

产地鲜切加工与传统加工乌药饮片抗痛经药效比较研究

罗云云¹, 康显杰¹, 杨莹¹, 张婷¹, 朱涛¹, 吴瑶², 杜伟峰^{2*}, 葛卫红²

1. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053

2. 浙江中医药大学 中药炮制技术研究中心, 浙江 杭州 311401

摘要: 目的 通过痛经模型对产地鲜切加工乌药饮片与传统加工乌药饮片进行药效比较。方法 采用雌激素诱导小鼠痛经模型, 通过记录小鼠扭体反应及前列腺素 E₂ (PGE₂)、前列腺素 F_{2α} (PGF_{2α})、血管加压素 (AVP)、β-内啡肽 (β-EP) 5 个指标的变化来比较 2 种不同加工方式乌药治疗痛经的效果。结果 与模型组比较, 2 种不同加工方式乌药均能明显减少痛经模型小鼠扭体次数 ($P < 0.01$), 降低 PGE₂、PGF_{2α}、AVP 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), 升高 β-EP 水平 ($P < 0.01$), 但两者相同给药剂量结果差异不显著 ($P > 0.05$)。结论 两种不同加工方法乌药均对痛经模型小鼠起到良好的治疗效果, 并且产地鲜切加工乌药与传统加工乌药对痛经模型小鼠的药效强度相当。

关键词: 乌药; 产地鲜切加工; 传统加工; 痛经; 前列腺素 E₂; 前列腺素 F_{2α}; 血管加压素; β-内啡肽

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253 - 2670(2018)20 - 4731 - 06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.20.003

Comparative study on anti-dysmenorrhea efficacy of habitat fresh-cut processed and traditional processed *Linderae Radix*

LUO Yun-yun¹, KANG Xian-jie¹, YANG Ying¹, ZHANG Ting¹, ZHU Tao¹, WU Yao², DU Wei-feng², GE Wei-hong²

1. College of Pharmaceutical Science, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

2. Research Center of Traditional Chinese Medicine Processing Technology, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311401, China

Abstract: Objective To evaluate the anti-dysmenorrhea efficacy of habitat fresh-cut processed and traditional processed *Linderae Radix* based on the dysmenorrhea model. **Methods** By using the estrogen-induced dysmenorrhea model of ICR mice, the effect of treatment from two different processing methods on dysmenorrhea was compared by recording the writhing reaction as well as the changes of levels of prostaglandin E₂ (PGE₂), prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}), vasopressin (AVP), and β-endorphin (β-EP). **Results** Compared with the model group, *Linderae Radix* from two different processing methods significantly reduced the frequency of writhing ($P < 0.01$), reduced the contents of PGE₂, PGF_{2α}, and AVP ($P < 0.05$, 0.01) and increased the content of β-EP ($P < 0.01$). However, there was no significant difference between two methods of *Linderae Radix* administration for the same dose ($P > 0.05$).

Conclusion The two processing methods of *Linderae Radix* both have good therapeutic effect on dysmenorrhea model mice, and the effect of habitat processed *Linderae Radix* is not inferior to that of traditional processed *Linderae Radix*.

Key words: *Linderae Radix*; habitat processing; traditional processing; dysmenorrhea; prostaglandin E₂; prostaglandin F_{2α}; vasopressin; β-endorphin

为规范中药产地加工、炮制生产工艺, 解决因交叉重复、加工操作繁琐所导致中药饮片有效成分流失等问题, 国家中医药管理局组织开展了中药饮片产地加工与炮制生产一体化关键技术规范研究。

在此背景下, 本课题组以乌药为研究对象, 通过技术研究与集成创新, 将中药饮片产地加工与炮制生产相关工序进行有机整合, 开展乌药饮片产地加工与炮制生产一体化研究。乌药为樟科植物乌药

