

[11] 王冰倩, 周瑾欣, 魏 星, 等. 超声辅助大孔树脂技术富集荆芥穗中总黄酮和总酚的工艺研究[J]. 中草药, 2023, 54(17): 5541-5549.

[12] 彭腾腾, 李海燕, 尹盼盼, 等. 紫斑牡丹花粉片制备工艺优化及其半成品颗粒质量控制[J]. 中成药, 2025, 47(1): 42-50.

[13] 兰济乐, 阮叶萍, 邱璐琦. 基于 BAS-GA-BP 神经网络结合熵权法多指标优化风引汤提取工艺[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(23): 5686-5693.

[14] 辛科颖, 孙向明, 胡 扬, 等. 响应面法优化大孔树脂纯化菟丝子总黄酮工艺[J]. 中国药理学杂志, 2022, 57(7): 530-538.

[15] Nam M W, Zhao J, Lee M S, *et al.* Enhanced extraction of bioactive natural products using tailor-made deep eutectic solvents: application to flavonoid extraction from *Flos Sophorae*[J]. *Green Chem*, 2015, 17(3): 1718-1727.

[16] 罗江南, 封传华. 低共熔溶剂提取淫羊藿黄酮类成分及回收工艺研究[J]. 药学前沿, 2024, 28(11): 381-389.

[17] 左蓓磊, 王唱唱, 周 宁, 等. 基于 Box-Behnken 响应面法和 BP 神经网络的补骨脂磷脂提取工艺优化研究[J]. 中国医院药学杂志, 2023, 43(6): 601-606.

[18] 雷雨菁, 冯 洋, 彭劲滔, 等. 复方银翘乳剂提取工艺优化[J]. 中成药, 2024, 46(6): 1995-2000.

[19] 魏晓彤, 马思媛, 胡宇峰, 等. 基于 Box-Behnken 响应面法与反向传播神经网络的千金子总蛋白提取工艺研究[J]. 中国医药导报, 2024, 21(25): 34-40.

[20] Song Z L, Chen G X, Chen C Y C. AI empowering traditional Chinese medicine? [J]. *Chem Sci*, 2024, 15(41): 16844-16886.

[21] 李玲玉, 刘小莉, 张宏志. 基于响应面和人工神经网络-遗传算法优化液态发酵制备藕渣可溶性膳食纤维[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(23): 100-107.

[22] 于 明, 张秀如, 刘梦钰, 等. BP 神经网络—遗传算法及二维可视化优化香附总黄酮提取工艺研究[J]. 中药材, 2023, 46(2): 435-441.

异硫氰酸苄酯纳米结构脂质载体在大鼠体内药动学研究

何小稳, 马寅正, 孙万莹, 隋金蕾, 王丽丽, 高亚男, 王 岩, 余小丹, 贾玉忠, 唐晓亮*

[海南医科大学 (海南省医学科学院), 海南 海口 571199]

摘要: **目的** 考察异硫氰酸苄酯纳米结构脂质载体在大鼠体内的药动学。**方法** 12 只大鼠随机分为 2 组, 分别灌胃给予异硫氰酸苄酯及其纳米结构脂质载体溶液 (1.27 mg/kg), 于 0.25、0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、5、6、7 h 采血, GC-MS 法测定异硫氰酸苄酯血药浓度, 计算主要药动学参数。**结果** 与原料药比较, 纳米结构脂质载体 AUC_{0-1} 、 $AUC_{0-\infty}$ 、 C_{max} 升高 ($P<0.01$), $MRT_{0-\infty}$ 、 t_{max} 延长 ($P<0.01$), CL/F 降低 ($P<0.01$), 相对生物利用度增加了 163.20%。**结论** 纳米结构脂质载体可有效提高异硫氰酸苄酯的体内吸收和生物利用度, 本研究结果为其后续开发及临床应用提供了理论依据。

关键词: 异硫氰酸苄酯; 纳米结构脂质载体; 体内药动学; GC-MS

中图分类号: R969.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2025)12-3929-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.12.007

In vivo pharmacokinetics of benzyl isothiocyanate nanostructured lipid carriers in rats

HE Xiao-wen, MA Yin-zheng, SUN Wan-ying, SUI Jin-lei, WANG Li-li, GAO Ya-nan, WANG Yan, YU Xiao-dan, JIA Yu-zhong, TANG Xiao-liang*

