

- 562.
- [10] 甄宏,方峰,舒赛男,等.大蒜新素抑制人巨细胞病毒即刻早期基因表达在抗人巨细胞病毒机制中的作用[J].中国循证儿科杂志,2006,1(1):26-32.
- [11] YOSHIDA H,SUMICHIKA H,HAMANO S,et al.Induction of apoptosis of T cells by infecting mice with murine cytomegalovirus[J].J Virol,1995,69(8):4769-4775.
- [12] 聂兴草,方峰,李红,等.大蒜新素对人巨细胞病毒感染的人胚肺成纤维细胞凋亡的影响[J].中草药,2004,35(9):60-63.
- [13] BRUNE W.Inhibition of programmed cell death by cytomegaloviruses [J].Virus Res,2011,157(2):144-150.
- [14] PATTERSON C E,SHENK T.Human cytomegalovirus UL36 protein is dispensable for viral replication in cultured cells [J].J Virol,1999,73(9):7126-7131.
- [15] MAVINAKERE M S,COLBERG-POLEY A M.Dual targeting of the human cytomegalovirus UL37 exon 1 protein during permissive infection [J].J Gen Virol,2004,85(Pt 2):323-329.
- [16] 魏伟,吴希美,李元建,等.药理实验方法学[M].4版.北京:人民卫生出版社,2010.
- [17] 孙洁,田林红,王收宝,等.黄芩苷对糖尿病大鼠肾脏细胞凋亡及其 Bcl-2 和 Bax 表达的影响[J].实用医学杂志,2011,27(5):757-760.
- [18] EVERS D L,CHAO C F,WANG X,et al.Human cytomegalovirus-inhibitory flavonoids: studies on antiviral activity and mechanism of action[J].Antiviral Res,2005,68(3):124-134.

茶多酚预防吗啡所致便秘的效果及机制

陈陶,刘异

(华中科技大学同济医学院附属同济医院药学部,武汉 430030)

摘要 **目的** 探讨茶多酚对吗啡所致便秘的预防作用及其作用机制。**方法** 雌性昆明种小鼠按随机数字表法分为空白对照组、模型对照组、茶多酚组、茶多酚+吗啡组,每组 10 只。茶多酚组和茶多酚+吗啡组小鼠灌胃给予茶多酚 $100\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,空白对照组和模型对照组给予 0.5%羧甲基纤维素钠溶液 $0.1\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,连续 4 d。给药第 4 天,模型对照组和茶多酚+吗啡组小鼠腹腔注射吗啡 $20\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,茶多酚组和空白对照组腹腔注射 0.9%氯化钠溶液 $0.1\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,15 min 后小鼠灌胃给予 5%墨汁液 0.2 mL 。热板法检测各组小鼠的第 1 次舔足时间,观察茶多酚对吗啡镇痛效果的影响;酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测各组小鼠小肠内胃动素、P-物质及生长抑素的含量。**结果** 与空白对照组比较,模型对照组墨汁推进长度和墨汁推进率明显降低($P<0.01$);茶多酚组墨汁液推进长度和墨汁推进率显著增加($P<0.05$)。与模型对照组比较,茶多酚+吗啡组墨汁推进长度和墨汁推进率显著升高($P<0.01$)。空白对照组和茶多酚组小鼠第 1 次舔足时间分别为 (8.64 ± 2.72) , (9.11 ± 2.13) s,模型对照组和茶多酚+吗啡组小鼠第 1 次舔足时间分别为 (18.79 ± 3.58) , (20.10 ± 3.72) s。与空白对照组比较,模型对照组胃动素、P 物质含量减少($P<0.05$),茶多酚组胃动素、P 物质明显增加($P<0.05$);与模型对照组比较,茶多酚+吗啡组胃动素、P 物质含量明显增加($P<0.05$)。与空白对照组比较,模型对照组生长抑素含量增加,而茶多酚组和茶多酚+吗啡组生长抑素含量显著减少($P<0.05$)。**结论** 茶多酚在不降低疼痛治疗效果的前提下,能有效改善小鼠肠蠕动预防吗啡所致便秘,这一作用与茶多酚对肠道胃动素、P 物质和生长抑素的含量调节有关。

关键词 茶多酚;吗啡;便秘;镇痛

中图分类号 R965

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2017)10-1129-04

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.10.010

Effect and Mechanism of Tea Polyphenols on Morphine-induced Constipation

CHEN Tao, LIU Yi (Department of Pharmacy, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

