

桃红四物颗粒对寒凝血瘀痛经大鼠的治疗作用及机制

吴珊¹, 汪蒙蒙¹, 彭代银¹, 陈卫东¹, 吴宗好², 韩岚^{1*}

(1. 安徽中医药大学药学院, 中药复方安徽省重点实验室, 合肥 230012; 2. 合肥华方医药科技有限公司, 合肥 230088)

[摘要] 目的: 观察桃红四物颗粒对寒凝血瘀痛经大鼠的干预作用。方法: 健康SD雌性大鼠60只, 随机分为6组, 分别为正常组、模型组、桃红四物颗粒高、中、低剂量组(18, 9, 4.5 g·kg⁻¹)和妇科千金片组(0.08 g·kg⁻¹), 每天灌胃补佳乐(0.35 mg·kg⁻¹)后冰水浴8 min, 连续10 d, 于第11天腹腔注射缩宫素(2 U/只), 建立寒凝血瘀型痛经大鼠模型。观察大鼠毛发色泽, 精神状况, 大鼠出现寒颤, 弓背竖毛, 耳尾爪苍白, 反应迟钝, 大便稀溏, 小便色清等症状, 注射完缩宫素后出现扭体反应即寒凝血瘀型痛经大鼠造模成功。测量桃红四物颗粒对造模成功大鼠血液流变学的影响, 酶联免疫吸附测定(ELISA)检测大鼠血清中6-酮前列腺素F_{1α}(6-keto-PGF_{1α}), 血栓素B₂(TXB₂)和子宫组织中前列腺素F_{2α}(PGF_{2α}), 前列腺素E₂(PGE₂)水平, 用激光共聚焦显微镜扫描并检测子宫组织Ca²⁺。结果: 与正常组比较, 模型组痛经大鼠的扭体次数明显升高(P<0.05, P<0.01), 与模型组比较, 桃红四物颗粒各剂量组均使痛经大鼠的扭体次数明显降低(P<0.05, P<0.01); 与正常组比较, 模型组全血黏度及血浆黏度明显升高(P<0.05, P<0.01), 与模型组比较, 桃红四物颗粒高、中、低剂量组可明显降低全血黏度及血浆黏度(P<0.05, P<0.01); 与正常组比较, 模型组血清中TXB₂含量升高, 6-keto-PGF_{1α}含量降低, 子宫中Ca²⁺, PGF_{2α}含量升高, PGE₂含量降低, 与模型组比较, 桃红四物颗粒能显著降低血清中TXB₂含量, 显著升高血清中6-keto-PGF_{1α}含量, 显著降低子宫中Ca²⁺, PGF_{2α}含量, 显著升高子宫中PGE₂含量(P<0.05, P<0.01)。结论: 桃红四物颗粒可以明显改善寒凝血瘀痛经大鼠症状, 其作用机制可能与大鼠血清中6-keto-PGF_{1α}, TXB₂和子宫组织中PGF_{2α}, PGE₂以及Ca²⁺含量有关。

[关键词] 桃红四物颗粒; 寒凝血瘀; 痛经; 大鼠

[中图分类号] R2-0; R22; R285.5; R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)14-0111-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20201404

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200428.1655.004.html>

[网络出版日期] 2020-4-28 17:09

Therapeutic Effect and Mechanism of Taohong Siwu Granule on Rats with Dysmenorrhea Due to Cold Coagulation and Blood Stasis

WU Shan¹, WANG Meng-meng¹, PENG Dai-yin¹, CHEN Wei-dong¹, WU Zong-hao², HAN Lan^{1*}

(1. School of Pharmacy of Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Province Key Laboratory of Chinese Medicinal Formula, Hefei 230012, China; 2. Hefei Huafang Pharmaceutical Science & Technology Co. Ltd., Hefei 230088, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Taohong Siwu granule on dysmenorrhea rats. **Method:** Forty-eight healthy SD female rats were randomly divided into six groups: control group, model group, Taohong Siwu granule groups (18, 9, 4.5 g·kg⁻¹) and Fuke Qianjin tablet group (0.08 g·kg⁻¹). The rats were given Bugaorer (0.35 mg·kg⁻¹) every day and ice-water bath for 8 minutes for 10 consecutive days. Oxytocin was injected intraperitoneally on the 11th day. The writhing reaction of rats was observed, and the effect of Taohong Siwu granules on hemorheology was measured. The levels of 6-ketoprostacyclin F_{1α}(6-keto-PGF_{1α}),