[Hainan Medical University (Hainan Provincial Academy of Medical Sciences), Haikou 571199, China]

收稿日期: 2025-05-08
基金项目: 海南省重点研发项目 (ZDYF2024SHFZ130); 海南省基础与应用基础研究计划 (自然科学领域) 高层次人才项目 (2019RC219)
作者简介: 何小稳 (1985—), 女, 博士, 副研究员, 从事中草药活性成分应用研究。E-mail: xiaowen_he@126.com
*** 通信作者:** 唐晓亮 (1972—), 男, 博士, 主任中医师, 从事中医、中药研究。E-mail: datanghulu@163.com

KEY WORDS: benzyl isothiocyanate; nanostructured lipid carriers; *in vivo* pharmacokinetics; GC-MS

番木瓜 *Carica papaya* L. 为番木瓜属常绿木本植物, 广泛分布在我国广东、广西、海南、云南、台湾等地^[1], 其籽富含脂肪酸类、异硫氰酸酯类、糖苷类、黄酮类等成分, 具有抗癌、抗菌、抗氧化等多种生物活性, 近年来成为研究热点^[2-6]。课题组前期提取得到了天然、无污染、纯度高的番木瓜籽挥发油, 其中异硫氰酸苄酯含量高达 99%, 对假丝酵母菌抑制作用显著^[7], 但该成分具有水溶性差、易挥发、不稳定等缺点, 故又将其制成纳米结构脂质载体^[8], 扩展了它在医药、食品领域中的应用。在此基础上, 本实验建立专属性强、分离效果好、灵敏度高的 GC-MS 法, 考察大鼠灌胃给予异硫氰酸苄酯纳米结构脂质载体后的体内药动学, 以期为该制剂后续开发及临床应用提供基础。

1 材料

1.1 仪器 GC/MS-QP2010 Plus 气相色谱-质谱联用仪, 配置电子轰击离子源 (EI)、四级杆质量分析器 (日本岛津公司); JY92-IIDN 超声波细胞粉碎机 (宁波市新芝生物科技股份有限公司); 艾本德 5430、5424 台式高速离心机 (德国艾本德公司); AL104 电子天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司]; DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器 (巩义市予华仪器有限责任公司); SCI-VS 可调式混匀仪 (美国赛洛捷克公司); 干燥培养两用箱 (上海龙跃有限公司); RODI-160B1 超纯水仪 (厦门锐思捷水纯化技术有限公司)。

1.2 试剂 番木瓜籽挥发油 (课题组提取, 异硫氰酸苄酯含量 $\geq 99\%$)。异硫氰酸苄酯对照品 [纯度 $>98.0\%$, 阿拉丁试剂 (上海) 有限公司]; 单硬脂酸甘油酯 (国药集团化学试剂有限公司); 辛癸酸甘油酯 (上海麦克林生化科技有限公司); 大豆卵磷脂、聚醚 F188 (上海罗恩化学技术有限公司); 吐温 80 (天津市大茂化学试剂厂); 二甲基亚砜 (西陇科学有限公司); 乙醚 (天津科维诺生物科技有限公司); 肝素钠 (兰杰柯科技有限公司); 正己烷 (阿拉丁试剂有限公司)。水为超纯水。

1.3 动物 SPF 健康雄性 SD 大鼠, 体质量 (250 ± 20) g, 购自长沙市天勤生物技术有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (湘) 2022-0011, 给药前 24 h 禁食不禁水。动物实验经海南医科大学伦理委员会批准 (审批编号 HYLL-2024-165)。

2 方法

2.1 纳米结构脂质载体制备及表征 采用课题组前期优化的熔融-乳化超声法^[8]制备。分别称取 50.0 mg 辛癸酸甘油酯、50.0 mg 单硬脂酸甘油酯、100.0 mg 异硫氰酸苄酯, 在 70 ℃ 下加热溶解, 作为油相; 分别称取 400.0 mg 大豆卵磷脂、400.0 mg 聚醚 F188, 加入 20 mL 水, 在 70 ℃ 下溶解, 作为水相, 在恒温磁力搅拌下将水相缓慢滴加到油相中, 持续 20 min 至形成初乳, 探头超声 (振幅 80%, 每开 5 s 停 5 s) 处理 15 min, 冰水浴冷却固化 2 min, 微孔滤膜过滤, 即得。

