

维生素B₆质量研究概况

卫生部药品生物制品检定所 高增荣

国内及 WHO 均将本品列为基本药物之一。本类有关化合物详见表 1。目前国内多用 POL, 国外也有 PAL 或 PAL-P 商品片剂供应。

稳 定 性

POL 对 γ -射线或光均不稳定

(一) r -射线 因辐照剂量、药物浓度与剂型、pH 与保护剂种类、温度等而异。

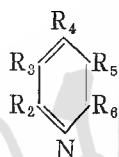
国内某部报导, 在低剂量辐照下所得结果为: POL · HCl 原料及注射液 (25mg/ml) 以 ^{60}Co 的 r -射线和以 14Mev 快中子辐照 (中子通量 1.1×10^8 中子/cm²·Sec), 施以 $<1 \times 10^3$ 伦和 $<1 \times 10^{11}$ 中子/cm², 两者质量均无变

化。但以 $1 \times 10^3 \sim 2.2 \times 10^5$ 伦及 $1 \times 10^{11} \sim 3.78 \times 10^{14}$ 中子/cm² 辐照后, 原料无变化, 注射液含量约 - 2%。国外报导称 POL · HCl 溶液经 r -射线辐照后, 因剂量 ($\leq 3\text{Mrad}$) 及溶液 pH 不同而全部或部分分解。还讨论了 POL 固体在辐照时能失去氢原子生成游离基, 但溶于酸液中又可复得。POL 与抗坏血酸可得一固体复合物, 它在酸性液中经辐照时, 较单一 POL 为稳定^[1]。也有指出 B 族维生素在 pH6.8 时, 浓度为 10^{-4}M , 对 r -射线 (辐照剂量 $\leq 2.5\text{Mrad}$) 极敏感。其中以 POL 尤甚, 在不加防护剂时, 经 0.5Mrad 辐照, 即全部分解。用葡萄糖和氧为防护剂时, 能防止或降低射解 (Radiolysis), 低温 (-80°C)

表 1

No	名 称	简 称	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
1	吡 哆 醇	POL	CH ₃	OH	CH ₂ OH	CH ₂ OH	H
2	吡 哆 醛	PAL	CH ₃	OH	CHO	CH ₂ OH	H
3	吡 哆 胺	PAM	CH ₃	OH	CH ₂ NH ₂	CH ₂ OH	H
4	吡哆醇-5-磷酸	POL-P	CH ₃	OH	CH ₂ OH	CH ₂ OPO ₃ H ₂	H
5	吡哆醛-5-磷酸	PAL-P	CH ₃	OH	CHO	CH ₂ OPO ₃ H ₂	H
6	吡哆胺-5-磷酸	PAM-P	CH ₃	OH	CH ₂ NH ₂	CH ₂ OPO ₃ H ₂	H
7	4-吡哆酸	PIA	CH ₃	OH	COOH	CH ₂ OH	H
8	4-吡哆酸-5-磷酸	PIA-P	CH ₃	OH	COOH	CH ₂ OPO ₃ H ₂	H
9	4-脱氧吡哆醇	D-POL	CH ₃	OH	CH ₃	CH ₂ OH	H
10		光 解 物	CH ₃	OH	CH ₂ OH	CH ₂ OH	OH
11		环 化 物	CH ₃	H	CH ₂ OCH ₃	CN	OH
12		硝 化 物	CH ₃	NO ₂	CH ₂ OCH ₃	CN	OH
13		氯 化 物	CH ₃	NO ₂	CH ₂ OCH ₃	CN	Cl
14		反环化物	CH ₂ OCH ₃	H	CH ₃	CN	OH
15		类 似 物	CH ₂ OH	OH	CH ₃	CH ₂ OH	H
16		副 产 品	CH ₃	OH	CH ₂ OCH ₂		H

本类化合物的结构通式为：



较室温(27℃)下射解也少^[2]。

关于射解机制及产物,因在稀溶液中,辐照能量几乎全为主要组分——水所吸收,发生电离及激发,生成水合电子(e_{aq}^- , hydrated electron)及自由基($OH\cdot$ 与 $H\cdot$),氢分子与分子产物(H_2 , H_2O_2)等,它们均具强活性,可与POL作用而引起分解。此外, r-射线直接与POL反应(甚至能使吡啶环破裂),及射解产物间的再反应等均可能存在,因之反应过程与产物均较复杂。有称能生成PAL、PIA、酚类、醛或酮类及有机酸类等。