[收稿日期] 20191228(001)

[基金项目] 安徽省重点研究与开发计划项目(1704a0802141); 安徽高校自然科学基金项目(KJ2019A0467)

[第一作者] 吴珊, 硕士, 从事中药药理研究, E-mail: iloveflower384@qq.com

[通信作者] *韩岚, 博士, 副教授, 从事中药药理研究, E-mail: hanlan56@ahctm.edu.cn

thromboxane B₂ (TXB₂), prostaglandinF_{2α} (PGF_{2α}), PGE₂ of rats were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Ca²⁺ in uterine tissues was scanned by laser confocal microscopy. **Result:** Each dose of Taohong Siwu granule group reduced the number of writhing, the time of writhing and the incidence of writhing in dysmenorrhea rats, which were significantly lower than those in model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, high, medium and low-dose Taohong Siwu granules groups could reduce blood viscosity and plasma viscosity, and Taohong Siwu granules can significantly reduce the content of TXB₂, Ca²⁺, PGF_{2α}, and significantly increase the content of 6-keto-PGF_{1α}, PGE₂ ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Taohong Siwu granule can significantly alleviate dysmenorrhea symptoms in rats. The mechanism may be correlated with the contents of 6-keto-PGF_{1α}, TXB₂ and PGF_{2α}, PGE₂ and Ca²⁺.

[Key words] Taohong Siwu granule; cold coagulation and blood stasis; dysmenorrhea; rat

随着社会节奏的加快,女性社会压力加大,近年痛经发病率逐年上升,其已成为危害妇女身心健康的常见妇科疾病^[1-4]。原发性痛经为女性在月经期下腹部出现痉挛性疼痛,进而引发全身不适反应。现代研究认为,原发性痛经与月经的周期性变化息息相关,与机体的内分泌改变相关。在原发性痛经的行成过程中,合成并分泌前列腺素(PG),血栓素B₂(TXB₂)相关炎症因子和Ca²⁺等内源性物质,从不同的途径促进原发性痛经的发生。中医理论认为,原发性痛经症型主要分为6种证型,其中寒凝血瘀型痛经分布最多^[5]。因此,具有活血祛瘀功效的中药开发研究对于防治原发性痛经是十分有必要的。

桃红四物汤是治疗妇科疾病的常用经典方剂,由四物汤加桃仁、红花组成,在治疗月经病血瘀证方面疗效显著^[6-8]。随着中药现代发展战略的提出,针对传统中药复方服用习惯与现代需求的矛盾,课题组在桃红四物汤基础上开发桃红四物颗粒药物^[9],其对于患者的服用和药物的推广应用更加便捷。因此,基于原方进行桃红四物颗粒研制开发工作,以寒凝血瘀病机为切入点,探讨桃红四物颗粒药效作用,以期经典方剂的临床应用和研发提供有益参考。

1 材料

1.1 动物 购买清洁级雌性健康未孕SD大鼠,体重(200±20)g,合格证号SCXK(皖)2017-001。室内温度保持在(24±2)℃,湿度为50%~60%,自由饮食饮水,适应性饲养1周。经安徽中医药大学实验动物伦理委员会审查通过,伦理审查编号312 AHUCM-rats-2018002。

1.2 药品与试剂 桃红四物颗粒(合肥华方医药科技有限公司,批号190805);戊酸雌二醇片(拜耳医药保健有限公司,批号J20171038);妇科千金片

(株洲千金药业股份有限公司,批号Z43020027),缩宫素注射液(上海禾丰制药有限公司,批号09171105);亚甲基蓝三水合物(上海阿拉丁生物技术公司,批号E1927096);大鼠6-酮前列环素F_{1α}(6-keto-PGF_{1α}),TXB₂酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(武汉酶免生物科技有限公司,批号分别为MM-0762R1,MM-0516R1);大鼠前列腺素F_{2α}(PGF_{2α}),前列腺素E₂(PGE₂)ELISA试剂盒(武汉基因美生物科技有限公司,批号分别为JYM0097Ra,JYM0446Ra);Fluo-3AM(金克隆生物技术有限公司,批号CS1213);DMEM完全高糖培养液(江苏凯基生物技术股份有限公司,批号KGM12800S-500)。**1.4 仪器** SA-9000型全自动血流变仪(北京赛科世纪科技股份有限公司);MSS型全波长酶标仪(美国Thermo公司);FV1000型激光共聚焦显微镜(日本Olympus公司);LC-4016型低速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);BHWY-100BC型恒温振荡培养箱(常州杰博森仪器有限公司)。

