

- transferase 1 [J]. *Drug Metab Rev*, 2008, 40(1): 169-184.
- [9] 高世勇, 李宇彬. 龙葵碱对人肝癌 Hep G2 细胞 *N*-乙酰基转移酶活性的影响 [J]. *中草药*, 2008, 39(11): 1688-1691.
- [10] Blagosklonny M V, Pardee A B. Exploiting cancer cell cycling for selective protection of normal cells [J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 4301-4305.
- [11] Mushtaq A, Payton M, Sim E. The COOH terminus of arylamine *N*-acetyltransferase from *Salmonella typhimurium* controls enzymic activity [J]. *Biol Chem*, 2002, 277(14): 12175-12181.
- [12] Yang C C, Yang J H, Lu H F, et al. *N*-acetyltransferase activity is involved in paclitaxel-induced *N*-acetylation of 2-aminofluorene in human bladder cancer cells (T24) [J]. *Anticancer Res*, 2007, 24(3a): 1501-1506.
- [13] Lu K H, Wang D Y, Lue K H, et al. PCR and flow cytometric analysis of paclitaxel-inhibited arylamine *N*-acetyltransferase activity and gene expression in human osteogenic sarcoma cells (U-2 OS) [J]. *Anticancer Res*, 2007, 24(1): 83-90.
- [14] Dairou J, Atmane N, Rodrigues-Lima F, et al. Peroxynitrite irreversibly inactivates the human xenobiotic-metabolizing enzyme arylamine *N*-acetyltransferase 1 (NAT1) in human breast cancer cells: a cellular and mechanistic study [J]. *J Biol Chem*, 2007, 279(9): 7708-7714.
- [15] Chung J G, Lu H F, Yeh C C, et al. Inhibition of *N*-acetyltransferase activity and gene expression in human colon cancer cell lines by diallyl sulfide [J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 42(2): 195-202.
- [16] Chiu T H, Chen J C, Chung J G. *N*-acetyltransferase is involved in gypenosides-induced *N*-acetylation of 2-aminofluorene and DNA adduct formation in human cervix epidermoid carcinoma cells (Ca Ski) [J]. *In Vivo*, 2006, 18(3): 281-288.
- [17] Tomomura M, Furuichi T. Apoptosis-associated tyrosine kinase (AATYK) has differential Ca²⁺-dependent phosphorylation states in response to survival and apoptotic conditions in cerebellar granule cells [J]. *Biol Chem*, 2007, 280(42): 35157-35163.

金丝桃苷对离体大鼠腹主动脉的舒张作用及其机制研究

王启海^{1,2}, 陈志武^{1*}

(1. 安徽医科大学 药理学教研室, 安徽 合肥 230032; 2. 安徽中医药高等专科学校 药理学系, 安徽 芜湖 241000)

摘要:目的 研究金丝桃苷对离体大鼠腹主动脉环的舒张作用并探讨其可能的作用机制。方法 在大鼠离体腹主动脉环上, 分别观察累积浓度的金丝桃苷 ($1 \times 10^{-6.5} \sim 1 \times 10^{-4}$ mol/L) 对 KCl (30 mmol/L) 和 U46619 (血栓素类似物, 1×10^{-7} mol/L) 预收缩血管环的作用。结果 金丝桃苷能够浓度依赖性舒张由 KCl 和 U46619 预收缩的血管环, 最大舒张率分别为 (52.2 ± 7.2) %、(80.7 ± 4.1) %; 去除血管内皮后, 最大舒张率分别降为 (15.4 ± 1.2) %、(21.6 ± 1.2) %, 与内皮完整组比较有显著差异 ($P < 0.01$)。在 30 mmol/L KCl 和 1×10^{-7} mol/L U46619 预收缩的内皮完整血管环, 用一氧化氮 (NO) 合酶抑制剂 (*L*-NAME, 3×10^{-4} mol/L) 预温育后, 金丝桃苷的最大舒张率分别降为 (23.0 ± 3.0) %、(40.3 ± 3.6) %, 与未加 *L*-NAME 组比较有显著差异 ($P < 0.01$); 用环氧酶抑制剂吲哚美辛 (1×10^{-5} mol/L) 预温育对金丝桃苷的舒张血管作用没有明显的影响; 在 U46619 预收缩的血管环, 合用 *L*-NAME 和吲哚美辛不能完全阻断金丝桃苷引起的血管舒张, 最大舒张率为 (36.6 ± 1.9) %, 与去内皮组比较差异显著 ($P < 0.01$)。结论 金丝桃苷具有内皮依赖性和较弱的非内皮依赖性血管舒张作用, 其内皮依赖性血管舒张可能涉及到内皮 NO 和内皮依赖性超极化因子 (endothelium derived hyperpolarizing factor, EDHF) 的释放。

