

姚一博,王迪,王钱陶,等. 盐酸洛哌丁胺诱导的小鼠慢传输型便秘模型的实验研究[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(3): 370-375.

Yao YB, Wang D, Wang QT, et al. Establishment of an oral mucositis model in golden hamsters by 5-fluorouracil combined with mechanical scratch [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(3): 370-375.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2020.03.012

盐酸洛哌丁胺诱导的小鼠慢传输型便秘模型的实验研究

姚一博,王迪,王钱陶,肖长芳,梁宏涛,曹永清,陆金根,王琛*

(上海中医药大学附属龙华医院肛肠科,上海 200032)

【摘要】 目的 通过盐酸洛哌丁胺诱导慢传输型便秘小鼠模型,比较不同剂量、不同给药时间所诱导模型之间的差异,探索建立稳定的盐酸洛哌丁胺诱导的慢传输便秘小鼠模型各项实验参数。**方法** 采用健康雄性 C57BL/6 小鼠,配制 0.025、0.25 和 2.5 mg/mL 的盐酸洛哌丁胺混悬液灌胃,给药时间为每日上午 9 时和下午 3 时,分两次给药。从肠道推进率检测、排便量检测等指标进行造模效果评价,观察不同剂量、不同给药时间对于慢传输型便秘小鼠模型的影响。**结果** 1)对比不同剂量的盐酸洛哌丁胺造模的效果,在 0.5 mg/kg~50 mg/kg 的给药浓度范围内,通过比较组间肠道推进率,结果表明 50 mg/kg 组与空白组相比,小鼠肠道推进率显著降低、排便量明显减少,差异具有统计学意义($P < 0.05$);(2)对比 3、7、10 和 14 d 四个不同造模天数,造模第 7 天时,小鼠的肠道推进率与空白组相比明显降低($P < 0.05$);而 3、10、14 d 肠道推进率相比无明显变化($P > 0.05$)。**结论** 本次研究发现采用 50 mg/kg 的剂量连续灌胃 7 d,可使小鼠的肠道推进率显著降低,排便量明显减少,能够制造相对稳定的结肠传输障碍性便秘小鼠模型,为盐酸洛哌丁胺诱导慢传输型便秘模型的探索提供了有价值的数据资料。

【关键词】 盐酸洛哌丁胺;慢传输型便秘;小鼠模型

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2020)03-0370-06

Experimental study of slow transit constipation induced by loperamide hydrochloride in mice

YAO Yibo, WANG Di, WANG Qiantao, XIAO Changfang, LIANG Hongtao, CAO Yongqing, LU Jinggen, WANG Chen*

(Longhua Hospital Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China)

Corresponding author: WANG Chen. E-mail: wangchen_longhua@163.com

【Abstract】 Objective To find a stable method for establishing a loperamide hydrochloride-induced slow transit constipation (STC) model by comparing the differences among STC mouse models established by different loperamide hydrochloride concentrations and administration times. **Methods** Healthy male C57BL/6 mice were given 0.025, 0.25 or 2.5 mg/mL loperamide hydrochloride by intragastric administration twice a day at 9:00 and 15:00. The small intestinal propulsion rate, defecation quantity and other indicators were used to evaluate the effects of different doses and

【基金项目】 国家自然科学基金(81603625, 81603618, 81603624),上海中医药大学杏林学者,全国名老中医药专家传承工作室建设项目(批文号:国中医药人教教育便函[2016]42号),曹永清上海市名老中医学术经验研究工作室 SHGZS-2017017。

Funded by the National Natural Science Foundation of China (81603625, 81603618, 81603624), Xinglin Scholar, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Construction Project of Inheritance Studio of National Famous Old Chinese Medicine Experts (Approval number: Chinese Medicine Education Memo[2016]42) and Cao yongqing's Shanghai Famous Traditional Chinese Medicine Academic Experience Research Studio SHGZS-2017017.