2 方法

2.1 寒凝血瘀型痛经大鼠造模^[10-13] 用阴道涂片法筛选60只处于动情间期的健康雌性未孕大鼠。随机分为6组,分别为正常组、模型组、桃红四物颗粒高、中、低剂量组和妇科千金片组。从第1天开始,除正常组外对大鼠按照10 mL·kg⁻¹的体质量灌胃补佳乐(0.35 mg·kg⁻¹),然后将大鼠后腹部与后爪都浸浴于冰水混合物(0~4℃)中冰水浴8 min,1次/d,连续10 d。于造模第5天起,对大鼠按照10 mL·kg⁻¹的体质量灌胃给药桃红四物颗粒高、中、低剂量组(18,9,4.5 g·kg⁻¹)(按公斤体质量计算相当于临床人用量的20,10,5倍)和妇科千金片(0.08 g·kg⁻¹),正常组与模型组分别给予等体积的蒸馏水灌胃连续7 d。于第11天灌胃后腹腔注射缩宫素(2 U/只)。

2.2 扭体反应检测 挑选模型成功大鼠,末次给药后,观察注射完缩宫素后10~30 min的扭体反应,记录大鼠扭体数发生时间(min)和扭体数(次)。

2.3 血液流变学检测 大鼠处死前大鼠禁食12 h,末次给药后,大鼠腹腔注射3.5%水合氯醛麻醉,仰卧于解剖台,腹主动脉取血,取5 mL血于含肝素钠的采血管中,轻轻震荡5~8次,于4 h内送至实验中心进行检测。

2.4 ELISA检测大鼠血清中6-keto-PGF_{1α},TXB₂含量和子宫组织中PGF_{2α},PGE₂含量 末次给药后,大鼠腹腔注射3.5%水合氯醛麻醉,仰卧于解剖台,腹主动脉取血,全血室温静置10~20 min,3 000 r·min⁻¹离心15 min后得到血清,采用ELISA试剂盒测量6-keto-PGF_{1α}和TXB₂含量。剥离大鼠子宫组织,按1:9比例加入磷酸盐缓冲液(PBS),用组织匀浆机匀浆充分,3 000 r·min⁻¹离心20 min后取上清液,用ELISA试剂盒测量PGF_{2α}和PGE₂含量。

2.5 激光共聚焦显微镜检测Ca²⁺表达 快速取出子宫组织,冷冻后固定于盛有培养液的振荡切片机后固定切片,切片厚度约200 μm,用PBS冲洗组织切片2遍,加入Flou-3AM染料液(10 μmol·L⁻¹)200 μL,避光温育30 min后用PBS冲洗3遍,加入适量含小牛血清的DMEM培养液,用激光共聚焦显微镜观察染色的组织荧光图像并连续拍摄图片。用Image J软件测量图片荧光强度。

2.6 统计学分析 采用SPSS 23.0统计软件进行分析,实验结果均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,正态性分布检验及方差齐性检验后,采用方差或非参数检验比较组间差异,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

表2 桃红四物颗粒对寒凝血瘀痛经模型大鼠血液流变学的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 2 Effect of Taohong Siwu granule on hemorheology of cold coagulation and blood stasis dysmenorrhea model rats($\bar{x}\pm s, n=6$) mPa·s

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | 全血黏度 | | | 血浆黏度 |
|--------|-----------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
| | | 低切(1·s ⁻¹) | 中切(50·s ⁻¹) | 高切(200·s ⁻¹) | |
| 正常 | - | 23.56±1.10 | 5.77±0.37 | 4.27±0.32 | 1.66±0.06 |
| 模型 | - | 31.68±1.73 ²⁾ | 6.86±0.72 ¹⁾ | 4.87±0.59 ¹⁾ | 1.75±0.12 ¹⁾ |
| 桃红四物颗粒 | 18 | 26.65±2.28 ³⁾ | 6.26±0.44 ³⁾ | 4.57±0.37 | 1.69±0.04 |
| | 9 | 26.52±0.17 ³⁾ | 6.16±0.23 ³⁾ | 4.48±0.23 ³⁾ | 1.65±0.03 ³⁾ |
| | 4.5 | 26.75±1.77 ³⁾ | 6.09±0.66 ³⁾ | 4.41±0.31 ³⁾ | 1.68±0.06 |
| 妇科千金片 | 0.08 | 25.91±1.78 | 6.00±0.33 ⁴⁾ | 4.36±0.25 ⁴⁾ | 1.64±0.06 ³⁾ |