在透射电镜下观察纳米结构脂质载体形态, 发现其呈类球形, 分布均匀, 纳米粒度仪及 Zeta 电位测定仪分别测得粒径为 79.13 nm, Zeta 电位为 -21.77 mV, HPLC 法测得包封率为 91.52%, 载药量为 9.15%。

2.2 GC-MS 分析条件

2.2.1 色谱 DB-5MS 毛细管色谱柱 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m); 载气 He, 柱温 140 ℃, 柱体积流量 1.0 mL/min; 分流进样, 分流比 10:1; 进样量 1.0 μ L; 吹扫体积流量 3.0 mL/min; 进样口温度 200 ℃。

2.2.2 质谱 电子轰击离子源 (EI), 温度 220 ℃; 接口温度 220 ℃; 溶剂延迟 2.0 min; 检测器电压 0.86 kV; 全扫描范围 m/z 50~500; 选择性离子扫描 (SIM) 模式; 定量离子 m/z 149, 定性离子 m/z 91、65。

2.3 对照品溶液制备 精密称取异硫氰酸苄酯对照品 10 mg, 置于量瓶中, 甲醇溶解并定容至 10 mL, 即得 (该成分质量浓度为 1 mg/mL)。

2.4 血浆样品处理 12 只大鼠随机分为 2 组, 分别灌胃给予异硫氰酸苄酯 (精密称取 25 mg 对照品, 3% 吐温 80 溶液定容至 5 mL, 制成 5 mg/mL 的溶液, 吸取 300 μ L, 溶于 10 mL 去离子水中, 即得) 及其纳米结构脂质载体溶液 (取 300 μ L 制剂, 溶于 10 mL 去离子水中, 即得), 给药剂量根据文献 [9] 报道换算, 为 1.27 mg/kg (按异硫氰酸苄酯计), 于 0.25、0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、5、6、7 h 眼眶静脉丛取血各约 0.5 mL, 置于肝素化离心管中, 4 000 r/min 离心 10 min, 取 200 μ L 血浆, 加入 200 μ L 正己烷, 涡旋萃取 2 min, 收集上清液。

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性试验 取空白血浆、含药血浆（10 ng/mL）及给药 7 h 后血浆样品适量，按“2.4”项下方法处理，在“2.2”项条件下进样测定。

2.5.2 线性关系考察 取空白血浆 190 μL，共 6 份，加入“2.3”项下对照品溶液（甲醇稀释至 4、3.2、1.6、0.8、0.4、0.2 μg/mL）各 10 μL，按“2.4”项下方法处理，在“2.2”项条件下进样测定。以对照品峰面积（Y）对其质量浓度（X）进行回归。

2.5.3 定量下限与检测限 对“2.5.2”项下质量浓度最低点的对照品溶液进行稀释，按“2.4”项下方法处理，按照信噪比 S/N = 10 计算定量下限，S/N = 3 计算检测限。

2.5.4 精密度、准确度试验 精密吸取空白血浆 190 μL，加入系列质量浓度对照品溶液各 10 μL，制成高、中、低质量浓度（160、40、10 ng/mL）血浆样品，平行 5 份，按“2.4”项下方法处理，在“2.2”项条件下进样测定，计算日内精密度；同法连续测定 3 d，计算日间精密度。再以方法回收率表示准确度。

2.5.5 稳定性试验 精密吸取空白血浆 190 μL，加入系列质量浓度对照品溶液各 10 μL，制成高、中、低质量浓度（160、40、10 ng/mL）血浆样品，分别在 4 ℃ 下放置 12 h、-20 ℃ 下冻融 3 次、-80 ℃ 下保存 30 d，按“2.4”项下方法处理，在“2.2”项条件下进样测定。

2.5.6 提取回收率试验 精密吸取空白血浆 190 μL，加入系列质量浓度对照品溶液各 10 μL，制成高、中、低质量浓度（160、40、10 ng/mL）血浆样品，平行 5 份，按“2.4”项下方法处理，在“2.2”项条件下进样测定，计算峰面积 A₁；同法处理高、中、低质量浓度对照品溶液，计算峰面积 A₂，按照（A₁/A₂）×100% 计算提取回收率。

3 结果

3.1 方法学考察

3.1.1 专属性试验 图 1 显示，异硫氰酸苄酯保留时间为 5.268 min，血浆样品中无内源性物质、代谢产物等干扰，表明该方法专属性良好，能满足分析要求。同时，选择定量离子 m/z 149 及定性离子 m/z 91、65 进行 SIM 检测。

