

核磁共振法测定盐酸替扎尼定片中盐酸替扎尼定

薛晓菲¹, 梅永霞², 陈容¹, 杨璞¹, 陈宸¹, 董鹏远³, 郝海军^{4*}

1. 郑州健康学院, 河南 郑州 450064

2. 郑州大学, 河南 郑州 450001

3. 河南省儿童医院, 河南 郑州 450008

4. 上海市中药研究所, 上海 201401

摘要: 目的 建立核磁共振法测定盐酸替扎尼定片中盐酸替扎尼定。方法 选择盐酸替扎尼定在 δ 7.82~7.92 处质子峰作为定量峰, 马来酸在 δ 6.20~6.36 处的质子峰作为内标峰, 使用 zg90 脉冲序列获取 ^1H -qNMR 图谱, 采用核磁共振法测定盐酸替扎尼定片中盐酸替扎尼定, 以高效液相色谱法测定结果作为参考。结果 盐酸替扎尼定在 204.10~4 812.55 $\mu\text{g/mL}$ 呈良好线性关系。平均回收率为 100.19%, RSD 值为 1.20%。与 HPLC 法测得盐酸替扎尼定片的量基本一致。结论 建立的方法测试时间短, 便捷性优势明显, 极大提高了盐酸替扎尼定片中盐酸替扎尼定分析测试效率。

关键词: 盐酸替扎尼定片; 盐酸替扎尼定; 马来酸; 核磁共振法

中图分类号: R927.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2026)05-1305-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.05.013

Determination of hydrochloride tizanidine in Hydrochloride Tizanidine Tablets by nuclear magnetic resonance

XUE Xiaofei¹, MEI Yongxia², CHEN Rong¹, YANG Pu¹, CHEN Chen¹, DONG Pengyuan³, HAO Haijun⁴

1. Zhengzhou Health College, Zhengzhou 450064, China

2. Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China

3. Henan Children's Hospital, Zhengzhou 450008, China

4. Shanghai Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai 201401, China

Abstract: Objective To establish a nuclear magnetic resonance (NMR) method to determine hydrochloride tizanidine in Hydrochloride Tizanidine Tablets. **Methods** Spectrum peak at δ 7.82 — 7.92 of hydrochloride tizanidine was employed as quantitative peaks, spectrum peak at δ 6.20 — 6.36 of maleic acid were employed as internal standard peaks. Zg90 pulse sequence was used to obtain the ^1H -qNMR spectrum. NMR method was used to determine the content of tizanidine hydrochloride in Hydrochloride Tizanidine Tablets, with the results from high-performance liquid chromatography as a reference. **Results** There was a linear relationship for hydrochloride tizanidine in the range of 204.10 — 4 812.55 $\mu\text{g/mL}$, and the average recovery rate was 100.19%, and the RSD value was 1.20%. The amount of Tizanidine Hydrochloride Tablets measured by HPLC method was basically consistent. **Conclusion** The established method has the advantages of short testing time and obvious convenience, greatly improving the efficiency of analyzing and testing tizanidine hydrochloride in Tizanidine Hydrochloride Tablets.

Key words: Tizanidine Hydrochloride Tablets; tizanidine hydrochloride; maleic acid; nuclear magnetic resonance (NMR) method

盐酸替扎尼定化学名为 5-氯-N-(4,5-二氢-1H-咪唑-2-基)-2,1,3-苯并噻二唑-4-胺盐酸盐, 由瑞士 Novartis 公司研发的一种中枢性骨骼肌松弛药, 主要用于治疗中枢性损伤所致的肌痉挛、肌强直、骨

骼肌张力增高等疾病的康复治疗^[1-2]。《中国药典》2025 年版采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定盐酸替扎尼定片^[3], 色谱系统平衡时间、测试时间均较长, 需消耗大量有机试剂; 流动相使用戊烷磺酸钠

收稿日期: 2025-12-09

基金项目: 河南省科技攻关项目 (232102310384); 上海市科技计划项目 (21S21903400S)

