

胶体果胶铋胶囊中铋在小鼠部分器官中分布初探

陈红云*, 李江雁*, 范忠秧, 蒋子莹

大理大学公共卫生学院, 云南 大理

收稿日期: 2024年1月15日; 录用日期: 2024年3月21日; 发布日期: 2024年3月31日

摘要

目的: 建立测量胶体果胶铋胶囊经灌胃后24 h铋在小鼠心、肝、脾、肺、肾、小肠、脑、粪中的含量测定方法。方法: 采用湿消化法-火焰原子吸收法测定小鼠灌胃胶体果胶铋胶囊24 h后心、肝、脾、肺、肾、小肠、脑、粪中的铋含量, 与给药前进行比较。结果: 湿法消解后各器官样品体积浓度范围在0.09701~33.4851 mg/L, 浓度范围内与吸光度值呈良好线性关系($n = 8$), 建立的标准工作曲线相关系数 $r = 0.9999$, 精密度试验 $RSD = 1.7971\%$, 重复性试验 $RSD = 1.9723\%$, 加样回收率平均值为101.1002% ($RSD = 2.0568\%$, $n = 9$), 小鼠灌胃胶体果胶铋胶囊24 h后有肾、小肠、粪中的铋含量有显著性差异。结论: 该测量方法简单、准确、重复性好, 回收率高, 可用于胶体果胶铋胶囊经口服后各器官中铋含量的测定; 胶体果胶铋经灌胃给小鼠后, 24小时, 铋在小鼠部分脏器和材料中的分布是粪便中最多, 依次是肠、肾、心、脾、肝、肺、脑组织最少。

关键词

湿消化法, 胶体果胶铋胶囊, 火焰原子吸收法, 铋, 器官

A Preliminary Study on the Distribution of Bismuth in Colloidal Pectin Bismuth Capsules in Some Organs of Mice

Hongyun Chen*, Jiangyan Li*, Zhongyang Fan, Ziyang Jiang

School of Public Health, Dali University, Dali Yunnan

Received: Jan. 15th, 2024; accepted: Mar. 21st, 2024; published: Mar. 31st, 2024

*通讯作者。

文章引用: 陈红云, 李江雁, 范忠秧, 蒋子莹. 胶体果胶铋胶囊中铋在小鼠部分器官中分布初探[J]. 自然科学, 2024, 12(2): 426-431. DOI: 10.12677/ojns.2024.122049

Abstract

Objective: To establish a method for the determination of the bismuth contents of the heart, liver, spleen, lungs, kidneys, small intestine, brain, and stool of mice 24 hours after intragastric administration of colloidal bismuth pectin capsules. **Methods:** The contents of bismuth in the heart, liver, spleen, lungs, kidneys, small intestine, brain, and stool of mice after 24 hours of intragastric administration of colloidal bismuth pectin capsules were determined by the wet digestion method and the flame atomic absorption method. **Results:** After wet digestion, the volume concentration of each organ sample ranged from 0.09701~33.4851 mg/L, and there was a good linear relationship between the concentration range and the absorbance value ($n = 8$). The correlation coefficient of the established standard working curve was $r = 0.9999$, the precision test result was $RSD = 1.79971\%$, and the repeatability test result was $RSD = 1.9723\%$. The average recovery rate was 101.1002% ($RSD = 2.0568\%$, $n = 9$). There were significant differences in the contents of bismuth in the kidneys, small intestine, and stool after 24 hours of intragastric administration of bismuth gel pectin capsules. **Conclusion:** The method described here is simple, accurate, reproducible, and has a high recovery rate. It can be used for the determination of the bismuth contents of various organs after oral administration of colloidal bismuth pectin capsules. After intragastric administration of colloidal bismuth pectin to mice, the highest concentration of bismuth was detected in the feces, followed by the intestine, kidneys, heart, spleen, liver, lungs, and brain.