关键词: 金丝桃苷; 血管舒张; 内皮依赖性超极化因子 (EDHF)

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)05-0766-05

金丝桃苷属于黄酮醇苷类化合物, 化学名称为槲皮素-3-*O*-*D*-吡喃半乳糖苷, 广泛存在于锦葵科、藤黄科、豆科、杜鹃花科等多种植物中^[1], 是贯叶连翘、红旱莲、黄蜀葵、菟丝子、山楂等植物药中的有效成分^[2]。前期研究表明金丝桃苷对神经细胞^[3]和心肌细胞^[4,5]中钙离子内流有抑制作用, 对心脑血管缺血再灌注性损伤具有明显的保护作用^[4,6]。并且研究还表明金丝桃苷可使狗血压下降, 可抑制去甲肾

上腺素引起的离体家兔主动脉条的收缩^[7], 表明金丝桃苷对家兔血管有舒张作用, 但其血管舒张机制尚未见报道。本研究在离体大鼠腹主动脉血管环上, 观察金丝桃苷的舒张作用, 并探讨其可能的作用机制。

1 材料

1.1 药品与试剂: 金丝桃苷由安徽医学研究所提供, 黄色粉末, 质量分数 96.0 %, 使用前用二甲基

收稿日期: 2009-10-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30840104); 教育部博士点基金资助项目 (2007036605)

作者简介: 王启海 (1980—), 男, 安徽霍邱人, 药理学硕士研究生, 研究方向为心脑血管药理学。

Tel: 15156326268 E-mail: wangqihai_1982@yahoo.com.cn

*通讯作者 陈志武 Tel: 13515669237 E-mail: wzcxiang@mail.hf.ah.cn

亚砷 (DMSO) 溶解, DMSO 在浴槽中的终体积分数为 0.1%^[8]; DMSO、左旋硝基精氨酸甲酯 (L-NAME)、吲哚美辛、乙酰胆碱 (Ach)、U46619 均购自 Sigma 公司, 其他试剂均为分析纯。

1.2 动物: SD 大鼠, 雌雄各半, 由安徽医科大学实验动物中心提供, 合格证号: SCXK(皖)2005-0001, 实验室饲养温度 (22 ± 3)。

2 方法

2.1 大鼠腹主动脉环张力的离体器官测定法^[9]: SD 大鼠, 体质量 200 ~ 250 g, 雌雄各半, 10% 水合氯醛 ip 麻醉, 打开腹腔, 迅速分离并取出腹主动脉, 置盛有冰冷 PSS 液 (mmol/L: 119 NaCl, 4.7 KCl, 1.18 KH₂PO₄, 1.17 MgSO₄, 24 NaHCO₃, 5.5 葡萄糖, 1.6 CaCl₂, 0.026 EDTA, pH: 7.4 ± 0.5) 的培养皿中, 向 PSS 液中通入 95% O₂ + 5% CO₂ 混合气体, 小心剔除血管旁的结缔组织, 将血管切成数个长 3 mm 的血管环。将血管环移入加有 PSS 液的浴槽中, 使其挂在一对平行的不锈钢挂钩上, 上面的挂钩与张力换能器连接以记录血管张力的变化, 下面的挂钩可用测微仪来调节其上下位移。向浴槽中 PSS 液持续通入 95% O₂ + 5% CO₂ 混合气体, 浴槽中 PSS 液温度恒定为 (37 ± 0.2)。静息平衡 30 min 后, 通过测微仪给血管环加上一个 2 g 拉力的前负荷。平衡 1 h 后, 分别以 30 mmol/L KCl 和