(二) 光线 原料或制剂见光均易变色,以注射液尤甚。

Mizuno 等研究了POL、PAM与不同输液(糖、盐或氨基酸等)、药物或色素配伍时,在光照下的稳定性。发现荧光黄、酸性红、罗丹明B、亮兰、靛兰及胭脂红等不加速

POL或PAM的光解作用。而黄素单核苷酸(FMN)、四碘荧光黄、Eosin Y、四碘四氯荧光素、红汞、亚甲兰、Azure A及Azure B等能加速这两者的光解。但当含有氨基匹林、安乃近、色氨酸等时,可抑制因色素所致的光解作用。如将POL与FMN加入含糖或生理盐水输液中时,POL见光显著分解。但在氨基酸输液中光解较缓。另POL、PAM、PAM-P或PAL-P的浓溶液较稀溶液相对稳定些^[3]。另有报导,在输液中同时加有POL与核黄素-5-磷酸钠者,则加速POL光解,经GC-MS鉴定,主要分解产物为表1中之No.10。

为预防分析测定时的误差,曾有研究POL、PAM溶液在实验室内不同受光条件下的稳定性,认为经白色荧光灯照射时,如检液贮无色玻璃容器中者,均可分解。照射时间长或溶液pH高,分解量也多。但贮于低光化性玻璃容器(Low actinic glassware,能滤除紫外或<500nm光线者)中时无分解。在黄色白炽灯或金色荧光灯下,检液在无色玻璃容器中亦无分解。适于测定中照明用^[4]。

(三) 其它 一般认为B₆及其制剂在正

常情况下是稳定的。但也有认为单方POL或与安乃近的复方注射液均不稳定者^[6]。但该文对POL是经TLC展开后,提取,行比色测定,并未对色泽稳定性、回收率作必要考察,结论尚难令人信服。我们对市售POL商品(原料、针、片共31批,包括经贮13年的针剂)用几种不同方法测定含量,未见显著下降情况。

关于容器的影响,聚氯乙烯袋对POL几无吸着^[6]。而聚乙烯容器能引起POL溶液分解。但也有认为因聚乙烯的透光性较差,盛装POL液时,较在透光性好的聚丙烯或玻璃瓶中分解较缓^[7]。

质量检定方法

激光荧光法^[8] 由于脉冲激光具有较高的光谱强度,而在荧光分析中,待测物的荧光强度与入射光(激发光)强度及溶液浓度呈线性关系,因此本法检测灵敏度极高。如对POL的检测限量为 $0.05\mu\text{g/L}$,而一般荧光法为 $1.5\mu\text{g/L}$,相对荧光强度与POL浓度在 $10^{-10}\sim 10^{-5}\text{M}$ 间呈线性关系。

电化学方法 有在玻璃化碳黑电极(Glassy carbon electrode)上行差示脉冲伏安法,以测定单方或复方维生素制剂中的POL、 B_1 与叶酸^[9]。也有在pH9.2的缓冲液中,用碳糊电极(Carbon paste electrode)以伏安法测定复合维生素制剂中的POL。 B_1 、 B_2 、烟酰胺及泛酸钙均无干扰。VC及亚铁盐有影响,可先经离子交换柱洗脱除去^[10]。

比色法 USP中对含POL的制剂系用2,6-二氯醌氯亚胺显色后测定,但色泽不稳定。有人经研究后认为,此法反应介质中含异丙醇应 $>99\%$ 。因此对试样,显色剂,缓冲液(三乙醇胺)均以异丙醇配制。据称改进所得色泽稳定,灵敏度高^[11]。由于POL分子中具有酚羟基,可与重氮化物偶合后行比色测定。近期报告有用氨苯矾或磺胺经重氮

化后,与POL生成橙色,测定。 B_1 、 B_{12} 不干扰结果^[12]。

层析法 如HPLC可用于片剂或胶囊中的 B_0 、 B_1 、 B_2 、C及烟酰胺的测定^[13]。也有用弱阴离子交换树脂二乙基氨基纤维素为固定相,以梯度浓度的氯化钠液为洗脱剂行凹形梯度(Concave gradient)洗脱的柱层析法,收集不同流出部分,可分别测定 B_0 、叶酸钙、 B_{12} 及 B_1 等。TLC法也常作分离、鉴别与含量测定,因常见,不赘述。

有些报告是研究POL与 B_1 双组分复合制剂的检测的。如有对固体制剂用HPLC;紫外导数光谱法;HPTLC及比色法进行测定、讨论者^[14]。也有将试样溶于 D_2O 中,以马来酸为内标,行NMR测定。相应的峰面积在 $\delta = 2.55\text{ppm}$ (B_1); 2.65ppm ($B_1 + B_0$)及 6.6ppm (马来酸),两者平均回收率为 98% , B_2 无干扰^[15]。Moussa等除提出在pH7的缓冲液中以UV法直接测定POL, B_1 无干扰外,还推导了一个适用于一些双组分用UV法测定时的计算式^[16]。