作者简介: 薛晓菲 (1989—), 女, 学士, 讲师, 研究方向为临床药学与康复治疗。E-mail: yibing0401@126.com

*通信作者: 郝海军 (1981—), 男, 博士, 副研究员, 从事仪器分析及质量标准研究。E-mail: haohj2007@126.com

溶液作为水相,但戊烷磺酸钠容易吸附在色谱柱上,造成不可逆损伤,缩短色谱柱使用寿命;流动相 pH 值微小波动会使药物出峰时间会发生较大变化^[4]。《中国药典》自 2010 年版起开始收录核磁共振定量法(qNMR),该方法是根据特定质子峰的峰面积与其质子个数之间的正比关系而实现定量^[5-6]。qNMR 法一般在 2 min 内即可完成测试,所需测试溶剂仅约 0.5 mL,耐用性良好,且测试结果准确度接近 HPLC 法^[7]。qNMR 法定量分析时图谱上也提供了药物分子结构中大量的核磁共振信号,因而可实现定量和定性同时进行,无需再借助其他仪器进行定性分析,便捷优势明显^[7-8]。药物分子上甲基、亚甲基、次甲基、苯环等质子峰较为尖锐,容易找到专属性较高的质子峰作为定量峰,故氢核磁共振定量法(¹H-qNMR)应用最为广泛。基于此,本研究核磁共振法测定盐酸替扎尼定片中盐酸替扎尼定,期望为盐酸替扎尼定片药品生产企业和质量监管部门等提供技术参考资料。

1 仪器与试剂

Avance II 型核磁共振波谱仪(400 MHz,德国 Bruker 公司);KQ-400k 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司);MS105/A 型分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);MIX-V 型涡旋混合器(上海净信实业发展有限公司);1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)。

盐酸替扎尼定片(批号 20241020、20241223、20250203,规格 2 mg/片,四川科瑞德制药股份有限公司);盐酸替扎尼定对照品(批号 24020383,质量分数 99.8%,坛墨质检科技股份有限公司);氘代二甲基亚砜(DMSO-*d*₆,批号 58Q25166, Sigma-Aldrich 公司);马来酸对照品(批号 BC6482,质量分数 99.8%,Sigma-Aldrich 公司);戊烷磺酸钠(批号 20230217,北京百灵威科技有限公司)。

2 方法与结果

2.1 测试参数

采用 zg90 脉冲序列获取 ¹H-qNMR 图谱(腔体温度 298 K),中心频率(O1P) $\delta=7.08$,采集点数(TD)为 64 K,增益(RG)为 203,延迟时间(D1)为 10 s,空扫次数和采集次数分别为 2、16 次,采样时间(AQ)为 4.02 s。

2.2 供试品溶液的配制

精密称取马来酸对照品 24.84 mg,置 25 mL 量瓶中,加入约 20 mL DMSO-*d*₆ 超声 15 s 使之完全

溶解,并用 DMSO-*d*₆ 定容即得 993.6 $\mu\text{g/mL}$ 马来酸内标液。取 20 片盐酸替扎尼定片,研细,精密取粉末置离心管中(约相当于盐酸替扎尼定 2 mg),加入马来酸内标液 1.0 mL,超声 60 s,8 000 r/min 离心 10 min,上清液即为 ¹H-qNMR 法用供试品溶液,转至核磁管(180 mm \times 5 mm)中,盖帽后待测。

2.3 定量峰和内标峰专属性

按照测试条件获取盐酸替扎尼定片和马来酸内标混合物 ¹H-qNMR 图谱,结果见图 1。马来酸在 $\delta 6.20\sim 6.36$ 处出现孤立、尖锐的质子峰,附近无其他质子峰干扰,专属性高,故确定马来酸该处质子峰作为马来酸内标峰。盐酸替扎尼定片在 $\delta 7.82\sim 7.92$ 处质子峰与马来酸内标峰最接近,且峰形尖锐,故作为盐酸替扎尼定的定量峰。为提高定量分析的可靠性,¹H-qNMR 法定量时一般采用相同类型的质子峰作为定量峰和内标峰^[9-10]。马来酸在 $\delta 6.20\sim 6.36$ 处质子峰和盐酸替扎尼定片在 $\delta 7.82\sim 7.92$ 处质子峰同属于烯键氢,因此确保了定量分析结果的准确性。