ABSTRACT **Objective** To explore the preventive effect and mechanism of tea polyphenols on morphine-induced constipation. **Methods** Female Kunming mice were randomly divided into 4 groups (10 mice per group), including blank control group, model control group, tea polyphenols group and tea polyphenols + morphine group. Tea polyphenols group and tea polyphenols + morphine group were pretreated with $100\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of tea polyphenols for 4 days, meanwhile blank control group and model control group were pretreated with $0.1\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ of 0.5% CMC-Na for 4 days. On the fourth day model control group and tea polyphenols + morphine group were intraperitoneal injected $20\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ morphine, otherwise blank control group and tea polyphenols group were injected with $0.1\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ of 0.9% sodium chloride solution. Then mice were given 0.2 mL of 5% ink

solution by intragastric administration 15 min later. The latency to paw licking was detected in hot plate test to evaluate the effect of tea polyphenols on morphine analgesia. The levels of motilin (MLT), substance P (SP) and somatostatin (SS) in intestinal tissue were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) among groups. **Results** Compared with the blank control group, the length of propelling ink and the propelling rate of ink were significantly lower in the model control group ($P < 0.01$), meanwhile tea polyphenols group were much higher ($P < 0.05$). Compared with model control group, the length of propelling ink and the propelling rate of ink were significantly higher in tea polyphenols + morphine group mice ($P < 0.05$). The first paw licking time of control group and tea polyphenols group were (8.64 ± 2.72) s and (9.11 ± 2.13) s, and the time of model control group and tea polyphenols + morphine group were (18.79 ± 3.58) s and (20.10 ± 3.72) s. The contents of MLT and SP were reduced in model control group ($P < 0.05$), but significantly increased in tea polyphenols group ($P < 0.05$) compared with blank control group. Compared with the model control group, MLT and SP had an obviously increase in tea polyphenols + morphine group ($P < 0.05$). Compared with blank control group, the content of SS was increased in model control group, but decreased markedly in tea polyphenols group and tea polyphenols + morphine group ($P < 0.05$). **Conclusion** Tea polyphenols can prevent the morphine-induced constipation without decreasing the analgesic effect of morphine, which is related to the regulation of the content of MLT, SP and SS.

KEY WORDS Tea polyphenols; Morphine; Constipation; Analgesia

阿片类药物是中重度镇痛治疗的主要药物,但治疗过程中便秘发生率(90%~100%)。严重影响患者生活质量^[1]。由于患者不能耐受,如何缓解阿片类药物导致便秘是亟待解决的临床问题。目前,尽管缓泻剂可用于缓解吗啡诱导的便秘,但仍然存在一定比例患者的便秘难以缓解^[2]。茶多酚是从茶叶提取的活性成分,研究发现其具有抗氧化、抗癌、保护老年痴呆、抑菌、护肝和保护心血管的作用^[3-4]。此外,研究表明,茶多酚能够增强肠道收缩和蠕动,加速胃肠排空,缓解便秘^[5]。临床观察还证实茶多酚能有效治疗产后便秘^[6]。但茶多酚对于吗啡所致便秘笔者尚未见报道。笔者在本实验拟用吗啡诱导小鼠便秘模型,并给予茶多酚干预,观察茶多酚对吗啡致便秘的防治效果,并初步探讨其机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 无特定病原体(SPF)级昆明种小鼠,雌性,体质量19~25 g,由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供。实验动物生产许可证号:SCXK(鄂)2010-0007,动物合格证号:NO.00010746。置于温度 (22 ± 3) ℃、相对湿度 $(55 \pm 15)\%$,自然昼夜交替房间。

1.2 试剂 盐酸吗啡注射液(东北制药集团公司沈阳第一制药厂,规格:0.5 mL:5 mg,批号:111004-1),采用0.9%氯化钠溶液稀释至浓度为 $2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;茶多酚(黄山康弘生物工程有限公司,批号:20100318,纯

度:98.7%),实验期间采用0.5%羧甲基纤维素钠助溶配制成 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混悬液;5%墨汁液配制备用(墨汁5 mL与0.9%氯化钠溶液95 mL混匀)。其余试剂均为分析纯。

1.3 仪器 智能热板仪(YLS-6B型,山东省医学科学院设备站);多功能酶标仪(Biotek Synergy 2,美国BioTek公司);小鼠胃动素(motilin),P物质(substance P),生长抑素(somatostatin)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒购自美国R&D公司,批号分别为SMTA02B,SM3000B,MTA00B。