3.3 对寒凝血瘀痛经大鼠血清中TXB₂,6-keto-PGF_{1α}和子宫组织中PGF_{2α},PGE₂水平的影响 与正常组比较,模型组血清TXB₂含量明显升高,血清

3 结果

3.1 对寒凝血瘀痛经大鼠扭体反应的影响 造模后大鼠出现寒颤,弓背竖毛,耳尾爪苍白,反应迟钝,大便稀溏,小便色清等症状,注射完缩宫素后出现扭体反应。与正常组比较,模型组大鼠扭体次数显著增加($P<0.01$);与模型组比较,桃红四物颗粒各剂量组可以延长扭体数发生时间,降低扭体次数($P<0.01$),其中桃四物颗粒中剂量组改善效果显著,且优于妇科千金片组。见表1。

表1 桃红四物颗粒对寒凝血瘀痛经模型大鼠扭体反应的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 1 Effect of Taohong Siwu granule on writhing response of cold coagulation and blood stasis dysmenorrhea model rats($\bar{x}\pm s, n=6$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | 扭体数/次 |
|--------|-----------------------|-------------------------|
| 正常 | - | 0 |
| 模型 | - | 8.00±3.32 ²⁾ |
| 桃红四物颗粒 | 18 | 2.14±2.12 ⁴⁾ |
| | 9 | 0.71±1.25 ⁴⁾ |
| | 4.5 | 3.86±4.25 ⁴⁾ |
| 妇科千金片 | 0.08 | 3.14±1.68 ⁴⁾ |

注:与正常组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与模型组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表2~4)。

3.2 对寒凝血瘀痛经大鼠血液流变学的影响 与正常组比较,模型组3个切变率下的全血黏度和血浆黏度明显升高($P<0.05, P<0.01$);与模型组比较,桃红四物颗粒高、中、低剂量组和妇科千金片组可以明显降低3个切变率下的全血黏度和血浆黏度($P<0.05, P<0.01$)。结果表明桃红四物颗粒可以降低寒凝血瘀大鼠的全血黏度和血浆黏度。见表2。

6-keto-PGF_{1α}含量显著降低,子宫组织中PGF_{2α}含量明显升高,子宫组织中PGE₂含量明显降低($P<0.05, P<0.01$);与模型组比较,桃红四物颗粒高、

中、低剂量组和妇科千金片组均能明显降低血清TXB₂, 明显升高血清6-keto-PGF_{1α}含量, 明显降低子

宫组织中PGF_{2α}含量, 明显升高子宫组织中PGE₂含量($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表3。

表3 桃红四物颗粒对寒凝血瘀痛经模型大鼠血清TXB₂和6-keto-PGF_{1α}, 子宫组织中PGF_{2α}和PGE₂的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 3 Effect of Taohong Siwu granule on TXB₂ and 6-keto-PGF_{1α} in serum, PGF_{2α} and PGE₂ in uterus of rats with cold coagulation and blood stasis dysmenorrhea ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | TXB ₂ /μg·L ⁻¹ | 6-keto-PGF _{1α} /μg·L ⁻¹ | TXB ₂ /6-keto-PGF _{1α} | PGF _{2α} /ng·L ⁻¹ | PGE ₂ /ng·L ⁻¹ | PGF _{2α} /PGE ₂ |
|--------|-----------------------|--------------------------------------|--|---|---------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|
| 正常 | - | 233.95±43.26 | 156.21±30.58 | 1.58±0.60 | 59.43±4.51 | 27.18±3.13 | 2.22±0.36 |
| 模型 | - | 767.00±73.34 ¹⁾ | 81.16±8.26 ²⁾ | 9.86±1.47 ¹⁾ | 80.42±4.63 ¹⁾ | 10.00±2.74 ²⁾ | 8.57±2.42 ²⁾ |
| 桃红四物颗粒 | 18 | 252.55±47.95 ³⁾ | 120.41±45.27 ⁴⁾ | 1.63±0.43 ⁴⁾ | 68.49±6.86 ³⁾ | 29.59±6.94 ³⁾ | 2.52±0.32 ³⁾ |
| | 9 | 270.14±13.60 | 114.70±26.23 ⁴⁾ | 1.99±0.20 ³⁾ | 67.46±5.87 ³⁾ | 23.88±4.07 ³⁾ | 2.90±0.54 ³⁾ |
| | 4.5 | 244.40±23.43 | 128.32±48.03 ³⁾ | 2.29±0.58 ³⁾ | 67.93±5.41 ³⁾ | 25.71±8.16 ³⁾ | 2.48±0.34 ⁴⁾ |
| 妇科千金片 | 0.08 | 491.39±28.81 ⁴⁾ | 113.71±25.37 ³⁾ | 2.36±0.49 ³⁾ | 66.49±6.54 ⁴⁾ | 24.11±4.40 ⁴⁾ | 2.83±0.56 ³⁾ |