【作者简介】 姚一博(1978—),女,副主任医师,硕士生导师。主要从事中医药治疗肛肠病的临床及基础研究工作。Email: elevenzoe@163.com

【通信作者】 王琛(1977—),女,主任医师,硕士生导师。Email: wangchen_longhua@163.com

administration times on the STC mouse model. **Results** (1) Comparing the effects of different dosages of loperamide hydrochloride in the range of 0.5 mg/kg to 50 mg/kg revealed that the small intestinal propulsion rate and defecation quantity significantly decreased in the 50 mg/kg dosage group compared with those in the control group ($P < 0.05$). (2) At day 7 after oral administration of loperamide hydrochloride, the small intestinal propulsion rate significantly decreased compared with that in control group ($P < 0.05$), whereas this rate did not significantly change at days 3, 10 and 14 ($P > 0.05$). **Conclusions** The small intestinal propulsion rate and defecation quantity significantly decreased after continuous administration of 50 mg/kg loperamide hydrochloride for 7 days. Hence, this is a relatively stable method for establishing an STC mouse model. This study provides valuable data for the exploration of the loperamide hydrochloride-induced STC model.

[Keywords] loperamide hydrochloride; slow transit constipation; mouse model

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

慢性传输型便秘是一种以肠道内粪便的传输过程缓慢为主要特点的功能性疾病,常常表现为大便干结、排便次数减少、排便敏感性下降并伴有腹痛、腹胀等症状^[1]。据最新流行病学数据显示,全球的发病率为 14%,其中成年人慢性便秘的患病率在 2.5% ~ 79% 之间^[1-2]。在美国,每年有 310 万便秘患者就诊,造成了沉重的社会、经济负担^[3-4];而在中国,慢性传输型便秘也是一个常见疾病,并可严重影响成年人生活质量^[5]。近年来,慢传输型便秘的发病率逐渐增高,严重的威胁人类的健康和生活质量^[6-7]。因此,慢传输型便秘临床治疗和机制的研究刻不容缓。

动物模型在慢传输型便秘机制研究中扮演重要的角色,不同的研究目的对于造模动物的选择、造模方法都各不相同。因此,建立与人便秘有共同的病理生理变化的动物实验模型对于探索便秘的发病机制、新的治疗途径都有着重要意义^[8]。药物造模是慢传输型便秘造模的主要方式,常用的药物有盐酸洛哌丁胺 (Loperamide hydrochloride)^[9]。盐酸洛哌丁胺是一种外周性阿片受体激动剂^[10],机制是抑制肠道水分泌和结肠蠕动,延迟粪便疏散时间和肠腔运输,通过减少动物的粪便颗粒数量,重量和含水量而出现便秘症状^[9-11]。然而,造模药物的剂量、造模时间的差别会直接影响模型成功率^[12]。因此,本研究重点探讨造模药物盐酸洛哌丁胺不同剂量、不同给药时间对于慢传输型便秘小鼠动物模型的影响,探索建立稳定的洛哌丁胺诱导的慢传输小鼠便秘模型各项实验参数。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

6 ~ 8 周 SPF 级健康雄性 C57BL/6 小鼠 72 只,

体重 (25 ± 5) g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司【SCXK(沪)2018-0003】。动物饲养于上海中医药大学动物实验室【SYXK(沪)2014-0008】。饲养期间各组小鼠自由饮水,饲养环境:昼夜各半循环照明,湿度恒定,温度控制在 22 ~ 25℃。所有操作均符合上海中医药大学实验伦理学要求(审批号:IACUC PZSHUTCM200104005)。

1.1.2 实验试剂

盐酸洛哌丁胺 (Loperamide HCl) 50 mg (SELLECK, S2480);印度墨水(源叶生物科技科技有限公司, S30881)。

1.2 方法

1.2.1 药物制备

盐酸洛哌丁胺选取 0.5 mg/kg、5 mg/kg 和 50 mg/kg 三个剂量,使用无菌性生理盐水配制药物浓度分别 0.025 mg/mL、0.25 mg/mL 和 2.5 mg/mL 的盐酸洛哌丁胺混悬液。

1.2.2 造模方法

配制盐酸洛哌丁胺溶液对小鼠进行灌胃,给药时间为每日上午 9 时和下午 3 时分两次给药,给药体积为每 10 g 小鼠体重 0.2 mL。

1.2.3 肠道推进率检测

造模完成后,小鼠禁食过夜以排空肠内容物。至第 2 天上午开始进行小鼠肠道推进率检测。具体方法为:每只小鼠经口灌 0.2 mL 印度墨水,20 min 后脱颈椎处死。迅速打开小鼠腹腔,取出自幽门至肛门的全肠道,无张力拉直后测量肠道全长 L1;然后再测量墨汁在肠道内的行进长度 L2,计算小鼠肠道推进率 $D = L2/L1 \times 100\%$ 。