收稿日期: 2018-02-14

基金项目: 国家中药标准化项目 (ZYBZH-H-ZY-45); 中医药行业科研专项“中药饮片质量保障系统研究 (一)”(201507002); 浙江省公益性技术应用研究计划资助项目 (2015C33152); 浙江中医药大学重中之重一级学科开放基金项目 (2016); 国家自然科学基金预研专项 (2016ZG19)

作者简介: 罗云云 (1994—), 男, 在读硕士研究生, 研究方向为中药药理与新产品开发。Tel: 13486170233 E-mail: luoyy94@163.com

*通信作者 杜伟峰 (1984—), 男, 副研究员, 研究方向为中药炮制与质量控制研究。Tel: (0571)87195895 E-mail: duweifeng_200158@sohu.com

Lindera aggregate (Sims) Kosterm. 的干燥块根，为传统的理气药，具有行气止痛、温肾散寒之功，用于胸膈痞闷、食欲不振、寒凝气滞、气滞腹痛、行经腹痛^[1]。《本草汇言》特别指出“妇人温经，非此不行”，说明乌药温经行气效果显著^[2]。乌药传统产地加工方法为新鲜药材采挖后，除去须根，洗净，切薄片后晒干，或者是洗净后直接晒干。生饮片炮制方法为已切片者除去杂质，筛去灰屑；未切片者除杂，洗净，润软，切薄片，干燥。因为乌药多为初冬采挖，天气偏阴雨，晒干时间长，易造成二次污染，影响药效。结合实际情况本研究提出了乌药产地炮制加工一体化方法即产地鲜切加工，前期本课题组对 2 种加工方法饮片进行了质量评价^[3]，本研究主要对 2 种不同加工方法饮片的药效开展比较研究。

现代药理研究认为痛经是因为前列腺素 (PG) 等相关激素的改变导致的子宫强烈痉挛、子宫血液流变学改变而引起，相关激素主要以前列腺素 E₂ (PGE₂)、前列腺素 F_{2α} (PGF_{2α})、血管加压素 (AVP)、β-内啡肽 (β-EP) 为代表。以延胡索等为代表的活血化瘀中药能够通过调节诸多激素水平的变化达到改善微循环、扩张血管或加快血流的作用，对于缓解疼痛具有重要意义^[4-7]。本研究采用雌激素诱导小鼠痛经模型，通过记录小鼠扭体反应，比较 PGE₂、PGF_{2α}、AVP、β-EP 激素指标的含量变化，验证乌药能够通过改变激素水平的变化来抑制痛经的发生，并且比较产地鲜切加工和传统加工方式对乌药行气止痛药效的影响，为其产地炮制加工一体化可行性提供参考。

1 材料

1.1 动物

清洁级雌性 ICR 小鼠 108 只，6~8 周龄，体质量 (28±2) g，由浙江中医药大学实验动物中心提供，许可证号 SCXK (沪) 2013-0016，饲养环境温度 20~25 °C，湿度 40%~60%，12 h 光照/12 h 黑暗条件。

1.2 药物和试剂

原药材乌药采自浙江衢州，由衢江顶峰中药材合作社提供，经浙江中医药大学中药饮片有限公司主管中药师钱敏鉴定为樟科植物乌药 *Lindera aggregate* (Sims) Kosterm. 的干燥块根。液相用甲醇、乙腈为色谱纯 (美国 Tedia 试剂有限公司)；水为娃哈哈纯净水；苯甲酸雌二醇 (批号 C16-E10099，

质量分数 ≥ 98%)、注射用大豆油 (批号 CLS-201707)，上海创赛科技有限公司；缩宫素注射液 (批号 170530，10 U/mL，上海禾丰制药有限公司)；痛经宝颗粒 (批号 170102，河南宛西制药股份有限公司)；PGE₂、PGF_{2α} ELISA 检测试剂盒 (美国 Cayman 化学试剂有限公司)；AVP、β-EP ELISA 检测试剂盒 (上海酶联试剂有限公司)；乌药醚内酯对照品 (批号 111568-201204，质量分数 99.5%，中国食品药品检定研究院)；乌药内酯对照品 (批号 W-029151111，质量分数 98%，上海顺勃生物工程技术有限公司)；乌药醇对照品 (批号 ST16930120，质量分数 98%，成都瑞芬思生物科技有限公司)。

