酸和异阿魏酸处理 48 h 后的细胞分别提取蛋白, 然后以 GAPDH 为内参, 按照文献方法<sup>[14]</sup> 检测 CYP3A4 蛋白的表达差异。

**1.8 统计学分析**

所有数据用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计学分析, 数据均用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用单因素方差分析。

**2 结果**

**2.1 对 HepG2 细胞增殖的影响**

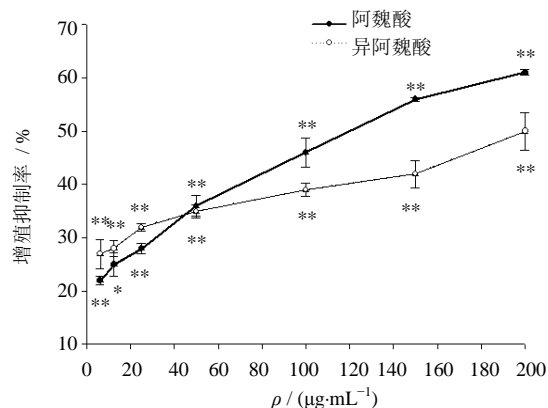
MTT 实验结果表明, 随着阿魏酸和异阿魏酸质量浓度的增加, 对 HepG2 细胞的增殖抑制率升高, 呈剂量依赖关系。质量浓度在 50  $\mu\text{g/mL}$  时, 2 种药物的抑制率相同。质量浓度低于 50  $\mu\text{g/mL}$  时, 异阿魏酸对 HepG2 细胞的抑制能力比阿魏酸强, 但质量浓度高于 50  $\mu\text{g/mL}$  时, 则呈相反趋势。阿魏酸和异阿魏酸的  $\text{IC}_{50}$  值分别为 66.64、83.69  $\mu\text{g/mL}$ 。见图 1。

**2.2 对 HepG2 细胞周期的影响**

流式细胞仪测定结果表明, 与对照组比较, 阿魏酸和异阿魏酸均使 HepG2 细胞周期  $G_2/M$  期发生了明显阻滞, 见表 2。阿魏酸和异阿魏酸使  $G_0/G_1$  期和 S 期细胞数比例略微升高, 而使  $G_2/M$  期比例显著降低。特别是阿魏酸阻滞  $G_2/M$  期, 细胞数比例相比于对照组降低了 13.53%。

**2.3 对 HepG2 细胞中 CYP1A1 和 CYP3A4 mRNA 表达的影响**

PCR 实验结果显示, 相比于对照组, 阿魏酸和



与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ , 下同  
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs control group, same as below

图 1 阿魏酸和异阿魏酸对 HepG2 细胞增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 1 Effects of ferulic acid and isoferulic acid on proliferation of HepG2 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

表 2 阿魏酸和异阿魏酸对 HepG2 细胞周期的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2 Effects of ferulic acid and isoferulic acid on cell cycle of HepG2 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	$\rho / (\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	细胞周期分布 / %		
		$G_0/G_1$	S	$G_2/M$
对照	—	65.91 ± 0.43	12.30 ± 0.59	21.79 ± 0.25
阿魏酸	50	78.83 ± 0.72*	12.81 ± 1.25*	8.26 ± 0.57**
异阿魏酸	50	70.51 ± 0.39*	15.72 ± 1.06**	13.77 ± 0.26**

异阿魏酸 (100、50、25  $\mu\text{g/mL}$ ) 均明显抑制 HepG2 细胞中 CYP1A1 和 CYP3A4 的 mRNA 表达, 异阿魏酸比阿魏酸抑制作用更强。尤其是在低质量浓度 25  $\mu\text{g/mL}$  时, 相比于阿魏酸, 异阿魏酸对 CYP1A1 和 CYP3A4 mRNA 的抑制能力均超过 3 倍。阳性对照酮康唑 (25、50、100  $\mu\text{g/mL}$ ) 对 CYP1A1 和 CYP3A4 mRNA 均表现出普遍而强烈的抑制作用, 见表 3。

**2.4 对 CYP3A4 蛋白表达的影响**

Western blotting 检测 50  $\mu\text{g/mL}$  的阿魏酸和异阿魏酸处理 48 h 后 HepG2 细胞内 CYP3A4 蛋白表达水平的变化。阿魏酸和异阿魏酸的 CYP3A4 蛋白表达量分别为对照组 CYP3A4 蛋白表达量的 0.57、0.39。结果显示 CYP3A4 蛋白表达均明显低于对照组 ( $P < 0.05$ )。见图 2。