1.4 动物分组与便秘模型的建立 参照文献[7]方法。小鼠适应3 d。用热板法间隔5 min测量2次舔足时间,取平均值,剔除平均舔足时间大于30 s的小鼠,根据随机数字表法将选取的40只合格小鼠分成4组:空白对照组、模型对照组、茶多酚组、茶多酚+吗啡组。茶多酚组和茶多酚+吗啡组小鼠灌胃给予茶多酚 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,空白对照组和模型对照组给予0.5%羧甲基纤维素钠液 $0.1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,连续4 d。给药第4天,模型对照组和茶多酚+吗啡组小鼠腹腔注射吗啡 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,茶多酚组和空白对照组小鼠腹腔注射0.9%氯化钠溶液 $0.1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,15 min后小鼠灌胃给予5%墨汁液0.2 mL。

1.5 热板法测定 腹腔注射吗啡完成后15 min,将小鼠置于已加热至 (55 ± 0.5) ℃的热板上,记录小鼠第1次舔后足时间。

1.6 墨汁推进率 墨汁液灌胃15 min后,处死小鼠,并测量小鼠小肠墨汁液推进长度及小肠总长度,计算墨汁液推进率,推进率(%)=墨汁推进距离/小肠总长度 $\times 100\%$ 。

1.7 便秘相关物质测定 取小鼠上段空肠组织100 mg。①胃动素测定:冰醋酸1 mL与肠组织混合煮沸10 min,匀浆,同时给予磷酸盐缓冲液1 mL, $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心20 min,取上清液,冻存于 -20 ℃冰

收稿日期 2016-09-15 修回日期 2016-10-16

作者简介 陈陶(1986-),女,湖北武汉人,药师,硕士,主要从事临床药学工作。电话:027-83663519, E-mail:chentao35790@126.com。

通信作者 刘异(1981-),男,湖南邵阳人,主管药师,硕士,主要从事医院药学工作。电话:027-83663643, E-mail:124460526@qq.com。

箱中。②P 物质和生长抑素测定:0.9%氯化钠溶液 1 mL,与肠组织混合,煮沸 3 min,冷却后匀浆(冰醋酸 0.5 mL),氢氧化钠中和多余冰醋酸,3 000 r·min⁻¹离心 20 min,离心后取上清液冻存。组织预处理后按照 ELISA 试剂盒说明操作步骤进行便秘相关物质胃动素、P 物质和生长抑素的含量测定。

1.8 统计学方法 采用 SPSS 19.0 版统计软件进行数据统计。计量资料以均数±标准误($\bar{x}\pm s$)表示。多组间均数比较行单因素方差分析(one-way ANOVA),两组间均数比较采用 LSD-t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 茶多酚对吗啡所致便秘的影响 与空白对照组比较,模型对照组墨汁推进长度和墨汁推进率明显降低,说明小鼠肠蠕动受到吗啡抑制,差异有统计学意义($P<0.01$);茶多酚组墨汁胶液推进长度和墨汁推进率显著增加($P<0.05$),提示茶多酚能促进正常小鼠的肠蠕动。与模型对照组比较,茶多酚+吗啡组墨汁推进长度和墨汁推进率显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$),提示茶多酚对吗啡所致便秘有显著防治效果。见表 1。

表 1 4 组小鼠小肠蠕动情况

Tab.1 Intestinal peristalsis in four groups of mice

组别	$\bar{x}\pm s, n=10$		
	墨汁推进长度	小肠全长	墨汁推进
	cm		率/%
空白对照组	22.32±3.71	43.29±6.57	0.52±0.15
模型对照组	6.38±1.92 ^{*1}	51.63±4.19	0.12±0.02 ^{*1}
茶多酚组	33.71±3.55 ^{*2}	50.87±6.06	0.66±0.18 ^{*2}
茶多酚+吗啡组	16.86±4.57 ^{*3}	47.67±5.75	0.35±0.07 ^{*3}

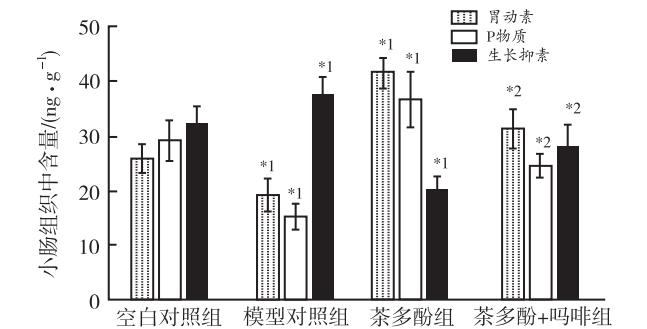
与空白对照组比较,^{*1} $P<0.01$,^{*2} $P<0.05$;与模型对照组比较,^{*3} $P<0.01$