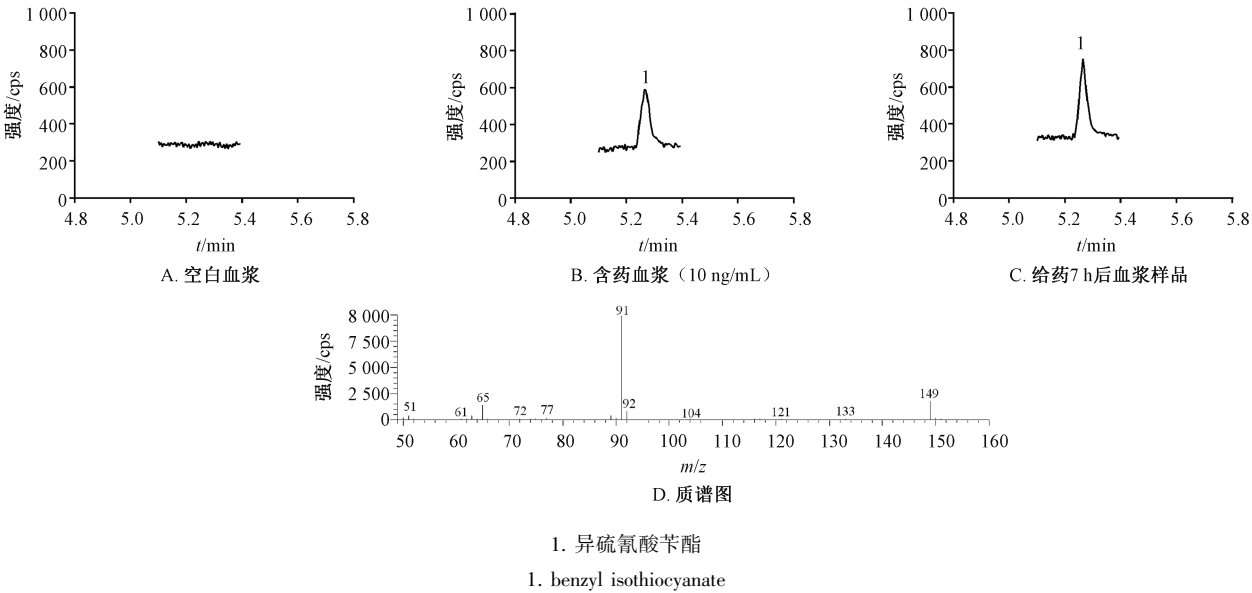


图 1 异硫氰酸苄酯 GC-MS 图

Fig. 1 GC-MS chromatograms of benzyl isothiocyanate

3.1.2 线性关系考察 方程为 $Y = 37.676X - 11.927$ ($r = 0.9998$)，在 10~200 ng/mL 范围内线性关系良好。

3.1.3 定量下限、检测限 异硫氰酸苄酯两者分别为 10、5.0 ng/mL。

3.1.4 准确度、精密度试验 高、中、低质量浓

度含药血浆日内精密度 RSD 分别为 3.4%、3.3%、3.0%，日间精密度 RSD 分别为 3.2%、6.0%、4.1%，准确度分别为 104.2%、99.0%、98.7%，表明该方法准确可靠，重复性好。

3.1.5 稳定性试验 结果见表 1，可知该方法稳定性良好。

表 1 稳定性试验结果 (n=5)
Tab.1 Results for stability tests (n=5)

质量浓度/(ng·mL ⁻¹)	在 4 ℃下放置 12 h		在-20 ℃下冻融 3 次		在-80 ℃下保存 30 d	
	实测值/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	实测值/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%	实测值/(ng·mL ⁻¹)	RSD/%
160	164.1	2.8	160.5	3.1	159.1	5.3
40	39.6	3.2	38.9	3.2	39.2	2.9
10	10.1	3.5	10.2	3.7	9.8	4.6

3.1.6 提取回收率试验 高、中、低质量含药血浆提取回收率分别为 89.2%、85.1%、82.3%，RSD 分别为 2.8%、2.6%、5.4%，符合生物样品检测要求。