1.2.4 排便量检测

每日上午给药后,更换新笼盒,至下午给药之前,收集小鼠两次给药间期的粪便,并称重、记录粪便湿重 W1,以比较组间排便量差异;然后将各组小

鼠的粪便放入鼓风机内进行高温烘干、脱水。鼓风机设置为 100℃,连续烘干 2 h,再次进行称重,记录干重 W₂;计算小鼠的粪便含水率 $R = (W_1 - W_2) / W_1 \times 100\%$ 。

1.3 统计学分析

计量资料数据均以平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。研究数据采用 SPSS 22.0 统计软件进行处理与分析,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),两组间样本均数多重比较,若方差齐采用 LSD,若方差不齐采用 Games-Howell 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异具有显著性。

2 结果

2.1 造模动物的一般情况

造模大鼠出现活动减少和毛发光泽减退现象,体质量增长慢于对照组,饮水量正常,部分出现进食和尿量减少。

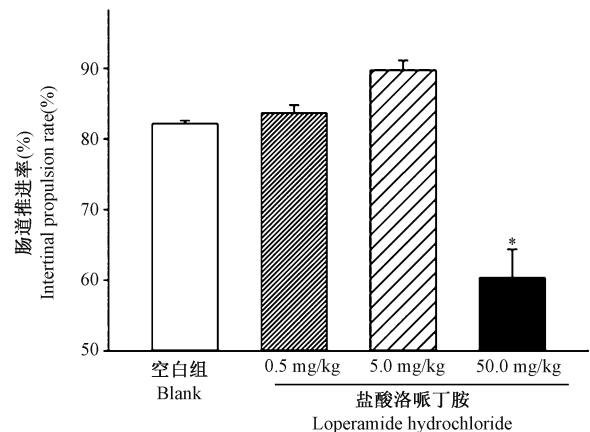
2.2 不同盐酸洛哌丁胺给药剂量对于小鼠便秘慢传输型便秘模型的影响

每组 8 只小鼠,按照盐酸洛哌丁胺的不同给药剂量及浓度梯度,分为四组空白组、低剂量组 0.5 mg/kg、中剂量组 5 mg/kg、高剂量组 50 mg/kg;为避免灌胃剂量过大,按照给药体积为每 10 g 小鼠体重灌胃 0.2 mL 进行给药,每日上午 9 时和下午 3 时进行给药,给药时间 15 d。通过比较组间肠道推进率的方法验证造模结果,结果表明 50 mg/kg 组小鼠肠道推进率与空白组相比显著降低,差异具有显著性($P < 0.05$)。(图 1)

2.3 不同造模天数对小鼠肠道推进率以及排便量变化

每组 8 只小鼠,采用前期试验中验证的最有效剂量是 50 mg/kg,药物配制方法同上;给药体积 0.2 mL/10 g,给药时间为上午 9 时,下午 3 时;将造模天数分为 3 d 组、7 d 组、10 d 组和 14 d 组。如图 2 所示,小鼠肠道推进率检测,造模第 7 天时,小鼠的肠道推进率与空白组相比明显降低($P < 0.05$);而造模 3、10、14 d 肠道推进率与空白组相比,差异均无显著性($P > 0.05$)。

如图 3 所示,观察收集小鼠的粪便称重,监测小鼠每天的排便量变化,各模型组小鼠随着给药天数的不断增加,排便量呈现先减少而后再增加的趋势。造模 3、7、10、14 d 后,小鼠排便量与空白组相比,差异均具有显著性($P < 0.05$)。

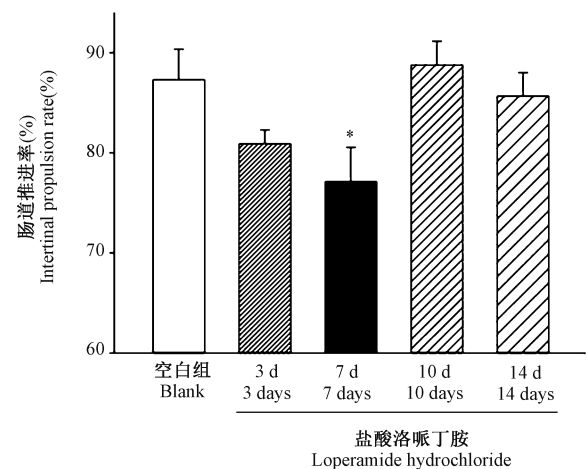


注:50 mg/kg 组小鼠肠道推进率与空白组相比,差异具有显著性, * $P < 0.05$ 。

图 1 不同剂量盐酸洛哌丁胺对小鼠肠道推进率的影响

Note. There was significant difference in intestinal propulsion rate between 50 mg/kg group and blank group, * $P < 0.05$.