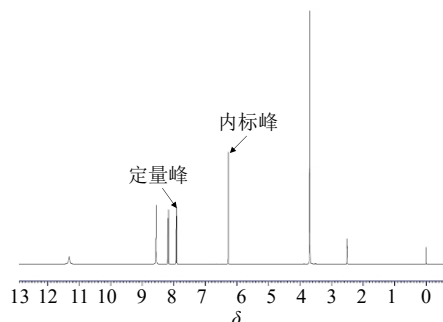


图 1 盐酸替扎尼定片与马来酸混合物的 ¹H-qNMR 图谱
Fig. 1 ¹H-qNMR spectrum of mixture of hydrochloride tizanidine tablets and maleic acid

2.4 线性范围

精密称取盐酸替扎尼定对照品,采用马来酸内标液配制成 4 812.55、3 615.28、2 219.87、1 024.69、621.72、204.10 $\mu\text{g/mL}$ 盐酸替扎尼定对照品溶液,获取 ¹H-qNMR 图谱。采用定量峰与内标峰面积比为纵坐标,盐酸替扎尼定与马来酸质量浓度比为纵坐标进行线性回归,得方程 $Y=1.9838X-0.0337$, $r=0.9996$,非常接近于 1.0,表明盐酸替扎尼定在 204.10~4 812.55 $\mu\text{g/mL}$ 呈良好线性关系。

2.5 定量限与检测限

取 204.10 $\mu\text{g/mL}$ 盐酸替扎尼定对照品溶液,用 DMSO-*d*₆ 逐步稀释,分别获取 ¹H-qNMR 图谱,对

盐酸替扎尼定处 δ 7.82~7.92 处质子峰进行积分, 测得检测限 (S/N=3) 和定量限 (S/N=10) 分别为 20.41、61.23 ng/mL。

2.6 稳定性试验

取批号 20241020 盐酸替扎尼定片供试品溶液置于室温 (温度为 25 °C, 湿度为 55%), 分别于 0、6、12、18、24、48 h 获取 $^1\text{H-qNMR}$ 图谱, 计算得盐酸替扎尼定质量分数的 RSD 值为 1.84%, 表明供试品溶液至少在 48 h 内稳定性良好。

2.7 重复性和中间精密度试验

取 20 片盐酸替扎尼定片 (批号 20241020), 研细, 精密取粉末 6 份 (约相当于盐酸替扎尼定 2 mg), 分别制备 $^1\text{H-qNMR}$ 用供试品溶液, 获取 $^1\text{H-qNMR}$ 图谱, 计算得盐酸替扎尼定质量分数的 RSD 值为 1.55%。两个分析人员使用同一台核磁共振仪, 分别于不同时间进行测定, 结果显示 12 份样品盐酸替扎尼定质量分数的 RSD 值为 1.30%。

2.8 回收率试验

精密取盐酸替扎尼定片粉末 (约相当于盐酸替扎尼定 2 mg, 批号 20241020), 共 9 份, 分成低、中、高 3 组。分别按 50%、100%、150% 加入盐酸替扎尼定对照品, 制备供试品溶液, 获取 $^1\text{H-qNMR}$ 图谱, 计算盐酸替扎尼定的质量分数。结果盐酸替扎尼定的平均回收率为 100.19%, RSD 值为 1.20%。

2.9 测定结果

盐酸替扎尼定片中盐酸替扎尼定的质量分数 (W_s) 计算公式如下:

$$W_s = \frac{(A_s/n_s) \times M_s \times m_r}{(A_r/n_r) \times M_r \times m_s} \times W_r$$

式中 A_s 、 A_r 分别为盐酸替扎尼定定量峰和马来酸内标峰峰面积, n_s 、 n_r 分别为盐酸替扎尼定定量峰原子数 ($n_s=2$) 和马来酸内标峰原子数 ($n_r=2$), M_s 和 M_r 分别为盐酸替扎尼定和马来酸相对分子质量, m_s 和 m_r 为盐酸替扎尼定片样品质量和马来酸质量, W_r 为马来酸质量分数 (质量分数为 99.8%)。