3.2 体内药动学 血药浓度-时间曲线见图 2，再采用 DAS 3.0 软件进行非房室模型拟合，SPSS 17 软件进行统计学分析，计算主要药动学参数，结果见表 2。由此可知，与原料药比较，纳米结构脂质载体 AUC_{0~t}、AUC_{0~∞}、C_{max} 升高 (P<0.01)，MRT_{0~∞}、t_{max} 延长 (P<0.01)，CL/F 降低 (P<0.01)，相对生物利用度增加了 163.20%。

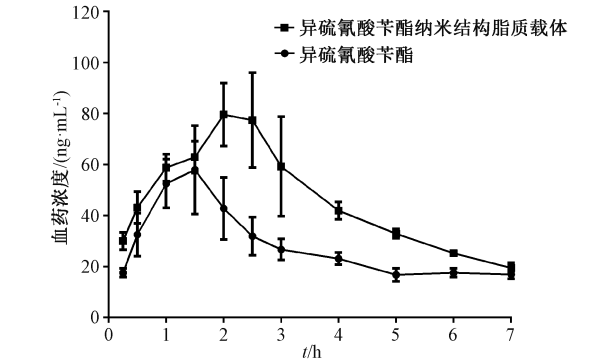


图 2 异硫氰酸苄酯血药浓度-时间曲线
Fig.2 Plasma concentration-time curves for benzyl isothiocyanate

表 2 异硫氰酸苄酯主要药动学参数 (x̄±s, n=6)
Tab.2 Main pharmacokinetic parameters for benzyl isothiocyanate (x̄±s, n=6)

参数	单位	异硫氰酸苄酯	异硫氰酸苄酯纳米结构脂质载体
AUC _{0~t}	ng·mL ⁻¹ ·h ⁻¹	178.03±28.79	329.61±20.28**
AUC _{0~∞}	ng·mL ⁻¹ ·h ⁻¹	268.90±35.81	438.85±77.88**
MRT _{0~t}	h	2.53±0.06	3.07±0.06**
MRT _{0~∞}	h	5.70±1.36	5.35±210
t _{1/2}	h	3.96±1.00	3.28±1.79
t _{max}	h	1.50±0.32	2.50±0.32**
CL/F	L·h ⁻¹ ·kg ⁻¹	4.80±0.72	2.96±0.43**
C _{max}	ng·mL ⁻¹	63.10±13.25	89.28±7.56**

注：与异硫氰酸苄酯比较，** P<0.01。

4 讨论与结论

目前，异硫氰酸苄酯含量测定方法有滴定法、紫外分光光度法、色谱法、质谱法等^[10]，但前两者灵敏度低，不适合微量分析；GC-MS 法集气相色谱的强分离能力和质谱对未知化合物的高鉴定能力为一体，成为检测挥发性成分的重要工具，尤其适用于复杂生物样品^[11-15]，因此本实验选择专属性强、分离效果好、灵敏度高的该方法，并且在检测前采用正己烷涡旋萃取以去除血浆中所含的杂质，减少其对 GC-MS 的污染，从而提高灵敏度。再考察了不同涡旋时间下的提取效率，最终确定为涡旋 2.0 min 以提取血浆样品中的异硫氰酸苄酯后进行分析。

纳米结构脂质载体可将挥发油保护起来免受外界环境影响，具有改善药物吸收、改变体内分布、增加靶向性等优势^[16-21]。本实验发现，异硫氰酸苄酯纳米结构脂质载体在大鼠体内的 C_{max} 高于原料药，可能是因为制剂比表面积增加，提高了它与胃肠道的接触面积；两者 t_{1/2} 无明显差异，但纳米结构脂质载体 t_{max} 更长，可能是因为药物被混合脂质包封后起到了缓释、控释作用；纳米结构脂质载体 CL/F 低于原料药，表明前者在体内消除更慢，作用时间更长，故上述变化均有助于提高该制剂的生物利用度。

综上所述，与异硫氰酸苄酯相比，其纳米结构脂质载体在大鼠体内的 C_{max}、AUC_{0~t}、AUC_{0~∞} 更高，t_{max} 更长，相对生物利用度增加 163.20%，可为该制剂后续开发及临床应用提供依据。

参考文献：

[1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京：科学出版社，1999：122.
[2] 韩本勇，耿树香，马 婷，等. 木瓜籽油制备方法研究进展[J]. 粮食与油脂，2019，32（7）：10-12.
[3] Padmapriya A, Preetha S, Selvarai J, et al. Effect of Carica papaya seed extract on IL-6 and TNF-α in human lung cancer cell lines-An in vitro study[J]. Res J Pharm Technol, 2022,

15(12): 5478-5482.