Keywords

Wet Digestion Method, Colloidal Bismuth Pectin Capsule, Flame Atomic Absorption Method, Bismuth, Organ

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

铋属于微毒类金属，铋剂经过口服后，于消化道中难吸收。不溶于水，仅稍溶于组织液。不能经完整皮肤粘膜吸收。铋吸收后分布于身体各处，以肾最多，肝次之。大部分贮存在体内的铋，在数周以至数月内由尿排出。准确定量的测定出人体或动物体内的器官所含有的铋的分布情况，对深入研究铋与人体或动物体的疾病、健康及疾病预防等工作有一定的意义。铋在人体的各个器官中，心脏血管包括其它组织血管中，沉淀在组织中或栓塞在毛细血管中，发生局部溃疡，甚至坏死。铋在肠道内细菌的作用下，可还原为亚硝酸铋，吸收后引起高铁血红蛋白血症。严重慢性中毒时，由于铋多存在于肾脏，可出现严重肾炎，其中以肾小管上皮细胞的损害最重，肝亦可累及。反复经口或经其他途径慢性中毒患者可出现“铋线” [1]-[6]。本研究采用空气-乙炔火焰原子吸收分光光度法对小鼠经灌胃后 24 h 的心、肝、脾、肺、肾、小肠、脑、粪中的铋含量进行测定并与灌胃前比较，为更深入的研究各器官病变、健康和预防打下一定的研究基础。

2. 仪器与材料

2.1. 仪器

AA6880 原子吸收分光光度计(日本岛津仪器公司), 铋空心阴极灯(As-1-2 型, 生产日期: 2023-6-15,

有研科技集团有限公司), 解剖手术器械若干, 电子分析天平(PR224ZH/E 型万分之一天平奥豪斯仪器(常州)有限公司制造), 超纯水机(HHitech 和泰), 容量瓶, 烧杯若干, 微控数显电热板(EH-20A-Plus 上海洛亘自动化科技有限公司)。

2.2. 试剂

硝酸(优级纯, 重庆川东化工(集团)有限公司, 批号: 20220101), 1 + 99 硝酸体积比(硝酸: 超纯水: 1:99), 高氯酸(优级纯, 天津市鑫源化工有限公司, 批号: 2021006), 铋标准物质(RM) (质量浓度为 1000 mg/L, 坛墨质检科技股份有限公司, 批号: B22060140), 胶体果胶铋成品药(A: 国药集团同济堂制药有限公司, 批号: 230101; B: 贵州威门药业股份有限公司, 批号: 221101; C: 湖南华纳大药厂股份有限公司, 批号: 221103; D: 丽珠集团丽珠制药厂, 批号: 220502), 试验使用水为超纯水(电阻率 18.2 MΩ ·cm)。

2.3. 实验动物

正常, 健康小鼠雌雄各半, 体重 25~36 g, 6 周龄, 合格证号: SYXK (滇) 2018-0002 系列, C57BL/6 小鼠, 由大理大学动物实验中心提供。

3. 方法与结果

3.1. 小鼠给药及器官样品收集

试验小鼠 24 只, 雌雄各半, 随机分为给药组和空白对照组, 适应性饲养 1 周后, 按照灌胃剂量 0.04 ml/g, 对给药组 16 只分别灌胃成品药 A-D, 空白对照组 8 只灌胃超纯水, 正常进食 24 h 后处死, 取心、肝、脾、肺、肾、小肠、脑、粪共 8 种样品, -18℃冻存, 取样时, 室温下解冻, 超纯水洗净表面或内容物, 用滤纸吸干表面水分, 0.1~0.5 g 样品被手术剪剪取, 并且采用精密天平称定样品重量。

3.2. 样品前处理方法

采用精密天平称取组织器官样品 0.1~0.5 g, 置于 50 mL 烧杯中, 加硝酸 10 mL, 封口膜封口放置过夜, 将烧杯置于电热板(200.0 ± 5.0℃)上消解, 消解中消解溶液不干, 可以间断滴加硝酸 - 高氯酸(体积比: 4:1)混合消化液数滴或数毫升。直至棕色烟雾转变为白色烟, 并且消化液体为澄清透明或略带微黄色, 加超纯水 10.00 mL, 继续加热驱赶出酸, 加热近干, 取下冷却后加入 1 + 99 硝酸荡洗后转移至 10 mL 容量瓶中, 超纯水定容。

3.3. 火焰原子吸收测定工作条件

铋元素含量测定采用空气 - 乙炔火焰原子吸收分光光度法测定, 工作条件如表 1 所示。

Table 1. Instrument condition parameter table for determination of Bismuth element content by flame atomic absorption method