1 × 10⁻⁷ mol/L U46619 预收缩血管环^[10], 待收缩曲线达平台稳定后, 每隔 10 min 加入累积浓度的金丝桃苷 (1 × 10^{-6.5} ~ 1 × 10⁻⁴ mol/L), 观察血管环收缩曲线的变化。

血管内皮是否完整是以该血管环对 1 × 10⁻⁵ mol/L Ach 诱导的舒张反应在 80% 以上为标准的^[11]。

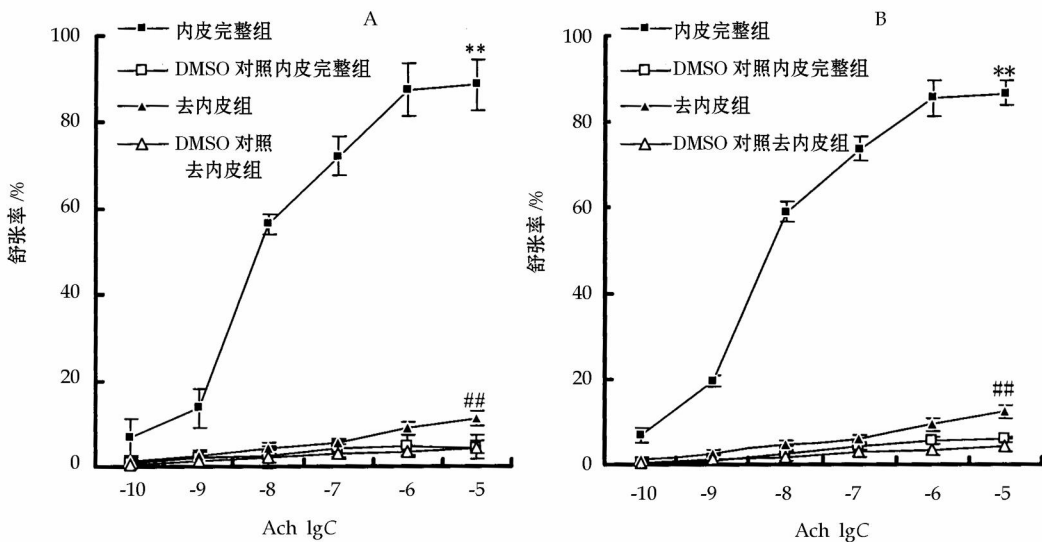
去内皮血管环的制备按照文献方法^[9], 用一根细木棍在血管环内腔轻轻地擦拭几下, 以该血管环对 1 × 10⁻⁵ mol/L Ach 诱导的舒张反应在 20% 以下作为内皮被去除的标准^[11]。

在观察 L-NAME 和吲哚美辛对金丝桃苷舒张作用的影响实验中, 先将血管环分别与一氧化氮合酶 (NOS) 抑制剂 L-NAME (3 × 10⁻⁴ mol/L)、环氧酶抑制剂吲哚美辛 (1 × 10⁻⁵ mol/L) 及 L-NAME + 吲哚美辛预温育 30 min^[12] 后, 再按上述方法观察金丝桃苷 (1 × 10^{-6.5} mol/L ~ 1 × 10⁻⁴ mol/L) 对 30 mmol/L KCl 或 1 × 10⁻⁷ mol/L U46619 预收缩血管环的作用。

2.2 统计分析: 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计分析, 方差齐 (P > 0.05) 采用 LSD 法分析, 方差不齐 (P < 0.05) 采用 Dunnett s T3 法分析。