Compared with blank control group,^{*1} $P<0.01$,^{*2} $P<0.05$;
Compared with model control group,^{*3} $P<0.01$

2.2 茶多酚对吗啡镇痛作用的影响 空白对照组和茶多酚组小鼠第一次舔足时间较短,分别为(8.64±2.72),(9.11±2.13) s。模型对照组和茶多酚+吗啡组小鼠第 1 次舔足时间明显延长,分别为(18.79±3.58),(20.10±3.72) s,与空白对照组比较,吗啡镇痛作用显著($P<0.05$)。茶多酚+吗啡组与模型对照组比较,小鼠第 1 次舔足时间差异无统计学意义($P>0.05$),提示茶多酚对吗啡的镇痛效应无影响。

2.3 茶多酚对小肠组织胃动素、P 物质、生长抑素含

量的影响 结果见图 1。与空白对照组比较,模型对照组胃动素、P 物质含量减少,差异有统计学意义($P<0.05$),而茶多酚组胃动素、P 物质明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型对照组比较,茶多酚+吗啡组胃动素、P 物质含量明显增加($P<0.05$)。结果提示:吗啡能减少小鼠上段空肠组织中胃动素和 P 物质水平,而茶多酚能逆转这一变化。与空白对照组比较,模型对照组生长抑素含量增加,而茶多酚组和茶多酚+吗啡组生长抑素含量显著减少,差异有统计学意义($P<0.05$)。结果提示:吗啡能增加小鼠上段空肠组织中生长抑素的含量,而茶多酚能逆转吗啡所致的生长抑素增加。



与空白对照组比较,^{*1} $P<0.05$;与模型对照组比较,^{*2} $P<0.05$

图 1 4 组小鼠小肠胃动素、P 物质和生长抑素含量($\bar{x}\pm s, n=10$)

Compared with blank control group,^{*1} $P<0.05$; Compared with model control group,^{*2} $P<0.05$

Fig.1 Content of motilin, substance P and somatostatin in four groups of mice($\bar{x}\pm s, n=10$)

3 讨论

吗啡作用于肠道阿片受体,可减少上皮分泌及水的重吸收,激活胃肠黏膜神经元内源性阿片肽,抑制胃肠蠕动,最终导致便秘^[8]。研究者们也在不断探索针对吗啡导致的便秘的缓解策略,包括物理治疗如电针^[9],外用药如方大膏敷脐结合按摩^[10],也有中西药联合治疗如番泻叶与茶叶浸出液^[11]等。

茶多酚因其能缓解便秘,且安全性较高也受到研究者的关注。研究表明,茶多酚具有增强肠道收缩和蠕动的作用^[12]。同时茶多酚能抗氧化,清除体内自由基,调整黏液和肠道细菌的粘弹性微环境,保护肠黏膜^[13],还能增加肠道益生菌双歧杆菌的存活率^[14],刺激约氏乳杆菌、罗伊乳杆菌和 *L. taiwanensis* 的生长^[15]。以上证据说明茶多酚对胃肠道的蠕动具有促进作用。为验证茶多酚对于吗啡引起的便秘是否有

效,本实验进行以上研究。研究结果显示:预先给予茶多酚,能不影响吗啡镇痛作用下,促进模型对照组小鼠的肠蠕动,改善其便秘。

目前研究表明,动物被给予吗啡后,肠神经被抑制,神经递质 P 物质等释放减少,类似消化期间移行性复合运动(migrating motor complex, MMC)Ⅲ相样运动减弱^[2],最终导致便秘。MMCⅢ能使整个消化道在消化间期有断续的运动,从而清除胃肠内容物,同时也引起肠道菌群迁移、导致菌群生态失衡^[2]。而 MMC 的启动和调节需要神经因素和胃肠激素的参与,与胃动素、P 物质和生长抑素密切相关^[16]。胃动素是一种兴奋胃肠活动的脑肠肽。激动肠道胃动素受体,能促进胞内三磷酸腺苷含量上升,收缩平滑肌,参与启动 MMCⅢ^[17]。而 P 物质是一种速激肽,由肠壁内的肠神经细胞分泌,在特定神经冲动的刺激下可被释放,增加空肠、回肠和结肠平滑肌收缩,促进肠道蠕动^[17]。胃动素和 P 物质的增加均有促进肠蠕动的作用。而本实验发现,茶多酚+吗啡组便秘改善时,肠内胃动素和 P 物质表达也较模型对照组增加,提示茶多酚促进胃肠蠕动的作用与增加肠内胃动素和 P 物质含量有关。生长抑素是一种神经激素,主要有 14 个氨基酸残基和 28 个氨基酸残基两种形式,能抑制胃肠蠕动,还能减少促进胃肠蠕动的激素如胃动素、胃泌素等释放^[16]。本实验结果显示,与模型对照组比较,茶多酚+吗啡组肠内生长抑素有明显减少,提示茶多酚也通过减少肠内生长抑素含量,间接促进胃动素等的含量,增加肠蠕动,缓解吗啡所致便秘。茶多酚能有效预防吗啡导致的便秘,是通过增加小肠内胃动素和 P 物质,同时减少生长抑素来实现的。