3.4 对寒凝血瘀痛经大鼠子宫Ca²⁺的影响 与正常组比较, 模型组Ca²⁺含量显著升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 桃红四物颗粒高、中、低剂量组和妇科千金片组均能明显降低Ca²⁺含量($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表4和图2。

表4 桃红四物颗粒对寒凝血瘀痛经模型大鼠Ca²⁺的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 4 Effect of Taohong Siwu granule on Ca²⁺ in cold coagulation and blood stasis dysmenorrhea model rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | Ca ²⁺ 荧光强度 |
|--------|-----------------------|--------------------------|
| 正常 | - | 1.42±0.55 |
| 模型 | - | 23.02±5.95 ²⁾ |
| 桃红四物颗粒 | 18 | 17.70±1.61 ³⁾ |
| | 9 | 13.08±0.88 ³⁾ |
| | 4.5 | 9.94±3.43 ³⁾ |
| 妇科千金片 | 0.08 | 4.29±1.41 ⁴⁾ |

4 讨论

影响痛经发生的因素有很多, 与经期前后生活状态、体质因素、生活环境, 均有一定的关系。现代女性多经常熬夜、妄食寒凉、不避风寒, 这些因素容易导致女性气血运行不畅, 经血受阻。中医认为“不通则痛”或“不荣则痛”, 所以, “血运行不畅, 经血受阻”等状况易诱发痛经发生。其治疗应以温通经络、活血化瘀、行气止痛为主^[14]。现代医学研究证明, 原发性痛经的产生与机体内PGF_{2α}, PGE₂的变化密切相关。异常升高的PGF_{2α}作用于螺旋小动脉, 诱导Ca²⁺内流, 使子宫平滑肌产生剧烈收缩, 进而影响子宫血流灌注, 减少子宫血液流量, 使得肌肉组织缺血缺氧, 进而引发痛经刺激自主神经疼痛纤维而引起痛经。而PGE₂可以促进血管扩张和平

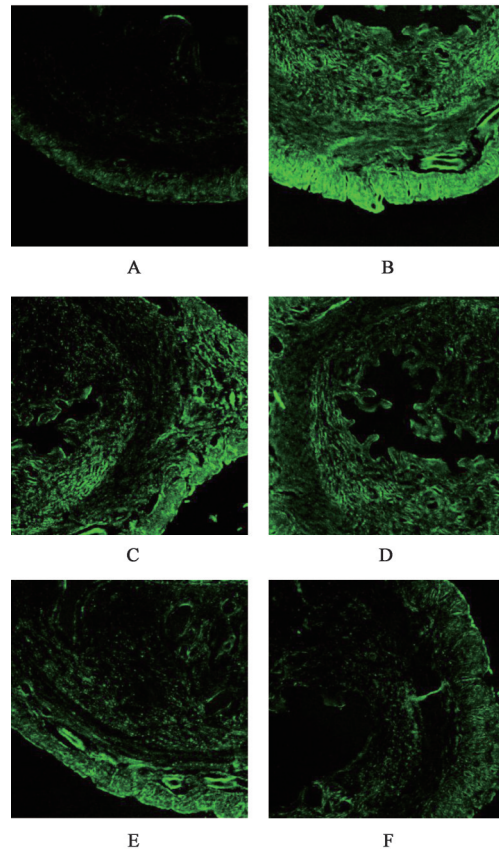


图2 桃红四物颗粒对寒凝血瘀痛经模型大鼠Ca²⁺的影响(免疫荧光, ×100)