关于POL与中间体No11~13(见表),吡啶酮,硝基吡啶酮,硝基氯代吡啶酮等,可用示波极谱法测定。

体内情况与其它

人服用POL后易被胆道吸收,主要以代谢产物PIA自尿中排出,通常血(尿)药浓度能代表药物吸收量。关于代谢物的生成量与分布量因情况而异。如在入血清中 PAL-P ; $\text{PIA} > \text{PAL}$; $\text{POL} > \text{PAM-P} > \text{PAM}$ 。在人奶中为 $\text{PAL} > \text{PAL-P} > \text{PIA}$; $\text{POL} > \text{PAM-P} > \text{PAM}$ 。然而在羊奶中则以 PAL-P 量最高,牛奶中以 PAL 与 PAL-P (约相等)量最高^[17]。吉田等发现兔及狗服用 PAL-P 后,兔血中主要为PIA及 PAL ,另有 POL-P 及 POL 。但在狗血中仅检得 PAL (主要)及 PAL-P (少量)^[18]。

据药代动力学与稳定性等方面的研究需要,对B₆及其代谢产物等的检测,通常采用各种层析法分离、测定。如利用HPLC对大鼠的脑、肾、肝中的POL、PAL、PAM的测定^[19]。也有介绍将生物检样通过阳离子交换树脂柱层析,以不同pH缓冲液洗脱,可分离POL-P、PAL-P、PIA、PAM-P、PAL、POL及PAM等,然后以荧光法分别测定含量^[17]。

Machida等报导了制备长效POL片剂的结果。系将POL与羟丙基纤维素及乳糖的简单混合物作“延效层”,以这一混合物的喷雾干燥粉剂为“即效层”,压制双层片。经对主药——辅料按不同量配比的4种处方片剂行体内、外试验,证明在体内能起延效作用。溶出度与尿药量间具良好相关。但4种片剂的体内试验数据间无显著性差异。该文认为此因POL在胆道的相当区域内均可吸收^[20]。其它文献也曾指出,由于POL有较高溶解度,所以不论体外溶出速率如何,它对体内、外相关的影响并不显著。有关POL与其它药物及辅料配伍时,对POL的吸收、释放与排泄的影响等也有研究报导。

参 考 文 献

- [1] Galatzeane I et al: *Int J Appl Radiat Isotopes*, 17(7):369, 1966; Wade A(editor): *Martindale The Extra Pharmacopoeia*, 27th ed, p. 208, 1977
- [2] Kishore K et al: *Radiat Eff*, 38:97, 1978; 27:167, 1976; 29:165, 1976

- [3] Mizuno N et al: *J Pharm Pharmacol*, 33: 373, 1981; *CA*, 93:31715m, 1980; *CA*, 91: 70428y, 1979
- [4] Catharina YW Ang: *J Assoc Off Anal Chem*, 62(5):1170, 1979
- [5] Altinkurt T et al: *Eczacilik Bulteni*, 19: 22, 1977; 20:23, 1978
- [6] Moorhatch P et al: *Amer J Hosp Pharm*, 31:72, 1974
- [7] Youssef MK et al: *Indian J Pharm*, 35(5): 155, 1973; *CA*, 93:31715m, 1980
- [8] Richardson JH: *Anal Biochem*, 83:754, 1977
- [9] Ballantine J et al: *J Pharm Pharmacol*, 35(2):125, 1980
- [10] Soederhjalm P et al: *Analyst*, 100(1190): 349, 1975
- [11] Moussa Abdel-Fattah A: *Mikrochim Acta*, (3~4):169, 1982
- [12] Sane RT et al: *J Assoc Off Anal Chem*, 66(1):158, 1983
- [13] Kwok RP et al: *J Pharm Sci*, 70(9):1314, 1981
- [14] Such V et al: *Anal Chem*, 52:412, 1980
- [15] Hassan SSM: *J Assoc Off Anal Chem*, 61 (1):111, 1978
- [16] Moussa Abdel-Fattah A et al: *Pharmazie*, 32(1):50, 1977; *Idem: Ibid*, 34(3):160, 1979
- [17] Coburn SP et al: *Anal Biochem*, 129(2): 310, 1983
- [18] 吉田继亲等: *药学杂志(日)*, 98(10):1319, 1978
- [19] Pierothi JA et al: *J Chromatog*, 306:377, 1984
- [20] Machide Y et al: *Chem Pharm Bull*, 28 (4):1082, 1980