CHAUDHURI 等^[18]研究发现红茶中茶多酚能够激动肠道内胆碱能受体,对肠蠕动产生促进作用,并证实胆碱能受体拮抗剂阿托品、McN-A-343,能阻断茶多酚对肠道蠕动的促进作用和对肠内的增压作用。另外,茶多酚还能逆转 L-精氨酸所致胃肠道转运的减弱。因此茶多酚对于肠道蠕动的促进作用可能源自于多种复杂的机制。

综上所述,本实验证实茶多酚在不降低疼痛治疗效果的前提下,能有效改善小鼠肠蠕动预防吗啡所致便秘,这一作用与茶多酚对肠道胃动素、P 物质和生长抑素的含量调节有关。

参考文献

[1] 罗盛.美国 NCCN 成人癌痛指南解读[J].中国处方药,2014,12(1):4-6.

[2] 叶嵩,郭文俊.阿片类药物所致便秘的产生机制及治疗[J].长治医学院学报,2015,29(2):149-151.

[3] 杨晓萍,覃筱燕.茶多酚药理活性的研究进展[J].中央民族大学学报(自然科学版),2013,22(3):24-28.

[4] AFZAL M, SAFER A M, MENON M. Green tea polyphenols and their potential role in health and disease[J]. *Inflammopharmacology*, 2015, 23(4):151-161.

[5] 王栋,康健.茶多酚的功效、提取和应用前景[J].新疆大学学报(自然科学版),2007,24(2):217.

[6] 胡逸君,竹剑平.茶多酚治疗产后便秘 52 例临床疗效观察[J].海峡药学,2009,21(6):162-163.

[7] KON R, IKARASHI N, HAYAKAWA A, et al. Morphine-induced constipation develops with increased aquaporin-3 expression in the colon via increased serotonin secretion[J]. *Toxicol Sci*, 2015, 145(2):337-347.

[8] 医学名词审定委员会.中国工具书网络出版总库[EB/OL]. [2014-07-01]. <http://gongjushu.cnki.net/refbook/basicsearch.aspx?kw=吗啡>.

[9] 许钦燕,王国英.电针治疗吗啡所致便秘 40 例临床观察[J].河北中医,2013,35(12):1845-1846.

[10] 叶富英,汪永坚.复方大黄膏敷脐结合按摩治疗吗啡致便秘 50 例[J].中国中医药科技,2013,20(2):150.

[11] 姚兰,叶序卷,贾钰铭,等.番泻叶与茶叶浸出液联合治疗盐酸吗啡缓释片所致便秘的临床观察[J].中国医院用药评价与分析,2015,15(6):716-718.

[12] 王胜红.关于茶多酚的研究情况[J].中国中医药资讯,2011,3(10):68.

[13] GEORGIADIS P, PUDNEY P D, ROGERS S, et al. Tea derived galloylated polyphenols cross-link purified gastrointestinal mucins[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e105302.

[14] VODNAR D C. Green tea increases the survival yield of bifidobacteria in simulated gastrointestinal environment and during refrigerated conditions[J]. *Chem Central J*, 2012, 6(1):61.

[15] 吴香兰.黑茶改善小鼠胃肠道功能的实验研究[D].长沙:湖南农业大学,2013.

[16] CHEN C Y, TSAI C Y. Ghrelin and motilin in the gastrointestinal system[J]. *Curr Pharm Design*, 2012, 18(31):4755-4765.

[17] HOOGERWERF W A, SARNA S K. Tachykinin receptors as drug targets for motility disorders[J]. *Dig Dis*, 2006, 24(1/2):83-90.

[18] CHAUDHURI L, BASU S, SETH P, et al. Prokinetic effect of black tea on gastrointestinal motility[J]. *Life Sci*, 2000, 66(9):847-854.