1.3 仪器

UltiMate 3000 型高效液相色谱仪 (包括四元梯度泵、在线真空脱气机、自动进样器、恒温柱温箱、DAD 检测器，美国戴安公司)；变色龙色谱数据工作站 (美国赛默飞世尔科技有限公司)；Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm，美国 Agilent 公司)；数显电子恒温水浴锅 (天津泰斯特仪器有限公司)；Al-204 型电子分析天平 (瑞士梅特勒托利多仪器有限公司)；BP210S 型十万分之一电子天平 (瑞士 Sartorius 公司)；KQ-500DB 型数控超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司)；Powerwave340 酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司)；MICROCL17 微量离心机 (美国 Thermo 公司)。

2 方法

2.1 乌药药材的加工

传统加工方法为新鲜乌药采挖后除去须根和不可入药的老根、朽根，洗净，切薄片，晒干。产地鲜切加工方法为新鲜乌药采挖后除去须根和不可入药的老根、朽根，洗净，稍微晾干表面水分，直接切 2 mm 薄片，装载量 8 kg/m² 平铺，65 °C 烘干 10 h。

2.2 乌药饮片 HPLC 测定^[8]

2.2.1 对照品溶液的制备 精密称取乌药醚内酯对照品 14.49 mg 置于 50 mL 量瓶中加甲醇至刻度，溶解摇匀，得乌药醚内酯对照品储备液；精密称取乌药内酯对照品 15.09 mg 置于 50 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，溶解摇匀，得乌药内酯对照品储备液；精密称取乌药醇对照品 9.78 mg 置于 50 mL 量瓶中，加甲醇至刻度，溶解摇匀，得乌药醇对照品储备液；取 2.56 mL 的乌药醚内酯对照品储备液、2.47 mL

乌药内酯对照品储备液、3.69 mL 乌药醇对照品储备液加甲醇定容至 10 mL, 得到混合对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 分别精密称取产地鲜切加工和传统加工方式制得的乌药粉末(过3号筛)0.25 g, 置于10 mL量瓶中, 加入正己烷精确定容至10 mL, 超声1 h, 12 000 r/min离心5 min, 取上清液, 0.42 μm滤膜滤过, 取续滤液至样品瓶备用。
2.2.3 色谱条件 十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 流动相为乙腈(A)-纯水(B), 进行梯度洗脱: 0~5 min, 35% A; 5~25 min, 35%→55% A; 25~33 min, 55%→63% A; 33~40 min, 63%→62% A; 40~60 min, 62%→100% A; 60~65 min, 100%→35% A; 65~70 min, 35% A; 检测波长为235 nm, 理论板数不低于2 000。色谱图见图1。