**3 讨论**

MTT 实验结果表明 6.25~200  $\mu\text{g/mL}$  阿魏酸和

表3 阿魏酸和异阿魏酸对 HepG2 细胞中 CYP1A1 和 CYP3A4 mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 3 Effects of ferulic acid and isoferulic acid on CYP1A1 and CYP3A4 mRNA expression in HepG2 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

组别	$\rho /$ ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	mRNA 相对表达量 (以对照组为)	
		CYP1A1	CYP3A4
对照	—	1.00	1.00
阿魏酸	25	-0.55*	-0.33**
	50	-1.02**	-1.14**
	100	-0.87**	-1.08**
异阿魏酸	25	-1.79**	-2.77**
	50	-1.94**	-1.72**
	100	-1.89**	-1.41**
酮康唑	25	-6.14*	-5.43**
	50	-8.36*	-7.19**
	100	-11.07*	-10.86**

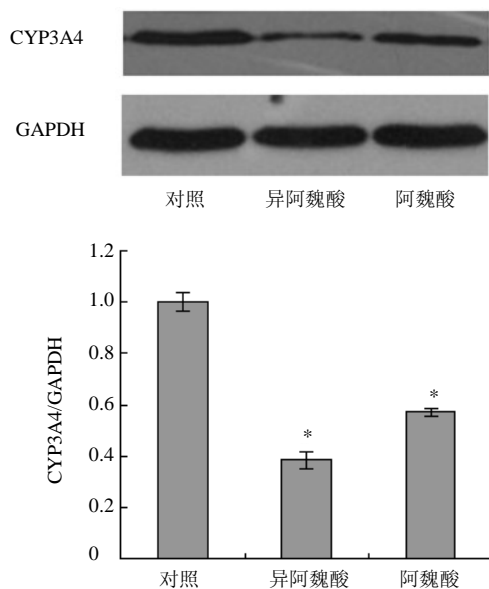


图2 阿魏酸和异阿魏酸对 HepG2 细胞内 CYP3A4 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 2 Effect of ferulic acid and isoferulic acid on CYP3A4 protein expression in HepG2 cells ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

异阿魏酸均可抑制肝癌细胞 HepG2 生长。细胞周期在肿瘤的生长调控中具有重要的作用,通过改变细胞周期来阻止肿瘤细胞的无限增殖越来越受到人们的关注<sup>[15]</sup>。细胞周期的调节主要发生在 2 个重要阶段: G<sub>1</sub>/S 期和 G<sub>2</sub>/M 期,阿魏酸和异阿魏酸处理 HepG2 细胞,使 G<sub>2</sub>/M 期细胞显著降低,2 种药物

通过影响细胞周期而抑制细胞生长。

随着各类新药的广泛应用以及联合用药的增多,药源性肝损伤的发生率逐年增高,药源性肝损伤的发生与肝组织内 CYP450 的高表达密不可分,部分药物经 CYP450 代谢产生反应性代谢产物,后者可与肝细胞内大分子物质共价结合造成肝损伤。近年来研究表明,阿魏酸可通过抑制肝组织细胞脂质过氧化反应,对药源性肝损伤有保护作用,如可以通过抑制 CYP2E1 活性进而抑制异烟肼和利福平联合用药所导致的肝损伤<sup>[16]</sup>。本实验对比研究了阿魏酸和异阿魏酸对 2 种主要 CYP 亚型的抑制效果,阿魏酸对 CYP1A1 活性有轻微的抑制作用,对 CYP3A4 活性有明显的抑制,异阿魏酸对 CYP1A1 和 CYP3A4 的活性表现出明显的抑制。研究结果显示,阿魏酸和异阿魏酸处理组明显降低了 CYP1A1 和 CYP3A4 mRNA 表达以及 CYP3A4 蛋白水平,提示抑制 CYP1A1 和 CYP3A4 过度表达是阿魏酸和异阿魏酸保护肝损伤的机制之一,通过调节 CYP450 的功能来调节肝损伤的氧化代谢,减少自由基的生成,减弱氧化应激损伤,从而起到一定的保肝作用。

鉴于阿魏酸和异阿魏酸是同分异构体,可以从结构上推测导致两者对 CYP450 酶抑制作用差异较大的原因。阿魏酸和异阿魏酸的药理活性基团,比如双键和羧基的位置都一致,两者的区别仅在于酚羟基和甲氧基异构,阿魏酸苯环上 C-3 位是甲氧基、C-4 位是羟基,而异阿魏酸苯环 C-3 位是羟基、C-4 位是甲氧基,结合实验结果,在代谢过程中可以推测苯环 C-3 位和 C-4 位的羟基和甲氧基的氧化位置可能是影响对 CYP 抑制效果的主要因素。