Figure 1 Effects of different doses of loperamide hydrochloride on intestinal propulsive rate in mice



注:盐酸洛哌丁胺造模 7 d 对小鼠肠道推进率影响与空白组相比,差异具有显著性, * $P < 0.05$ 。

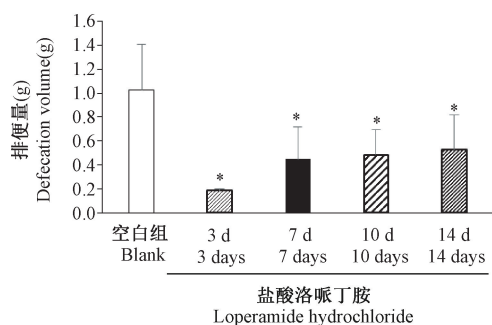
图 2 盐酸洛哌丁胺不同造模时间对小鼠肠道推进率影响

Note. The effect of loperamide hydrochloride on intestinal propulsive rate was significantly different from that of the blank group, * $P < 0.05$.

Figure 2 Effects of loperamide hydrochloride on intestinal propulsive rate in mice with different modeling time

3 讨论

本文通过盐酸洛哌丁胺诱导小鼠慢传输型便秘模型,观察不同剂量、不同给药时间对于小鼠便



注:干预 3、7、10、14 d 后,小鼠排便量与空白组相比,差异具有显著性, * $P < 0.05$ 。

图 3 盐酸洛哌丁胺不同造模时间对小鼠排便量的影响

Note. After 3, 7, 10 and 14 days of intervention, the volume of defecation of mice was significantly higher than that of the blank group, * $P < 0.05$.

Figure 3 Effects of loperamide at different modeling times on the defecation volume of mice

秘模型的影响。盐酸洛哌丁胺是一种外周性阿片受体激动剂,已广泛用于建立便秘动物模型^[13-17]。主要通过作用于肠道纵行肌层的肌间神经丛来降低肠道的推动作用^[18-19],或者通过刺激吸收和钙调素拮抗介导的抗分泌作用来调节水和电解质的肠道运输^[20-22],也可在肌间神经丛水平作用于阿片受体,从而降低肠蠕动^[23]。盐酸洛哌丁胺减少了便秘动物的摄水量,减少粪粒含水量,但不会影响动物的摄食,符合人类便秘的临床表现^[18, 24]。其药理学机制提示,在肠道中它具有通过阿片受体和非阿片受体机制介导的抗分泌作用和影响肠动力的作用。在较高剂量下,通过肠肌间神经丛中的阿片受体介导而降低肠动力。说明可能存在两种机制:低剂量可发挥抗分泌作用,高剂量可发挥影响肠动力的作用^[19]。总之,盐酸洛哌丁胺复杂的剂量差异性药理学机制,提示小鼠便秘模型的建立,更加需要注意给药剂量和时间。因此确定盐酸洛哌丁胺的最有效造模剂量,诱导建立稳定、可以重复的慢传输型便秘模型,已成为实验研究体系不可缺少的一部分。

便秘模型建立中,盐酸洛哌丁胺给药的剂量不尽相同,文献报道药物剂量范围从 2.1 mg ~ 20 mg/kg 不等^[20-22, 25]。如采用 4 mg/kg 连续给药 3 d,停药 3 d 后,继续不同浓度 4 mg/kg 和 8 mg/kg 连续给药 4 d,建立了稳定的便秘模型,并发现模型动物组织 PKC 磷酸化表达存在差异^[20];如果造模采用 9.38 mg/kg 给药,并且首次给药剂量翻倍,连续给药 10 d,模型小鼠出现结肠粘膜层变薄,远端结肠杯状细胞体积变小等细胞形态变化^[26-27]。本研究