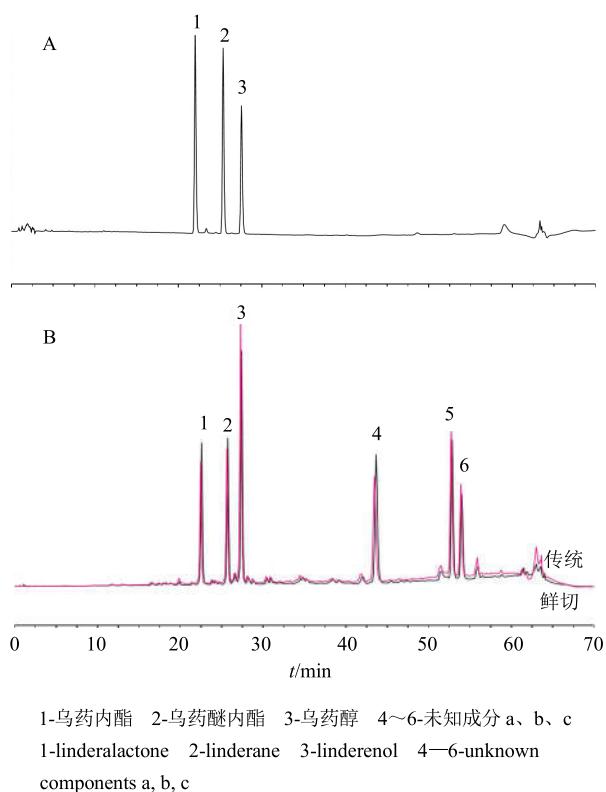


图1 混合对照品(A) 产地鲜切加工与传统加工乌药样品(B) HPLC 色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of mixed reference substances (A) and habitat fresh-cut processing and traditional processing of *Linderae Radix* (B)

2.2.4 线性关系考察 取3种对照品储备液, 在“2.2.3”项色谱条件下进样, 进样质量浓度分别为50、100、150、200、250、300 μg/mL, 以对照品质量浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归, 得乌药醇内酯回归方程 $Y=0.137\ 8 X -$

0.455 7 ($R^2=0.999\ 9$), 线性范围50~300 μg/mL; 乌药内酯回归方程 $Y=0.202\ 0 X - 0.628\ 4$ ($R^2=0.999\ 0$), 线性范围50~300 μg/mL; 乌药醇回归方程 $Y=0.086\ 1 X - 0.386\ 1$; $R^2=0.995\ 0$, 线性范围50~300 μg/mL。

2.3 体内实验样品制备

取不同加工方式的乌药饮片各117 g, 加10倍量水, 水浴加热提取1 h, 取滤液, 再加10倍量水, 水浴加热提取1 h, 合并滤液, 浓缩至300 mL, 得乌药水提液(生药质量0.39 g/mL)。

取痛经宝颗粒20 g, 加水51 mL, 得质量浓度为0.39 g/mL的溶液, 作为阳性药。

2.4 分组、造模与给药

108只ICR小鼠适应性喂养1周后, 按体质量随机分为9组, 每组12只, 分别为对照组, 模型组, 阳性药组(痛经宝颗粒2.6 g/kg), 产地鲜切加工(鲜切)乌药高、中、低剂量(3.9、2.6、1.3 g/kg)组, 传统加工(传统)乌药高、中、低剂量(3.9、2.6、1.3 g/kg)组。除对照组外, 其余各组sc苯甲酸雌二醇溶液连续15 d(第1天和第15天给予2.5 mg/kg, 第2~14天给予1 mg/kg), 对照组sc相应剂量大豆油; 在第4天给予苯甲酸雌二醇1 h后开始给药, 各给药组均ig给予相应剂量受试药, 给药体积为0.1 mL/15 g, 每天1次, 连续12 d, 对照组和模型组ig给予等体积生理盐水。

2.5 缩宫素致小鼠扭体次数的测定

末次给药40 min后, 各组小鼠ip缩宫素20 U/kg, 记录各组小鼠30 min内扭体次数。

2.6 子宫组织匀浆中PGE₂、PGF_{2α}和血清中AVP、β-EP活性检测

扭体计数后, 小鼠眼眶取血1.5 mL, 离心取血清, 按照试剂盒说明书要求分别测定AVP、β-EP水平。眼眶取血后小鼠脱颈处死, 取子宫观察外观形态, 再取0.1 g于900 μL生理盐水中, 制备匀浆, 取上清; 按照试剂盒说明书要求分别测定PGE₂、PGF_{2α}水平。

2.7 统计学分析

各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SPSS 19.0软件进行统计分析, 组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。