表 1. 火焰原子吸收法测定铋元素含量仪器条件参数表

Element	I/mA	Gain value	Energy value	λ/nm	Air/L/min	C2H2/L/min	狭缝宽度 nm	燃烧头高度 mm	燃烧头角度	火焰类型
Bi	10	223.1	0.9994~0.9999	306.8	15	2.2	0.7	7.0	0°	Air-C ₂ H ₂

3.4. 标准工作曲线的配制

采用精密移液器量取铋标准工作原液(1000 μg/mL) 5.00 mL, 置于 50 mL 容量瓶中, 用 1 + 99 硝酸

稀释定容成铋标准工作储备液(浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 分别取储备液 0.00、0.20、0.30、0.40、0.60、0.80、1.00、1.20 mL, 与 10 mL 容量瓶中, 用 1 + 99 硝酸稀释定容至刻度, 得铋的标准工作曲线浓度分别为: 0.00、2.00、3.00、4.00、6.00、8.00、10.00、12.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 摇匀后, 依据“3.3 火焰原子吸收测定工作条件”调试好仪器, 进样测量, 测得铋标准工作曲线回归方程为 $y = 0.0268x + 0.0026$, $R^2 = 0.9999$, 结果表明, 铋的体积浓度范围在 0.09701~33.4851 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与火焰原子吸收分光光度计测量出来的吸光度的线性关系良好。

3.5. 精密度试验

采用精密移液器量取质量浓度为 4.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的铋标准溶液, 依据“3.3 火焰原子吸收测定工作条件”调试好仪器, 进样重复测量 6 次, Bi 的吸光度值的 $RSD = 1.7971\%$, 结果表明该方法仪器精密度良好。

3.6. 重复性试验

依据“3.2”的条件方法处理小鼠肝脏样品制备, 依据“3.3 火焰原子吸收测定工作条件”调试好仪器进行测定, 平行做 6 次试验, Bi 含量测得 $RSD = 1.9723\%$, 结果表明该方法重复性良好。

3.7. 回收率试验

此次研究方法的加标回收率方法验证研究方法的准确性, 精密称取已知铋含量的小鼠肝脏 9 份, 分别加入已知铋元素含量的标准溶液, 配制成含铋低、中、高的样品 3 份, 依据“3.2”的条件方法处理小鼠肝脏样品制备, 依据“3.3 火焰原子吸收测定工作条件”调试好仪器进行测定, 计算出回收率, 结果见表 2。

Table 2. Test results of Bismuth recovery rate in the liver of normal healthy mice (n = 9)

表 2. 正常健康小鼠肝脏中铋元素回收率试验结果(n = 9)

Element	样品含量(μg)	加入量(μg)	检出的量(μg)	回收率(%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
	5.3544	1.00	6.3747	102.03		
	5.3501	1.00	6.3598	100.97		
	5.3602	1.00	6.3820	102.18		
	5.3495	3.00	8.5219	105.75		
Bi	5.3492	3.00	8.3027	98.45	101.1002	2.0568
	5.3503	3.00	8.3621	100.39		
	5.3625	5.00	10.3528	99.81		
	5.3609	5.00	10.3701	100.18		
	5.3591	5.00	10.3662	100.14		

4. 结果

4.1. 小鼠部分器官及材料中铋含量测定结果

试验开始和灌胃 24 h 后的小鼠部分器官和粪中铋测定结果比较如表 3。

Table 3. Comparison of Bismuth content in some organs and materials of mice in each group after intragastric administration (μg , $x \pm s$)**表 3.** 各组小鼠灌胃后部分器官及材料铋含量比较(μg , $x \pm s$)

Group	n	器官 or 材料	0 h	24 h
Control	8	心	---	4.7761 \pm 0.9403
		肝	---	2.4626 \pm 0.8656
		脾	---	2.5746 \pm 0.6865
		肺	---	2.0149 \pm 0.2537
		肾	---	8.3582 \pm 0.8955
		脑	---	0.4851 \pm 0.6268
		肠	---	24.7761 \pm 0.9402
		粪	---	46.9776 \pm 0.1941
空白对照组	8	心	---	---
		肝	---	---
		脾	---	---
		肺	---	---
		肾	---	---
		脑	---	---
		肠	---	---
		粪	---	---

Notes: “---”为检测出来数据值低于标准工作曲线能检测的最低范围值($<0.09701 \mu\text{g/mL}$)。“0 h”为小鼠灌胃开始的时间处于 0 小时时处理小鼠后所测的数据,“24 h”为小鼠灌胃开始的时间到 24 小时时处理小鼠后所测的数据。