对比同样的给药模式不同剂量的盐酸洛哌丁胺造模的效果,在 0.5 ~ 50 mg/kg 的剂量浓度范围内,选择 0.5 mg/kg、5.0 mg/kg、50 mg/kg 三个不同的给药浓度,检测给药后肠道推进率、排便量及粪便含水率三个指标,观察不同浓度的盐酸洛哌丁胺对于肠道推进率的影响。研究发现:在 0.5 ~ 50 mg/kg 的给药浓度范围内,通过比较组间肠道推进率,50 mg/kg 组与空白组相比,小鼠肠道推进率显著降低、排便量明显减少,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。本次研究中粪便的含水率与正常组相比,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。由于小鼠有随时排便的习性,粪便含水量易受多种因素影响^[28]。同时观察不同浓度给药后小鼠状态和耐受性,造模过程中并未发现小鼠出现体重下降、精神不济甚至死亡的现象。本次研究认为 50 mg/kg 的剂量是能够造模成功的最大稳定剂量。

不同的给药时间在小鼠慢传输型便秘模型的造模中也是重要的影响因素之一,文献报道关于造模天数从 3 ~ 42 d 不等^[25-27, 29-32]。采用盐酸洛哌丁胺造模后第 5 天,发现模型组小鼠粪便含水量下降,小肠推进率降低,结肠组织中 SP、5-HT 减少^[17]。而连续给药后第 10 天,停药后再连续观察 7 d,发现模型组小鼠远端结肠 HE 染色提示肠粘膜层变薄、肠内细胞形态与空白组相比变得小而细长,口肛传输时间延长等变化^[26]。而在模拟体虚便秘模型造模中采用盐酸洛哌丁胺 10 mg/kg 连续给药 42 d,发现与正常对照组比较,模型组近端和远端结肠 AQP2 的表达水平增加,这一结果可能使结肠水分重吸收增多而黏液分泌减少而导致肠动力下降^[32]。上述结果共同提示采用盐酸洛哌丁胺建立小鼠便秘模型,造模时间以及观察时间也是决定模型是否成功的关键因素。

本研究我们在 3 ~ 14 d 的时间范围内,设立了 3、7、10 和 14 d 四个不同的时间点,对造模时间进行了横向对比。造模第 7 天时,小鼠的肠道推进率与空白组相比明显降低 ($P < 0.05$);而 3、10、14 d 肠道推进率相比无明显变化 ($P > 0.05$)。研究发现随着给药时间的延长,盐酸洛哌丁胺对于小鼠肠道的抑制作用反而减弱甚至消失,盐酸洛哌丁胺给药 10 d 以上,小鼠的肠道推动功能与空白组相比,无明显统计学差异 ($P > 0.05$)。盐酸洛哌丁胺对小鼠肠道推动功能的抑制也未呈现时间依赖关系。对比不同给药时间和给药剂量对小鼠的肠道推动力发现,

盐酸洛哌丁胺对小鼠肠道的抑制功能与时间和剂量均不成正相关。盐酸洛哌丁胺作为阿片受体激动剂长时间使用存在耐药可能^[33]。文献报道盐酸洛哌丁胺随着给药剂量的增加(0.1 ~ 30 mg/kg),小鼠肠道推进率不断下降;给药 1 ~ 2 d 小鼠肠道推进率下降 30%,给药第 3 天肠道推进率开始恢复到 60%,提示连续给药大于 3 d,盐酸洛哌丁胺对于肠道传输功能的抑制作用减弱^[34-36]。同样在预初实验中,我们发现小鼠排便量随着给药时间延长 7、14、25 d,小鼠的排便量无明显统计学差异($P > 0.05$)。实验中采用盐酸洛哌丁胺 50 mg/kg 浓度制备小鼠便秘模型,连续给药小于 7 d,肠道推进率显著降低 82%、77%;继续给药 10、14 d 肠道推进率逐渐恢复到 88%、86%。依据文献数据及上述情况,我们推测盐酸洛哌丁胺药物作用可能存在效应平台期,给药时间大于 7 d,对肠道推进功能的抑制作用减弱。

综上,本研究采用 50 mg/kg 剂量连续灌胃 7 d,可使小鼠的肠道推进率显著降低,排便量明显减少,能够制造相对稳定的结肠传输障碍型便秘小鼠模型。实验中未见小鼠出现体重下降等异常现象,进一步为盐酸洛哌丁胺诱导慢传输型便秘模型的探索提供有价值的实验数据。

参 考 文 献(References)