3 结果

3.1 产地鲜切加工和传统加工方式乌药主要成分

产地鲜切加工和传统加工方式制得的乌药各3

批,采用HPLC法检测3种主要成分的含量,结果见表1。

3.2 对痛经模型小鼠的镇痛作用

缩宫素致小鼠扭体反应结果见表2,对照组小鼠未出现扭体反应,模型组小鼠的扭体次数显著高于对照组($P<0.01$),表明造模成功。痛经宝颗粒和各乌药给药组小鼠扭体反应次数均显著低于模型组($P<0.01$),表明痛经宝颗粒和2种不同加工方式的乌药均能缓解小鼠的痛经。2种加工方式同剂量给药组比较,鲜切乌药组小鼠扭体次数较传统乌药组减少,但各组间差异不显著($P>0.05$),说明产地鲜切加工乌药饮片与传统加工乌药饮片对痛经的镇痛效果相当。

表1 产地鲜切加工与传统加工乌药主要成分含量($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

乌药	乌药内酯/%	乌药醚内酯/%	乌药醇/%
产地鲜切加工	0.325 3±0.020 7	0.239 3±0.035 4	0.850 3±0.033 7
传统加工	0.316 9±0.045 6	0.206 1±0.029 7	0.780 7±0.029 1

表2 乌药对痛经模型小鼠的镇痛作用($\bar{x} \pm s$, $n=12$)
Table 2 Analgesic effect of *Linderae Radix* on mice with dysmenorrhea ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	扭体次数
对照	—	0
模型	—	40.14±5.94**
痛经宝颗粒	2.6	9.25±3.96***#
传统乌药	1.3	16.38±2.67***#
	2.6	16.00±5.63***#
	3.9	12.00±5.81***#
鲜切乌药	1.3	14.75±8.50***#
	2.6	10.63±5.50***#
	3.9	10.75±6.23***#

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$ # $P<0.01$, 下同

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

3.3 对痛经模型小鼠子宫形态的影响

观察扭体反应后取各组小鼠子宫,观察子宫形态,对照组小鼠子宫2条输卵管均红润紧致,正常充血,无水肿;模型组小鼠子宫2条输卵管色泽偏暗,有明显的水肿,形态扭曲;乌药给药组小鼠,低剂量组子宫输卵管有轻微水肿,水肿程度比模型

组轻,中、高剂量组输卵管与正常子宫形态无明显差别。对比各组小鼠扭体次数及子宫形态,发现子宫水肿程度越严重,扭体次数越多。

3.4 对痛经模型小鼠子宫组织匀浆中 PGE₂、PGF_{2α}的影响

采用ELISA试剂盒对痛经模型小鼠的子宫匀浆中PGE₂、PGF_{2α}含量进行检测,并且计算PGF_{2α}/PGE₂的值,结果见表3。模型组小鼠子宫匀浆中PGE₂和PGF_{2α}水平显著高于对照组($P<0.01$),说明痛经小鼠的PGE₂、PGF_{2α}高于正常小鼠;痛经宝颗粒组及2种不同加工方式各剂量乌药组小鼠子宫匀浆中的PGE₂、PGF_{2α}水平显著低于模型组($P<0.05$ 、 0.01),2种加工方法乌药组均呈现出剂量依赖性,2种不同加工方式的乌药相同剂量组间差异均无显著性。正常小鼠PGF_{2α}/PGE₂值在2左右,而模型组小鼠PGF_{2α}/PGE₂值上升至4左右,差异显著($P<0.01$);而痛经宝颗粒组和2种不同加工方法不同剂量乌药组小鼠PGF_{2α}/PGE₂值均介于2~4,与对照组和模型组比较差异均显著($P<0.01$),说明小鼠痛经过程中,虽然PGF_{2α}与PGE₂均显著升高,但是PGF_{2α}增加程度远高于PGE₂,治疗药物能有效抑制PGF_{2α}和PGE₂的增加。

3.5 对痛经模型小鼠血清中AVP、β-EP的影响

采用ELISA试剂盒对痛经模型小鼠血清中AVP、β-EP含量进行检测,结果见表3。模型组小鼠血清中AVP水平显著高于对照组($P<0.01$),说明AVP对小鼠的痛经疼痛起促进作用,而β-EP含量显著低于对照组($P<0.01$),说明β-EP对小鼠的痛经疼痛起抑制作用。痛经宝颗粒组与2种不同加工方式各剂量乌药组小鼠血清的AVP水平显著低于模型组($P<0.01$),β-EP水平显著高于模型组($P<0.01$)。