3 结果

3.1 Ach 验证实验系统可靠性: 如图 1 所示, 溶媒



A-用 30 mmol/L KCl 预收缩 B-用 1 × 10⁻⁷ mol/L U46619 预收缩
与 DMSO 对照(内皮完整)组比较: ** P < 0.01 与内皮完整组比较: ## P < 0.01
A-precontracted with 30 mmol/L KCl B-precontracted with 1 × 10⁻⁷ mol/L U46619
** P < 0.01 vs DMSO control + Endo group ## P < 0.01 vs - Endo group

图 1 Ach 对内皮完整和去内皮的大鼠腹主动脉环的舒张作用 ($\bar{x} \pm s$, n = 6)

Fig. 1 Vasodilation of Ach on abdominal aortic rings of + Endo and - Endo rats ($\bar{x} \pm s$, n = 6)

(DMSO) 对 30 mmol/L KCl 或 1×10^{-7} mol/L U46619 预收缩的内皮完整和去内皮的大鼠腹主动脉环均无明显的影响。Ach 在 $1 \times 10^{-10} \sim 1 \times 10^{-5}$ mol/L 对 KCl 或 U46619 预收缩的内皮完整的血管环均有明显的舒张作用 (与 DMSO 对照组比较, $P < 0.01$), 并呈一定的浓度依赖性, 其最大舒张率分别为 $(88.6 \pm 5.7)\%$ 、 $(86.7 \pm 2.8)\%$; 对 KCl 或 U46619 预收缩的去内皮的血管环的舒张作用明显减弱 (与内皮完整组比较, $P < 0.01$), 其最大舒张率分别为 $(11.2 \pm 1.7)\%$ 、 $(12.4 \pm 1.6)\%$ 。结果证明实验系统是可靠的。

3.2 金丝桃苷对大鼠离体主动脉环的舒张作用: 如图 2 所示, 溶媒 (DMSO) 对 30 mmol/L KCl 或 1×10^{-7} mol/L U46619 预收缩的大鼠腹主动脉环无明显的影响。金丝桃苷在 $1 \times 10^{-6.5} \sim 1 \times 10^{-4}$ mol/L 对 KCl 或 U46619 预收缩的内皮完整的血管环均有明显的舒张作用 (与 DMSO 对照组比较, $P < 0.01$), 并呈一定的浓度依赖性, 其最大舒张率分别为 $(52.2 \pm 7.2)\%$ 、 $(80.7 \pm 4.1)\%$ 。

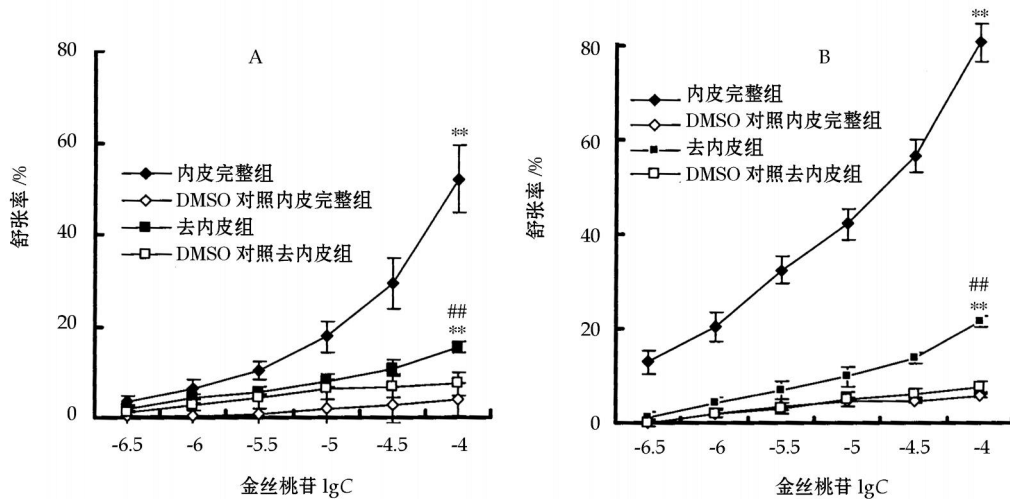
3.3 去除内皮对金丝桃苷舒张作用的影响: 金丝桃苷对 30 mmol/L KCl (图 2-A) 或 1×10^{-7} mol/L U46619 (图 2-B) 预收缩的去内皮血管环的舒张作用明显减弱, 最大舒张率分别从 $(52.2 \pm 7.2)\%$ 、 $(80.7 \pm 4.1)\%$ 降低到 $(15.4 \pm 1.2)\%$ 、 $(21.6 \pm 1.2)\%$ ($P < 0.01$), 但仍留有较弱舒张作用 ($P <$