综上所述,本实验研究了阿魏酸和异阿魏酸这一对同分异构体对 HepG2 细胞周期和 2 种 CYP450 酶的作用,证明阿魏酸和异阿魏酸对 CYP450 酶系的抑制作用,实验结果为中西药代谢相关性提供了体外实验的数据支持。由 Lynch 等<sup>[17]</sup>得出的结论可知,药物对酶的抑制可增加药物的浓度,延长药物作用时间,引起药物毒性反应的增加,因而此 2 种药物对代谢酶的研究有助于预知它们治疗肿瘤时发生的不良反应。2 种药物在人体内是否也存在 CYP450 酶的诱导或者抑制作用,有待于进一步的实验研究。在分子生物学技术推动下,药物代谢领域的研究对临床个体化给药以及药物的相互作用有极其重要价值。

## 参考文献

- [1] 李晓宇, 刘皋林. CYP450 酶特性及其应用研究进展 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2008, 13(8): 942-946.
- [2] Shaik A P, Jamil K, Das P. CYP1A1 polymorphisms and risk of prostate cancer: a meta-analysis [J]. *Urol J*, 2009, 6(2): 78-86.
- [3] Seripa D, Pilotto A, Panza F, *et al.* Pharmacogenetics of cytochrome P450 (CYP) in the elderly [J]. *Ageing Res Rev*, 2010, 9(4): 457-474.
- [4] 李利军, 冯 军, 陈其锋, 等. 毛细管电泳同时分离测定阿魏酸、异阿魏酸的研究 [J]. 分析实验室, 2008, 27(9): 46-49.
- [5] Sung J H, Gim S A, Koh P O. Ferulic acid attenuates the cerebral ischemic injury-induced decrease in peroxiredoxin-2 and thioredoxin expression [J]. *Neurosci Lett*, 2014, 26(2):62-67.
- [6] 胡益勇, 徐晓玉. 阿魏酸的化学和药理研究进展 [J]. 中成药, 2006, 28(2): 253-255.
- [7] 刘 毅, 刘素香, 张铁军, 等. HPLC 法测定川芎中阿魏酸和藁本内酯 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(3): 210-212.
- [8] 莫李立, 王素军, 杨本坤, 等. 阿魏酸在 Caco-2 细胞模型的通透性及其在大鼠体内吸收特性研究 [J]. 中草药, 2012, 43(5): 947-951.
- [9] 殷华芳, 钱晓萍, 刘宝瑞, 等. 阿魏酸抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志, 2010, 19(32): 4238-4240.
- [10] Westerink W M, Schoonen W G. Cytochrome P450 enzyme levels in HepG2 cells and cryopreserved primary human hepatocytes and their induction in HepG2 cells [J]. *Toxicol in Vitro*, 2007, 21: 1581-1591.
- [11] Tolosa L, Gomez-Lechon M J, Perez-Cataldo G, *et al.* HepG2 cells simultaneously expressing five P450 enzymes for the screening of hepatotoxicity: identification of bioactivable drugs and the potential mechanism of toxicity involved [J]. *Arch Toxicol*, 2013, 87: 1115-1127.
- [12] 江金环, 刘 莉, 皮 江, 等. 姜黄素通过调控微管系统干扰 HepG2 细胞周期研究 [J]. 中草药, 2013, 44(9): 1144-1148.
- [13] 杨贵忠, 袁 野, 周岐新, 等. 酮康唑对健康成人肝细胞微粒体细胞色素 P450 同工酶 3A4、1A2 活性的作用 [J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(9): 1634-1635.
- [14] Arakia N, Tsuruokaa S, Hasegawaa G, *et al.* Inhibition of CYP3A4 by 6', 7'-dihydroxybergamottin in human CYP3A4 over-expressed hepG2 cells [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2012, 64(12): 1715-1721.
- [15] Dorey K, Barila D, Cavin A C, *et al.* Regulation of human C-A blyrosine kinase activity in *Xenopus* oocytes and acceleration of progesterone-induced G<sub>2</sub>/M transition by oncogenic forms [J]. *Biol Chem*, 1999, 380(2): 223-230.
- [16] 张志华, 吴红海, 薛 改, 等. 柑桔素抑制 CYP450 3A4 活性并减轻异烟肼和利福平合用的肝细胞毒性 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(12): 1619-1622.
- [17] Lynch T, Price A. The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects [J]. *Am Fam Physician*, 2007, 76(3): 391-396.