[4] Mhrous N S, Nosser E A. Anticancer potential of *Carica papaya* Linn black seed extract against human colon cancer cell line; *in vitro* study[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2023, 23(1): 271.

[5] Sani M S A, Bakar J, Rahman R A, *et al.* Antibacterial composition of bioautographic fractions, characteristics, and stability of *Carica papaya* seed extract[J]. *Int Food Res J*, 2021, 28: 443-456.

[6] Agada R, Usman W A, Shehu S, *et al.* *In vitro* and *in vivo* inhibitory effects of *Carica papaya* seed on α -amylase and α -glucosidase enzymes[J]. *Heliyon*, 2020, 6(3): e03618.

[7] 应泽茜, 周丽娟, 赵诗景, 等. 海南产番木瓜籽挥发油的稳定性及抗假丝酵母菌活性的研究[J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(6): 1323-1325.

[8] 姚 凯, 马寅正, 易国辉, 等. 番木瓜籽挥发油纳米结构脂质载体的制备及抗假丝酵母菌活性研究[J]. *热带作物学报*: 2023, 44(7): 1478-1487.

[9] Mennicke W H, Görlner K, Krumbiegel G, *et al.* Studies on the metabolism and excretion of benzyl isothiocyanate in man[J]. *Xenobiotica*, 1988, 18(4): 441-447.

[10] 胡国伟, 杨瑛洁, 李淑燕, 等. 异硫氰酸酯分析方法研究进展[J]. *食品工业科技*, 2011, 32(12): 524-527; 531.

[11] 张婷婷, 徐 然, 江 丽, 等. GC-MS 测定大鼠血浆中反式氧化樟脑含量及其体内药动学研究[J]. *医药导报*, 2020, 39(4): 528-533.

[12] 李 涛, 冯 雪, 彭 娟, 等. 液液微萃取 GC-MS 分析香茅草提取物给予大鼠后血浆中 β -榄香烯及药代动力学特征[J]. *药学报*, 2021, 56(7): 1820-1825.

[13] 蒋友胜, 朱 路, 彭金铃, 等. 大气压气相色谱-串联质谱法同时测定血清中多溴二苯醚和新型溴代阻燃剂[J]. *分析测试学报*, 2024, 43(8): 1273-1279.

[14] Özdemir Z, Al S, Kul A, *et al.* Determination of carbamazepine profile in human plasma by GC-MS[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2025, 255: 116658.

[15] 梁未未, 刘 悦, 林贤文, 等. 尿液中 12 种苯二氮卓类药物的聚二甲基硅氧烷海绵辅助分散液液微萃取/GC-MS 法检测[J]. *分析测试学报*, 2025, 44(3): 464-470.

[16] 李 怡, 伍振峰, 况弯弯, 等. 纳米结构脂质载体提高精油稳定性及其应用研究[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(3): 523-530.

[17] Vardanega R, Lüdtke F L, Loureiro L, *et al.* Development and characterization of nanostructured lipid carriers for cannabidiol delivery[J]. *Food Chem*, 2024, 441: 138295.

[18] Binazir E, Ghanbarzadeh B, Hanifian S, *et al.* Development and optimization of thyme-pennyroyal essential oils based active nanostructured lipid carrier (NLC) containing saffron extract with antioxidant and antimicrobial properties[J]. *Food Biosci*, 2024, 61: 104992.

[19] Zhang Z L, Fu X Q, Wang Y R, *et al.* *In vivo* anti-hepatitis B activity of *Artemisia argyi* essential oil-loaded nanostructured lipid carriers. Study of its mechanism of action by network pharmacology and molecular docking[J]. *Phytomedicine*, 2023, 116: 154848.

[20] 董丹丹, 焦红军, 郝海军, 等. 吴茱萸碱纳米结构脂质载体处方优化和 SD 大鼠体内口服药动学研究[J]. *中草药*, 2022, 53(1): 60-70.

[21] 马 开, 辛玉凤, 田 萍, 等. 大黄素纳米结构脂质载体在大鼠体内的药动学及组织分布[J]. *中成药*, 2021, 43(10): 2605-2611.