0.01 , 与 DMSO 组比较)。说明去除内皮可以减弱金丝桃苷的舒张作用, 但不完全阻断舒张作用。

3.4 L-NAME 和 吲哚美辛对金丝桃苷舒张作用的影响: 3×10^{-4} mol/L L-NAME 可明显减弱 $1 \times 10^{-6.5} \sim 1 \times 10^{-4}$ mol/L 金丝桃苷对 30 mmol/L KCl (图 3-A) 或 1×10^{-7} mol/L U46619 (图 3-B) 预收缩血管环的舒张作用 ($P < 0.01$), 但仍保留一定的舒张作用, 其最大舒张率分别降为 $(23.0 \pm 3.0)\%$ 、 $(40.3 \pm 3.6)\%$, 与溶媒对照组比较, 差异仍显著 ($P < 0.01$)。

如图 3-A 和图 3-B 所示, 1×10^{-5} mol/L 吲哚美辛对金丝桃苷的血管舒张作用也有一定的抑制作用, 但无明显的统计学差异 ($P > 0.05$), 金丝桃苷在 30 mmol/L KCl 或 1×10^{-7} mol/L U46619 预收缩血管环上的舒张作用仍较强, 最大舒张率可分别达 $(47.0 \pm 3.8)\%$ 、 $(77.6 \pm 2.8)\%$, 与溶媒对照组比较, 有非常显著的差异 ($P < 0.01$)。

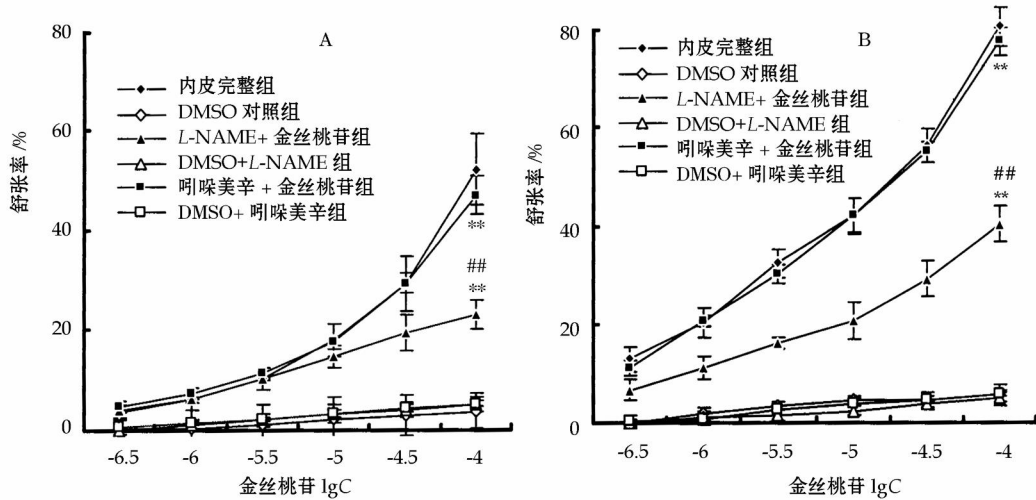
3.5 L-NAME 与 吲哚美辛合用对金丝桃苷舒张作用的影响: 如图 4 所示, 在 30 mmol/L KCl (图 4-A) 或 1×10^{-7} mol/L U46619 (图 4-B) 预收缩的血管环上, 合用 3×10^{-4} mol/L L-NAME 和 1×10^{-5} mol/L 吲哚美辛可明显降低金丝桃苷的血管舒张作用, 金丝桃苷对 30 mmol/L KCl 或 1×10^{-7} mol/L U46619 预收缩血管环的最大舒张率分别从 $(52.2 \pm 7.2)\%$ 、 $(80.7 \pm 4.1)\%$ 降至 $(18.2 \pm 1.4)\%$