参考《中国药典》2025 年版二部盐酸替扎尼定片项下制备方法和 HPLC 色谱方法^[3], 对盐酸替扎尼定片进行测定, 结果见表 1。 $^1\text{H-qNMR}$ 法和 HPLC 法测得的量基本一致, 均为盐酸替扎尼定片标示量 (2 mg/片) 的 90.0%~110.0%, 证明 $^1\text{H-qNMR}$ 法可用于盐酸替扎尼定片测定。但 $^1\text{H-qNMR}$ 法仅需 2 min 即可完成测试, 极大缩短了测试时间, 减少了有机溶剂的使用, 且结果准确可靠, 便捷性明显。

表 1 HPLC 法和 $^1\text{H-qNMR}$ 法测定盐酸替扎尼定片中盐酸替扎尼定的结果 ($n=3$)

Table 1 Determination of hydrochloride tizanidine in Hydrochloride Tizanidine Tablets by HPLC and $^1\text{H-qNMR}$ method ($n=3$)

批次	替扎尼定/(mg/片)	
	HPLC 法	$^1\text{H-qNMR}$ 法
20241020	3.98±0.05	4.02±0.07
20241223	4.04±0.09	4.01±0.05
20250203	4.07±0.06	3.98±0.08

3 讨论

3.1 测试溶剂的选择

前期分别考察了 CDCl_3 、 $\text{DMSO-}d_6$ 和 CD_3OD 作为提取溶剂对测定结果的影响, 发现 CDCl_3 测得含量远低于 HPLC 法测得含量, 可能是盐酸替扎尼定在 CDCl_3 中溶解度较差, 影响了提取效率和测定结果。采用 CD_3OD 作为提取溶剂时测得盐酸替扎尼定片含量高于 HPLC 法测得含量, 可能是 CD_3OD 极易挥发, 导致测试结果不准确。 $\text{DMSO-}d_6$ 测得结果与 HPLC 法测得结果非常接近, 且 $^1\text{H-qNMR}$ 图谱上定量峰和内标峰均无其他辅料干扰, 专属性高, 考虑到 $\text{DMSO-}d_6$ 挥发性较低, 价格相对便宜, 故选择 $\text{DMSO-}d_6$ 作为盐酸替扎尼定片供试品溶液制备的提取溶剂。

3.2 盐酸替扎尼定片成分鉴别

取盐酸替扎尼定片粉末, 使用 $\text{DMSO-}d_6$ 提取 (不加马来酸内标), 并测试 $^1\text{H-qNMR}$ 图谱。发现 $^1\text{H-qNMR}$ 图谱共显示 9 个氢质子, 与盐酸替扎尼定分子式 ($\text{C}_9\text{H}_9\text{Cl}_2\text{N}_5\text{S}$) 相符。于溶液中加入 3 滴 D_2O (交换活泼氢质子), 过夜后再次测试 $^1\text{H-qNMR}$ 谱, 发现 $^1\text{H-qNMR}$ 谱中失去 3 个质子峰, 与盐酸替扎尼定结构式中含 3 个活泼氢质子相符, 确定 $\text{DMSO-}d_6$ 从盐酸替扎尼定片中的提取成分为盐酸替扎尼定, 可见 $^1\text{H-qNMR}$ 法也可用于盐酸替扎尼定片定性鉴别。

3.3 $^1\text{H-qNMR}$ 脉冲序列的选择

zg30 和 zg90 是 $^1\text{H-qNMR}$ 法常用的两种脉冲序列^[9-10], 本研究前期分别采用两种脉冲序列对盐酸替扎尼定定量峰 S/N 进行了测定。结果显示, zg30 和 zg90 定量峰 S/N 分别为 1 025.77、1 342.69, 表明 90°脉冲激发的灵敏度要高于 30°脉冲激发 (S/N 越大灵敏度越高), 所以最终使用 zg90 作为 $^1\text{H-}$