Fig. 2 Effect of Taohong Siwu granule on Ca²⁺ in cold coagulation and blood stasis dysmenorrhea model rats (IF, ×100)

滑肌的舒展^[15-17]。

补佳乐又名戊酸雌二醇, 是雌二醇的衍生物, 能增强子宫对缩宫素的敏感性, 缩宫素直接作用于子宫平滑肌细胞, 子宫收缩, 刺激子宫释放PGF_{2α},

引起痛经。近年来,流行病学调查显示,国内痛经发病率呈上升趋势,其中寒凝血瘀最常见^[18-23]。因此,本实验选择较公认类痛经反应的病理模型进行实验,采用缩宫素结合补佳乐复制病理疼痛模型^[24-26],结合冰水浴刺激复制寒凝血瘀型痛经模型进行实验研究。

四物汤添加桃仁、红花二味药材组成桃红四物汤方剂。四物汤常用于治疗妇科疾病,使营血恢复而周流无阻,并以其为基础方加减治疗妇人经行腹痛^[27]。桃仁具有活血祛瘀功效,可用于治疗经闭痛经。红花具有通经、活血功能,日常主治妇女病,起到活血通经,去瘀止痛效果。因此,桃红四物汤全方具有养血补血、活血化瘀功效。其养血而不滞血,活血而不破血,为治疗血瘀痛经良方^[28]。

本实验结果显示,桃红四物颗粒可以降低寒凝血瘀痛经大鼠PGF_{2α}和Ca²⁺水平,升高PGE₂水平,说明桃红四物颗粒通过增加子宫血流量,促进血管扩张和平滑肌的舒展来治疗寒凝血瘀型痛经。TXB₂是TXA₂的代谢产物,6-keto-PGF_{1α}是PGI₂的代谢产物。TXA₂与PGI₂在体内不稳定,半衰期短。因此,本实验采用TXB₂和6-keto-PGF_{1α}作为指标,间接反映TXA₂与PGI₂的水平。TXA₂能明显促进血管收缩及血小板聚集,PGI₂能抑制血小板聚集,舒张血管^[29-31]。本实验结果显示,桃红四物颗粒可以降低寒凝血瘀痛经大鼠TXB₂水平,升高6-keto-PGF_{1α}水平,说明桃红四物颗粒通过舒张血管和抑制血小板聚集,防止血栓形成来治疗寒凝血瘀型痛经。

综上,桃红四物颗粒通过降低寒凝血瘀大鼠血清中TXB₂含量,升高6-keto-PGF_{1α}含量,降低子宫中Ca²⁺,PGF_{2α}含量,升高子宫中PGE₂含量,缓解痛经症状,这与其传统功效活血化瘀有着异曲同工之妙。本实验为全面深入阐明桃红四物颗粒改善痛经作用机制奠定基础,也为今后临床应用提供科学依据。但要充分阐明其作用机制仍需要进一步的研究。

[参考文献]

[1] 华永庆,洪敏,朱荃.原发性痛经研究进展[J].南京中医药大学学报:自然科学版,2003,19(1):62-64.
[2] 何雪萍,黄婕.桃红四物汤加减改善妇女月经不调及生活质量的探究[J].中国医药科学,2017,7(11):43-45.
[3] 曹云霞.原发性痛经的发病机制与防治[J].中国实用妇科与产科杂志,2001,17(4):205-207.
[4] 韩云鹏,朱颖,吕秀花.寒凝血瘀证痛经证治浅谈