4 讨论

中医认为痛经主要是由寒凝、血瘀、气滞导致气血积滞于冲任胞宫,经血不能顺利排出,主要是因为“血与气两不流利,致令月水结搏于脐腹间,刺疼痛”,戴原礼《证治要诀》提出的“血之不调,欲调其血,先调其气”。而乌药作为传统的行气止痛、温肾散寒药,能够理气行滞温经、理七情郁结、攻女人滞凝血气。因此本研究采用痛经模型来研究乌药行气止痛功效,具有一定的代表性。并且本研究采用的雌激素诱导提高小鼠子宫对催产素的感受能力,在注射催产素后致使其子宫内膜急剧收

表3 乌药对痛经模型小鼠子宫组织中 PGE₂、PGF_{2α}和血清中 AVP、β-EP 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)Table 3 Effect of *Linderae Radix* on PGE₂, PGF_{2α} in uterine tissue and AVP, β-EP in serum of mice with dysmenorrhea ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	PGE ₂ /(pg·mL ⁻¹)	PGF _{2α} /(pg·mL ⁻¹)	PGF _{2α} /PGE ₂	β-EP/(pg·mL ⁻¹)	AVP/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	11.28±3.89	28.80±8.47	2.00±0.15	9.99±0.93	7.87±0.95
模型	—	22.28±3.10**	85.52±19.11**	4.23±1.08**	5.86±0.70**	17.41±1.77**
痛经宝颗粒	2.6	13.78±4.18##	47.08±6.67###	2.82±0.34###	9.32±1.27##	10.99±1.14###
传统乌药	1.3	18.11±3.26##	56.54±7.78###	3.02±0.25###	7.62±0.70###	13.71±1.55###
	2.6	17.21±4.02###	57.15±6.14###	3.17±0.27###	8.47±0.89###	13.52±1.30###
	3.9	17.07±2.21###	54.31±5.21###	3.17±0.21###	8.82±1.45##	12.77±1.49###
鲜切乌药	1.3	18.47±3.42##	56.39±9.21###	3.01±0.58###	7.27±0.57###	12.95±1.29###
	2.6	16.85±2.70###	55.46±5.45###	3.45±0.22###	8.29±1.39###	13.06±0.89###
	3.9	16.20±2.59###	50.56±9.64###	3.19±0.33###	8.41±0.89###	11.60±1.74###

缩，能够很好地模拟痛经的发生，模型组与对照组的扭体反应差异也证实了该痛经模型有效。

本研究由雌激素苯甲酸雌二醇引起雌性小鼠痛经模型，通过记录注射缩宫素后 30 min 的扭体次数，检测子宫匀浆中 PGE₂、PGF_{2α} 和血清中 β-EP、AVP 的水平，发现模型组小鼠的扭体次数和 PGE₂、PGF_{2α} 及 AVP 水平远高于对照组和给药组，而 β-EP 水平远低于给药组和对照组。文献研究指出 PG 合成和分泌过多，一直被医学界认为是原发性痛经的重要机制，子宫内膜上的螺旋动脉壁中含有 PGF_{2α} 的作用受体，当其与这些受体作用时，可引起子宫血管收缩，子宫体的供血也会受到影响，导致子宫血供减少，也会发生不可避免的疼痛。而 PGE₂ 则是让子宫停止收缩和促进子宫舒张，这两者一强一弱，共同调控子宫活动^[9-10]。而且在经行期间 PGF_{2α}/PGE₂ 值也相对高，使得子宫肌层活动加强，但是 PGF_{2α} 增加程度远高于 PGE₂，比值的升高促使子宫平滑肌收缩，子宫血流量降低，继而发生强烈的痉挛性收缩效应，造成疼痛。AVP 是引发子宫肌收缩功能的必需分子，作用于子宫 V₁ 加压素受体，引起子宫肌层的活力增强和子宫的收缩，使子宫局部血流量减少，疼痛加剧^[11]。β-EP 是一种类吗啡神经激素，可结合吗啡受体产生内源性的镇痛作用，黄体期体内性激素水平的变化使 β-EP 水平明显降低导致子宫功能活动失常，β-EP 浓度的上升可缓解子宫肌痉挛，舒张子宫血管，改善子宫血流变，达到解除或缓解疼痛的目的^[12]。综合上述各指标的变化及各组小鼠扭体次数的差异，说明乌药行气止痛的功效与 PGE₂、