qNMR 脉冲序列来测定盐酸替扎尼片, 以确保定量分析的准确度。

3.4 ^1H -qNMR 中心频率 (O1P) 和延迟时间 (D1) 的确定

中心频率 (O1P) 位置对 ^1H -qNMR 测定结果准确度有一定影响, 当 O1P 处于马来酸内标峰和盐酸替扎尼定定量峰正中位置时, 通过相位校正可使内标峰和定量峰同时达到峰形对称状态^[11], 有助于防止峰形变异、减小积分误差。马来酸内标峰和盐酸替扎尼定定量峰化学位移分别位于 δ : 6.20~6.36、7.82~7.92, 以这两个质子峰正中位置为参考, 计算得 ^1H -qNMR 中心频率 δ 值为 7.08。D1 也是影响 ^1H -qNMR 测定结果的关键参数之一^[12], 本研究前期通过翻转恢复实验测得盐酸替扎尼定和马来酸弛豫时间(T1)分别为 1.98、1.44 s。为确保 ^1H -qNMR 测定结果准确性, D1 应大于 5 倍的 T1^[12], 但 D1 过长时会延长 ^1H -qNMR 法测试时间, 因此最终将 ^1H -qNMR 法 D1 设置为 10 s。

采用核磁共振技术可实现盐酸替扎尼定片含量测定, 测试时间短, 而且 ^1H -qNMR 图谱提供的质子峰信息可用于盐酸替扎尼定片定性鉴别, 便捷性优势明显^[13]。 ^1H -qNMR 法测得盐酸替扎尼定片结果与 HPLC 法测得结果一致, 证明 ^1H -qNMR 法可用于盐酸替扎尼定片测定, 极大提高了分析测试效率, 为盐酸替扎尼定片的生产监控、质量标准、药品监控提供了一种可靠、高效的分析方法。本研究建立的 ^1H -qNMR 法也可用于盐酸替扎尼定对照品的标定工作, 提供了一种有力的佐证方法, 具有良好的应用前景。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 赵飞飞, 张君, 李剑峰, 等. 替扎尼定联合利多卡因治疗腰椎术后疼痛综合征的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2024, 39(10): 2656-2660.
- [2] 黄淑伟, 田红杰, 郭志勇, 等. 颈痛颗粒联合替扎尼定治疗神经根型颈椎病的疗效观察 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38(8): 1948-1952.
- [3] 中国药典 [S]. 二部. 2025: 1354-1355.
- [4] 包汝泼, 付玲, 陈诚. 梯度洗脱 HPLC 法测定盐酸替扎尼定片有关物质 [J]. 海峡药学, 2013, 25(8): 65-67.
- [5] 杨娜, 方洁芸, 朱俊麟, 等. 基于核磁共振法对阿立哌唑片定性及定量分析 [J]. 化学研究与应用, 2025, 37(12): 3825-3830.
- [6] 姚佳敏, 孙巍, 熊皓舒, 等. 定量核磁共振技术在中药质量控制中的应用进展 [J]. 中国现代中药, 2024, 26(6): 1099-1110.
- [7] 张媛, 杨泽岸, 孟长虹, 等. 第 3 批缩宫素国家标准品的建立 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(2): 578-582.
- [8] 冯顺丽, 李振东, 王会, 等. 基于核磁共振法对马来酸氟伏沙明片定性及定量分析 [J]. 中国现代应用药学, 2025, 42(13): 2263-2269.
- [9] 刘清毅. 恩镰孢菌素 B 纯度和基体标准物质定值技术研究 [D]. 上海: 中国农业科学院, 2024.
- [10] 姚佳敏, 孙巍, 熊皓舒, 等. 定量核磁共振技术在中药质量控制中的应用进展 [J]. 中国现代中药, 2024, 26(6): 1099-1110.
- [11] 曹伶俐, 刘素梅, 张艳华. 两种核磁共振定量法测定马来酸氟伏沙明片含量 [J]. 化学研究与应用, 2025, 37(7): 2108-2114.
- [12] 李慧玲, 单丽红. 定量核磁共振技术测定注射用丹参多酚酸中咖啡酸、丹参素、原儿茶酸和阿魏酸 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(8): 1686-1690.
- [13] 孙卫, 廖琦, 叱干家助, 等. 替来他明的结构确证和核磁共振定量分析 [J]. 山东化工, 2025, 54(13): 92-96.

[责任编辑 解学星]