[J].现代中西医结合杂志,2007,16(28):4122-4123.
[5] 王艳英,马堃.2000例痛经患者问卷调查及临床特点分析[J].中国中药杂志,2015,40(20):3920-3924.
[6] 李翊,彭代银.桃红四物汤的药理学研究进展[J].安徽医药,2011,15(5):529-531.
[7] 韩岚,许钊,章小兵,等.桃红四物汤活血化瘀作用的实验研究[J].安徽中医药大学学报,2007,26(1):36-38.
[8] 李琼.桃红四物汤治疗痛经的临床价值[J].中国处方药,2017,15(8):97-98.
[9] 李珊珊.桃红四物颗粒的制备工艺、质量控制及初步药效学研究[D].合肥:安徽中医药大学,2015.
[10] 李新华,孙小雪,梁玉磊,等.不同时机艾灸对寒湿凝滞型痛经大鼠子宫组织前列腺及加压素含量的影响(英文)[J].针灸推拿医学:英文版,2017,15(4):250-256.
[11] 黄丽君.原发性痛经证治规律和经舒颗粒药效学研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2014.
[12] 刘珍珍,张梅,章庆庆,等.艾灸不同穴位对寒凝证类痛经大鼠疼痛反应及中枢内κ受体mRNA表达的影响[J].辽宁中医杂志,2015,42(6):1352-1355.
[13] 张梅.艾灸不同介入时机对痛经大鼠子宫收缩强度的影响及相关机制研究[D].北京:北京中医药大学,2015.
[14] 王晓丽.推拿治疗原发性痛经的系统评价[D].北京:北京中医药大学,2019.
[15] 王琪.温痛汤治疗寒凝血瘀型原发性痛经疗效观察及对PGF_{2α},PGE₂影响的研究[J].山西中医学院学报,2011,12(4):25-26.
[16] 孙立虹,葛建军,余延芬,等.隔物灸神阙、关元穴对原发性痛经患者血清PGF_{2α},PGE₂含量及其比值的影响[J].南京中医药大学学报,2010,26(2):108-110.
[17] 李香萍,汪明德.痛经宁颗粒对原发性痛经患者经期血浆PGF_{2α}/PGE₂的影响[J].新中医,2007,39(1):17-18.
[18] 孙艳明,王玲,王学岭,等.1800例女大学生痛经病因及证候分布规律调查研究[J].中华中医药学刊,2012,30(5):1014-1016.
[19] 韩莹,张岩,张春蕾.女大学生痛经病因及证候分布规律调查分析[J].中国妇幼保健研究,2016(S1):393-394.
[20] 杜惠兰,柴丽娜,哈荔田,等.月经病寒凝血瘀证的病理机制初探[J].中医杂志,1993,34(7):428-430.
[21] 邢桂芝,郑引,刘欣.低温和冷水作业对女工月经的影响[J].中国病毒病杂志,2000,2(3):158-159.
[22] 陈华国,孙欣,周欣.苗族医气阻血瘀证现代科学内涵探索以及苗族药抗妇科炎症干预机制研究[J].中国中药杂志,2019,44(22):5000-5006.

- [23] 马堃,陈燕霞,王艳英. 定坤丹对寒凝血瘀型痛经患者血清GPF_{2a},ET,PAF及子宫动脉血流动力学的影响[J]. 中国中药杂志,2017,42(23):4474-4480.
- [24] 陈韻如. 艾灸神阙穴治疗寒凝血瘀型原发性痛经的实验和临床研究[D]. 广州:广州中医药大学,2016.
- [25] 黄小琴. 低强度超声对大鼠痛经模型子宫前列腺素及精氨酸加压素的影响[D]. 重庆:重庆医科大学,2014.
- [26] 陈景伟,仝瑞晓,孙晓换,等. 补佳乐联合缩宫素建立小鼠原发性痛经模型[J]. 中国实验动物学报,2013,21(5):78-81.
- [27] 贾梅,郑传柱,张丽,等. 四物汤对急性血瘀模型大鼠活血祛瘀有效部位筛选[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(16):119-123.
- [28] 刘立,段金厥,宿树兰,等. 用于妇科血瘀证痛经的四物汤类方——桃红四物汤的研究进展[J]. 中国中药杂志,2015,40(5):814-821.
- [29] MA N, LIU X W, YANG Y J, et al. Evaluation on antithrombotic effect of aspirin eugenol ester from the view of platelet aggregation, hemorheology, TXB₂/6-keto-PGF_{1α} and blood biochemistry in rat model[J]. BMC Vet Res, 2016, 12(1): 108.
- [30] NA K, MEI X, LIN Y, et al. Panax quinquefolius saponins combined with dual antiplatelet drug therapy alleviate gastric mucosal injury and thrombogenesis through the COX/PG pathway in a rat model of acute myocardial infarction [J]. PLoS One, 2018, 13 (3) : e0194082.
- [31] DENG Z Y, SHAN W G, WANG S F, et al. Effects of astaxanthin on blood coagulation, fibrinolysis and platelet aggregation in hyperlipidemic rats [J]. Pharmaceut Biol, 2017, 55(1): 663-672.

[责任编辑 周冰冰]