PGF_{2α}、β-EP 和 AVP 等激素有关，能够通过改变这几个指标的水平有效地抑制痛经小鼠的疼痛感。比较 2 种加工方式乌药对痛经小鼠各项指标的影响结果表明，2 种不同加工方式的各剂量乌药均能有效缓解痛经疼痛及改善激素水平的变化，2 种加工方式同剂量乌药的药效相当。

本研究结果显示相同加工方法不同剂量乌药对小鼠痛经的抑制程度呈剂量依赖性，但剂量间差异不显著，说明乌药不同剂量的量效关系不明显，这可能与乌药有效成分的入血吸收有关，具体机制以及有效止血成分还需进一步的药理药效动力学研究验证。2 种不同加工方法乌药的含量测定结果显示，鲜切乌药饮片中乌药酰内酯、乌药内酯及未知成分 a 含量略高于传统乌药饮片，而乌药醇含量低于传统饮片，但几个主要成分含量差异均无显著性。综合药效实验结果表明 2 种加工方法乌药在通经止痛的药效方面作用一致，可初步说明产地鲜切加工乌药非劣于传统加工，但是产地鲜切加工节省了干燥时间，提高了加工效率，降低了生产成本，并且能够减少其长时间暴露在空气中的二次污染，更具安全性。

综上所述，乌药的产地鲜切加工初步可行，但具体的操作认证还需要更为全面的探讨研究。

参考文献

- [1] 李时珍. 本草纲目 [M]. 北京: 中国书店出版社, 2013.
- [2] 明·倪朱谟编著. 本草汇言 [M]. 上海科学技术出版社, 2005.
- [3] 康显杰. 乌药产地鲜切加工工艺研究及其等效性评价 [D]. 杭州: 浙江中医药大学, 2018.

- [4] 陈岳涛, 曹蔚, 谢艳华, 等. 元胡止痛片及其主要成分对大鼠实验性痛经的影响 [J]. 陕西中医, 2013, 34(1): 111-114.
- [5] 王艳英. 原发性痛经发病机制及治疗的研究进展 [J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(7): 2447-2449.
- [6] 梁颂婉. 痛经历代文献及方药证治规律研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2012.
- [7] 冯玥, 朱振娜, 胡金芳, 等. 元胡止痛滴丸对痛经模型镇痛作用的配伍合理性和比较优势研究 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(7): 917-921.
- [8] 张婷, 康显杰, 杨莹, 等. 不同产地乌药质量的评价 [J]. 中成药, 2017, 39(10): 2113-2118.
- [9] 王建冬, 何贵翔. 原发性痛经的中医治疗概况 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(1): 40-41.
- [10] 杨继红, 陈英, 胡佳贞. 中学女生外周血前列腺素与原发性痛经关系 [J]. 中国公共卫生, 2011, 27(8): 1042-1043.
- [11] 李亚洲, 佟继铭. 原发性痛经发病机制与治疗 [J]. 承德医学院学报, 2011, 28(2): 193-195.
- [12] 王芬, 李大剑, 周军, 等. 痛经宁对气滞血瘀型原发性痛经患者血清前列腺素和 β -内啡肽的影响 [J]. 安徽中医学院学报, 2012, 31(3): 20-23.