- [1] Black CJ, Ford AC. Chronic idiopathic constipation in adults: epidemiology, pathophysiology, diagnosis and clinical management [J]. *Med J Aust*, 2018, 209(2): 86-91.
- [2] Nee J, Zakari M, Sugarman MA, et al. Efficacy of Treatments for Opioid-Induced Constipation: Systematic Review and Meta-analysis [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2018, 16(10): 1569-1584. e1562.
- [3] Herrick LM, Spalding WM, Saito YA, et al. A case-control comparison of direct healthcare-provider medical costs of chronic idiopathic constipation and irritable bowel syndrome with constipation in a community-based cohort [J]. *J Med Econ*, 2017, 20(3): 273-279.
- [4] Luthra P, Burr NE, Brenner DM, et al. Efficacy of pharmacological therapies for the treatment of opioid-induced constipation: systematic review and network meta-analysis [J]. *Gut*, 2018.
- [5] Zhang M, Yang XJ, Zhu HM, et al. Epidemiological study of elderly constipation in Beijing [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(47): 13368-13373.
- [6] Stern T, Davis AM. Evaluation and treatment of patients with constipation [J]. *JAMA*, 2016, 315(2): 192-193.
- [7] Yin T, He Z, Ma P, et al. Effect and cerebral mechanism of acupuncture treatment for functional constipation: study protocol for a randomized controlled clinical trial [J]. *Trials*, 2019, 20(1): 283.
- [8] 满如, 于永铎. 功能型便秘发病机制的最新研究进展[J]. *中外医学研究*, 2019, 17(9): 168-170.
- Man R, Yu YY. Recent advances in the pathogenesis of functional constipation [J]. *Chin Foreign Med Res*, 2019, 17(9): 168-170.
- [9] Neri F, Cavallari G, Tsivian M, et al. Effect of colic vein ligation in rats with loperamide-induced constipation [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 2012: 896162.
- [10] 陈金梅, 刘彩红, 谢立群, 等. 蛋白酶激活受体-2 激动剂对小鼠胃肠动力的影响[J]. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2016, 30(1): 39-42.
- Chen JM, Liu CH, Xie LQ, et al. Effect of protease-activated receptor-2 agonist on gastrointestinal motility in mice [J]. *J Pract Diagn Ther*, 2016, 30(1): 39-42.
- [11] Mori T, Shibasaki Y, Matsumoto K, et al. Mechanisms that underlie mu-opioid receptor agonist-induced constipation: differential involvement of mu-opioid receptor sites and responsible regions [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2013, 347(1): 91-99.
- [12] 刘丽莎, 张微, 赵敏, 等. 功能性便秘动物造模方法研究概况[J]. *实用中医内科杂志*, 2015, 29(2): 169-172.
- Liu LS, Zhang W, Zhao M, et al. An overview of animal modeling methods for functional constipation [J]. *J Pract Tradit Chin Intern Med*, 2015, 29(2): 169-172.
- [13] Kim JE, Lee YJ, Ryu SH, et al. Metabolomics approach to serum biomarker for laxative effects of red *Liriope platyphylla* in loperamide-induced constipation of SD rats [J]. *Lab Anim Res*, 2019, 35: 9.
- [14] Zhang Y, Ge T, Xiang P, et al. Therapeutic effect of protease-activated receptor 2 agonist SLIGRL-NH2 on loperamide-induced Sprague-Dawley rat constipation model and the related mechanism [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 2403-2411.
- [15] Kim JE, Go J, Koh EK, et al. Gallotannin-enriched extract isolated from *Galla rhois* may be a functional candidate with laxative effects for treatment of loperamide-induced constipation of sd rats [J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0161144.
- [16] Shannon HE, Lutz EA. Comparison of the peripheral and central effects of the opioid agonists loperamide and morphine in the formalin test in rats [J]. *Neuropharmacology*, 2002, 42(2): 253-261.
- [17] 龙尚琴, 刘翹楚, 马红, 等. 蜂蜜对洛哌丁胺诱导的便秘小鼠肠道微生态的影响[J]. *中国微生态学杂志*, 2019, 31(3): 273-279.
- Long SQ, Liu QC, Ma H, et al. Effects of honey on intestinal microecology in mice with roperidine-induced constipation [J]. *Chin J Microecol*, 2019, 31(3): 273-279.
- [18] Pastrana T, Meissner W. Treatment of diarrhea with loperamide in palliative medicine. A systematic review [J]. *Schmerz*, 2013, 27(2): 182-189.
- [19] Laaveri T, Sterne J, Rombo L, et al. Systematic review of