A-用 30 mmol/L KCl 预收缩 B-用 1×10^{-7} mol/L U46619 预收缩
与 DMSO 对照(内皮完整)组比较: * $P < 0.01$ 与内皮完整组比较: ## $P < 0.01$
A-precontracted with 30 mmol/L KCl B-precontracted with 1×10^{-7} mol/L U46619
* $P < 0.01$ vs DMSO control + Endo group ## $P < 0.01$ vs + Endo group

图 2 金丝桃苷对内皮完整和去内皮的大鼠腹主动脉环的舒张作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

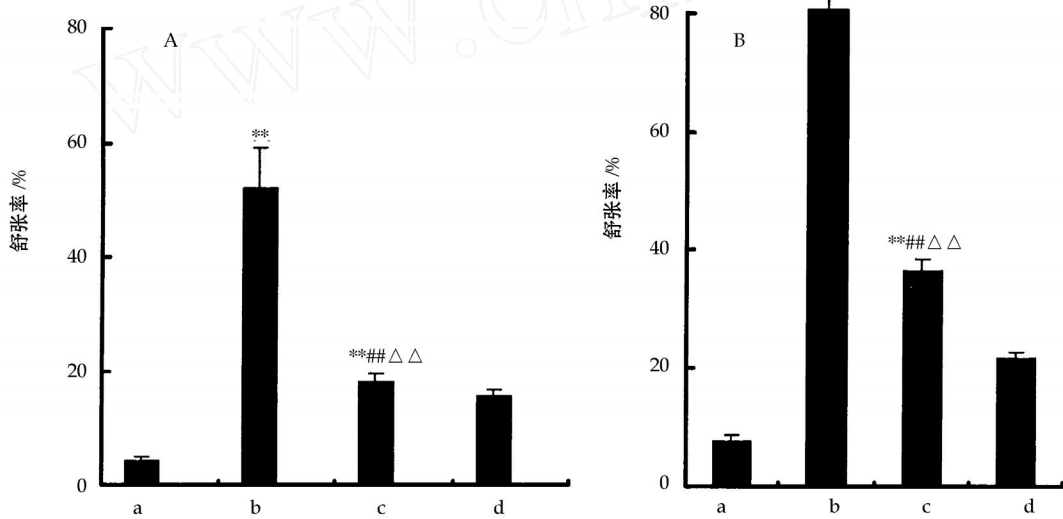
Fig. 2 Vasodilation of Hyp on abdominal aortic rings of + Endo and - Endo rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)



A-用 30 mmol/L KCl 预收缩 B-用 1×10^{-7} mol/L U46619 预收缩
与 DMSO 对照(内皮完整)组比较: $** P < 0.01$ 与金丝桃苷组比较: $## P < 0.01$
A-precontracted with 30 mmol/L KCl B-precontracted with 1×10^{-7} mol/L U46619
 $** P < 0.01$ vs DMSO control + Endo group $## P < 0.01$ vs hyperin group

图 3 L-NAME 或吲哚美辛对金丝桃苷舒张内皮完整大鼠腹主动脉环的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Effects of L-NAME or Indo on Hyp induced vasodilation in abdominal aortic rings of +Endo rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)