5. 讨论

通过检测方法的精密度试验,重复性试验、回收率试验的试验测定结果分析,明显的说明该方法测定胶体果胶铋在小鼠灌胃后测定铋在部分脏器中的分布含量,方法准确,可靠。

胶体果胶铋胶囊制剂在小鼠灌胃后,24 h 后的各脏器的分布,从所测量的数据表,可以很明显是在消化道消化后,随粪便排出的最多,其次是在肠中,额外肾脏、心脏分布依次减少,在脑组织中分布最少。研究学者刘永明[7],采用他们合成的硫化铋纳米颗粒(BiNP)小鼠体内实验,发现血生化分析结果显示肌酐和血尿酸明显增加,而且病理切片观察发现在小鼠的近曲小管中能够观察到有凋亡和坏死的细胞存在,而且研究还发现 BiNP 引起的急性肾损伤与自噬标记蛋白 LC3II 蛋白的增加有关,但是与自噬流相关的 p62 蛋白没有明显变化。在体外实验中进一步证明了 BiNP 能够引发人胚胎肾细胞发生自噬,通过实验,观察到自噬囊泡的形成并伴随着自噬相关蛋白的增加包括 LC3II, Beclin1, Atg12。桑青[8]等研究学者,研究所发现的铋在大鼠中的分布和本文相同,即:桑青等研究的新型含铋化合物-羧甲基壳聚糖铋盐(CM-Chitosan-Bismuth, CM-ChBi),用这种药剂对实验大鼠进行了灌胃观察,研究了它在大鼠体内的分布及排泄情况。羧甲基壳聚糖铋盐组大鼠肝脏、肾脏、胃、脑、血液经酸水解产物中氨基葡萄糖含量均高于水对照组,粪便中含量最高;羧甲基壳聚糖铋盐组大鼠粪便、肝脏、肾脏、胃、脑、血液中铋的含量,以粪便中含量最高。实验结果提示:羧甲基壳聚糖铋盐主要经粪便排泄,少量被降解吸收。

6. 结论

该测量方法简单、准确、重复性好，回收率高，可用于胶体果胶铋胶囊经口灌胃给小鼠后各器官中铋含量的测定。

胶体果胶铋经灌胃给小鼠后，24 小时后铋在小鼠部分脏器和材料中的分布是粪便中最多，其次是肠、肾、心、脾、肝、肺、脑组织依次最少。

基金项目

云南省大理大学全面发展统筹科研基金资助项目(编号: KY2319106940)，中国云南省大理大学横项目基金(项目编号: KY2126138140)；2023 年大理大学流行病与卫生统计学科团队建设项目。

参考文献

- [1] 杜月, 冯敏, 成琳, 等. 高血压大鼠给药前后各组织器官中金属元素分布量的比较[J]. 沈阳药科大学学报, 2014, 31(2): 116-121.
- [2] 刘巧凤, 张玉喜, 蔡英卿, 等. 炮仗花各器官中金属元素的火焰原子吸收光谱法测定[J]. 中国农学通报, 2016, 32(34): 90-96.
- [3] 陈景明, 蔡英卿, 李丹玲, 等. 山杜英枝叶花中金属元素的火焰原子吸收光谱法测定[J]. 中国农学通报, 2016, 32(31): 20-28.
- [4] 刘汝莹. 主食米饭基质中污染物镉的机体吸收、蓄积、排泄及损伤研究[D]: [硕士学位论文]. 长沙: 中南林业科技大学, 2022.
- [5] 雷祖培, 张书润, 康华靖, 等. 浙江雪胆几种金属元素分布及其与土壤养分之间的关系[J]. 中国野生植物资源, 2010, 29(2): 48-52.
- [6] 邹洪平, 胡卫林, 郑如文, 等. 胶体果胶铋中游离铋测定方法的建立[J]. 广东化工, 2022, 49(21): 239-242.
- [7] 刘永明. 硫化铋纳米材料导致的与自噬相关的肾毒性机制研究[D]: [硕士学位论文]. 苏州: 苏州大学, 2018.
- [8] 桑青, 刘万顺, 韩宝芹, 蔡文娣, 刘冰. 羧甲基壳聚糖铋盐在大鼠体内分布及排泄的初步研究[J]. 高技术通讯, 2005, 15(9): 91-95.