- loperamide; No proof of antibiotics being superior to loperamide in treatment of mild/moderate travellers' diarrhoea [J]. *Travel Med Infect Dis*, 2016, 14(4): 299-312.
- [20] Kim JE, Yun WB, Sung JE, et al. Characterization the response of Kori; ICR mice to loperamide induced constipation [J]. *Lab Anim Res*, 2016, 32(4): 231-240.
- [21] Kawamura T, Matsuura B, Miyake T, et al. Effects of motilin receptor agonists and ghrelin in human motilin receptor transgenic mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(7): 1521.
- [22] Ren X, Liu L, Gamallat Y, et al. Enteromorpha and polysaccharides from enteromorpha ameliorate loperamide-induced constipation in mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 1075-1081.
- [23] McQuade RM, Stojanovska V, Abalo R, et al. Chemotherapy-induced constipation and diarrhea: pathophysiology, current and emerging treatments [J]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 414.
- [24] Shimotoyodome A, Meguro S, Hase T, et al. Sulfated polysaccharides, but not cellulose, increase colonic mucus in rats with loperamide-induced constipation [J]. *Dig Dis Sci*, 2001, 46(7): 1482-1489.
- [25] Yan S, Yue YZ, Wang XP, et al. aqueous extracts of herba cistanche promoted intestinal motility in loperamide-induced constipation rats by ameliorating the interstitial cells of cajal [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017: 6236904.
- [26] 黄小丽, 陈琳, 陈晨, 等. 3 种便秘模型的比较研究 [J]. *四川动物*, 2015, 34(1): 111-116.
- Huang XL, Chen L, Chen C, et al. Comparative study of three constipation models [J]. *Sichuan J Zool*, 2015, 34(1): 111-116.
- [27] 阳艾玲, 闫怡欣, 何昊, 等. 四种小鼠功能性便秘模型制备的比较研究 [J]. *中国医学工程*, 2019, 27(3): 1-4.
- Yang AL, Yan YX, He H, et al. A comparative study on the preparation of four functional constipation models in mice [J]. *China Med Eng*, 2019, 27(3): 1-4.
- [28] 涂星, 柴玉娜, 唐洪梅, 等. 肝郁脾虚型肠易激综合征便秘大鼠模型的建立和评价 [J]. *中国实验动物学报*, 2015, 23(1): 30-34.
- Tu X, Chai YN, Tang HM, et al. Establishment and evaluation of constipation rat model of IBS with liver depression and spleen deficiency [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2015, 23(1): 30-34.
- [29] Han SH, Park K, Kim EY, et al. Cactus (*Opuntia humifusa*) water extract ameliorates loperamide-induced constipation in rats [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2017, 17(1): 49.
- [30] Han SH, Hong KB, Kim EY, et al. Effect of dual-type oligosaccharides on constipation in loperamide-treated rats [J]. *Nutr Res Pract*, 2016, 10(6): 583-589.
- [31] Li C, Nie SP, Zhu KX, et al. Effect of *Lactobacillus plantarum* NCU116 on loperamide-induced constipation in mice [J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2015, 66(5): 533-538.
- [32] 杜丽东, 任远, 牛亭惠, 等. 3 种模拟中医体征的体虚便秘大鼠模型建立及效果观察 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2017, 33(2): 140-145.
- Du LD, Ren Y, Niu TH, et al. Establishment and effect observation on three kinds of Ti-Xu with constipation rat models [J]. *Chin J Appl Physiol*, 2017, 33(2): 140-145.
- [33] Williams JT, Ingram SL, Henderson G, et al. Regulation of mu-opioid receptors: desensitization, phosphorylation, internalization, and tolerance [J]. *Pharmacol Rev*, 2013, 65: 223-254.
- [34] Tan-No K, Nijima F, Nakagawasai O, et al. Development of tolerance to the inhibitory effect of loperamide on gastrointestinal transit in mice [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2003, 20(3): 357-363.
- [35] Kim H, Kim I, Lee MC, et al. Effects of Hwangryunhaedok-tang on gastrointestinal motility function in mice [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(15): 84-94.
- [36] He SQ, Yang F, Perez FM, et al. Tolerance develops to the antiallodynic effects of the peripherally acting opioid loperamide hydrochloride in nerve-injured rats [J]. *Pain*, 2013, 154(11): 2477-2486.

[收稿日期] 2019-12-26