A-用 30 mmol/L KCl 预收缩 B-用 1×10^{-7} mol/L U46619 预收缩
a-DMSO 对照组 b-金丝桃苷(内皮完整)组 c-L-NAME+吲哚美辛+金丝桃苷组 d-金丝桃苷(去内皮)组
与 DMSO 对照组比较: $** P < 0.01$ 与金丝桃苷(内皮完整)组比较: $## P < 0.01$ 与金丝桃苷(去内皮)组比较: $P < 0.01$
A-precontracted with 30 mmol/L KCl B-precontracted with 1×10^{-7} mol/L U46619
a-DMSO control group b-hyperin (+Endo) group c-L-NAME+Indo+hyperin d-hyperin (-Endo) group
 $** P < 0.01$ vs DMSO control group $## P < 0.01$ vs hyperin (+Endo) group $P < 0.01$ vs hyperin (-Endo) group

图 4 联合使用 L-NAME 和吲哚美辛对金丝桃苷舒张内皮完整大鼠腹主动脉环作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 4 Effect of combinative L-NAME and Indo on Hyp-induced vasodilation in abdominal aortic rings of +Endo rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)
($P < 0.01$)、(36.6 ± 1.9) % ($P < 0.01$), 但与 DMSO 对照组比较, 仍保留有明显的舒张作用 ($P < 0.01$)。在 1×10^{-7} mol/L U46619 预收缩的血管环上, 金丝桃苷残留的舒张作用明显大于其对去内皮血管环的舒张作用 ($P < 0.01$); 但在 30 mmol/L

KCl 预收缩的血管环上,这种剩留的舒张作用与其对去内皮血管环的舒张作用无明显的差异。

4 讨论

本研究在大鼠腹主动脉环上,对金丝桃苷的血管舒张作用进行了研究,结果发现金丝桃苷在 $1 \times 10^{-6.5} \sim 1 \times 10^{-4}$ mol/L 范围内,对 KCl 或 U46619 预收缩的血管环均有明显的舒张作用,并呈一定的浓度依赖性,其最大舒张率分别为 $(52.2 \pm 7.2)\%$ 、 $(80.7 \pm 4.1)\%$,这与文献报道金丝桃苷可抑制去甲肾上腺素引起的离体家兔主动脉条的收缩^[7]是一致的,表明金丝桃苷确有明显的血管舒张作用。本研究还表明在去除血管内皮后,金丝桃苷的血管舒张作用明显减弱,其对 KCl 和 U46619 预收缩的无内皮血管环的最大舒张率分别从内皮完整血管环上的 $(52.2 \pm 7.2)\%$ 、 $(80.7 \pm 4.1)\%$ 降低到 $(15.4 \pm 1.2)\%$ 、 $(21.6 \pm 1.2)\%$,但与溶媒组比较,仍有明显的差异。结果提示金丝桃苷不仅具有一定的内皮依赖性血管舒张作用,也有较弱的非内皮依赖性血管舒张作用。

由于金丝桃苷的血管舒张作用具有内皮依赖性,因此,血管内皮性的舒张因子很有可能介入了金丝桃苷的血管舒张作用。一氧化氮(NO)和前列环素(PG₂)是2种血管内皮性的血管舒张因子,本研究采用NO合酶抑制剂L-NAME预处理血管环抑制了NO生成后,金丝桃苷的舒张血管作用明显减弱,表明金丝桃苷舒张作用可能与促进血管内皮细胞释放NO有关。但采用环加氧酶抑制剂吲哚美辛预处理血管环抑制PG₂合成后,金丝桃苷的舒张血管作用未见明显的变化,提示金丝桃苷的血管舒张作用可能与PG₂无关。

除NO和PG₂外,血管内皮还可释放内皮依赖性超极化因子(endothelium-derived hyperpolarizing factor, EDHF)来舒张血管平滑肌细胞。EDHF介导的血管舒张系一种非NO和非PG₂的内皮依赖性舒张,伴有血管平滑肌细胞膜电位的超极化。目前对EDHF化学本质还不是很清楚,直接研究EDHF还存在一定的困难,对EDHF的研究主要是观察其生物学功能,即在应用NO和PG₂合成抑制剂排除了NO和PG₂的作用后,观察EDHF诱发的血管平滑肌细胞膜电位的超极化和血管松弛作用。本研究在U46619预收缩的内皮完整的血管环,合用L-NAME和吲哚美辛预处理后,金丝桃苷仍保留有较强的血管舒张作用,并且明显大于金丝桃苷对去内皮血管环的舒张作用。显然这种保留的

舒张作用在减去金丝桃苷非内皮依赖性血管舒张作用(即金丝桃苷对去内皮血管环的舒张)后的舒张系非NO和非PG₂介导的舒张,也即EDHF介导的舒张。因此,提示金丝桃苷诱导的血管舒张可能涉及到EDHF释放。但在30mmol/LKCl预收缩的血管环上,合用L-NAME和吲哚美辛预处理后,金丝桃苷虽也保留一定的舒张作用,但与其对去内皮血管环的舒张作用无明显的差异,提示金丝桃苷对30mmol/LKCl预收缩血管的舒张没有涉及到EDHF,这似乎与其在U46619预收缩血管环上的舒张作用机制不完全相同,推测可能的原因是高K⁺本身也可以抑制内皮细胞释放EDHF^[13,14],抵消了金丝桃苷对EDHF释放的促进作用,但其确切机制有待于进一步研究。

综上所述,金丝桃苷具有内皮依赖性和较弱的非内皮依赖性血管舒张作用,其内皮依赖性血管舒张可能涉及到内皮NO和EDHF的释放。

参考文献:

- [1] 唐丽,李国玉,杨柄友,等. 广枣化学成分的研究[J]. 中草药, 2009, 40(4): 541-543.
- [2] 李贵海,孙敬勇,张希林,等. 山楂降血脂有效成分的实验研究[J]. 中草药, 2002, 33(1): 50-52.
- [3] Chen Z W, Ma C G. Effects of hyperin on free intracellular Ca²⁺ in dissociated neonatal rat brain cells [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 1999, 20: 27.
- [4] 陈志武,马传庚,方明,等. 金丝桃苷对钙离子内流的影响[J]. 药学学报, 1994, 29: 15.
- [5] 李庆林,陈志武,马传庚. 金丝桃苷对原代培养的大鼠心肌细胞缺氧-再给氧损伤的影响[J]. 中草药, 2006, 37(4): 575-577.
- [6] 李庆林,俞桂新,陈志武,等. 金丝桃苷对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国药理学杂志, 2002, 37(11): 829-832.
- [7] 刘赛,张永祥. 金丝桃苷对离体血管条的解痉作用[J]. 长春中医学院学报, 1998, 14(70): 51-52.
- [8] pez-Mirandaa V L, Herradón E, Dannert M T, et al. Anandamide vehicles: a comparative study [J]. *Euro J Pharmacol*, 2004, 505: 151-161.
- [9] Chen Z W, Huang Y, Yang Q, et al. Urocortin-induced relaxation in the human internal mammary artery [J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 65(4): 913-920.
- [10] Jeon S B, Kim G, Kim J I, et al. Flavone Inhibits vascular contraction by decreasing phosphorylation of the myosin phosphatase target subunit [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007, 34: 1116-1120.
- [11] 张必祺,孙坚,胡申江,等. 黄芪的内皮依赖性血管舒张作用及其机制[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2005, 19(1): 44-48.
- [12] Kwan C Y, Zhang W B, Deyama T, et al. Endothelium-dependent vascular relaxation induced by *Eucommia ulmoides* Oliv. bark extract is mediated by NO and EDHF in small vessels [J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2004, 369: 206-211.
- [13] Ohlmann P, Martinez nez M C, Schneider F, et al. Characterization of endothelium-derived relaxing factors released by bradykinin in human resistance arteries [J]. *Brit J Pharmacol*, 1997, 121: 657-664.
- [14] Sakuma I, Liu M Y, Sato A, et al. Endothelium-dependent hyperpolarization and relaxation in mesenteric arteries of middle-aged rats: influence of oestrogen [J]. *Brit J Pharmacol*, 2002, 135: 48-54.