

## HPLC法测定唑来膦酸原料药及粉针剂中主成分唑来膦酸

刘钦伟<sup>1,2</sup>, 张敏<sup>3</sup>, 朱汉帅<sup>2</sup>, 闫占宽<sup>1,2</sup>, 张燕<sup>2</sup>, 李军毅<sup>1</sup>, 王维平<sup>3</sup>, 王洪森<sup>1,2\*</sup>

1. 江苏原创药物研发有限公司, 江苏 连云港 222000

2. 江苏恒瑞医药股份有限公司, 江苏 连云港 222000

3. 江苏海洋大学 药学院, 江苏 连云港 222005

**摘要:** 目的 建立测定唑来膦酸原料药及粉针剂中主成分唑来膦酸含量的 HPLC 法。方法 采用 Kromasil 100-5- $C_{18}$  (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m) 色谱柱, 制备 0.2% 的三乙胺溶液、用磷酸调 pH 至 4.0 作为缓冲液, 乙腈-缓冲液 (4:96) 为流动相, 体积流量为 0.8 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>, 检测波长为 215 nm, 柱温为 25  $^{\circ}$ C, 进样量 10  $\mu$ L。结果 唑来膦酸与相邻峰的分离效果良好, 分离度为 3.9, 主成分唑来膦酸在 100.2~1 002.0  $\mu$ g $\cdot$ mL<sup>-1</sup> 线性关系良好,  $R^2$  为 0.998 6, 检测限和定量限分别为 75.2、250.5 ng $\cdot$ mL<sup>-1</sup>, 回收率在 105.2%~111.4%, 重复性试验、中间精密度试验、稳定性、耐用性符合要求。3 批原料药和粉针剂的检测结果显示, 唑来膦酸的质量分数均 $\geq$ 95.0%。**结论** 经方法学验证, 所建立方法灵敏、高效、专属性强、准确度高, 可作为测定唑来膦酸原料药及粉针剂主成分唑来膦酸含量的方法。

**关键词:** 唑来膦酸; 高效液相色谱法; 含量检测; 原料药; 粉针剂**中图分类号:** R932 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2023) 12-2515-05**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.12.002

## Determination of zoledronic acid as main ingredient in zoledronic acid API and powder injection by HPLC

LIU Qinwei<sup>1,2</sup>, ZHANG Min<sup>3</sup>, ZHU Hanshuai<sup>2</sup>, YAN Zhankuan<sup>1,2</sup>, ZHANG Yan<sup>2</sup>, LI Junyi<sup>1</sup>, WANG Weiping<sup>3</sup>, WANG Hongsen<sup>1,2</sup>

1. Jiangsu Hengrui Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222000, China

2. Jiangsu Original Drug R&amp;D Co., Ltd., Lianyungang 222000, China

3. School of Pharmacy, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China

**Abstract:** **Objective** An HPLC method was developed for the simultaneous determination of zoledronic acid in API and powder formulations. **Method** A Kromasil 100-5- $C_{18}$  (250 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m) column was used for the quantitative analysis of the main components. The mobile phase was acetonitrile-triethylamine solution (4 : 96), pH adjusted to 4.0 with phosphoric acid, at a flow rate of 0.8 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>, detection wavelength of 215 nm, column temperature of 25  $^{\circ}$ C and injection volume of 10  $\mu$ L. **Results** The separation of zoledronic acid from the surrounding peaks was good, the degree of separation is 3.9. The linear range of the principal component zoledronic acid was good from 100.2 to 1 002.0  $\mu$ g $\cdot$ mL<sup>-1</sup> with the correlation coefficients  $R^2$  greater than 0.998 6. The limits of detection and limits of quantification of the principal component zoledronic acid were 75.2 and 250.5 ng $\cdot$ mL<sup>-1</sup>, respectively. The recoveries of the main ingredient zoledronic acid were in the range of 105.1%—111.4% and repeatability test, intermediate precision test, stability and durability meet the requirements. The results of the three batches of API and powder injection showed that the content of the main ingredient zoledronic acid was higher than 95%. **Conclusion** The results of the methodological validation showed that the established method was proved to be sensitive, efficient, specific and accurate, and can be used as a method for determining the content of zoledronic acid API and powder injection.

**Key words:** zoledronic acid; high performance liquid chromatography; content determination; API; powder injection**收稿日期:** 2023-09-02**基金项目:** 江苏省产教融合一流课程《药物分析》建设项目; 江苏海洋大学专业学位研究生课程案例库建设项目(YJSZY202102); 江苏海洋大学 2023 年一流课程《药物仪器分析》建设项目; 连云港市政策引导产学研项目(CYX2202)**第一作者:** 刘钦伟(1975—), 男, 硕士, 主要从事药物分析方法开发以及药物质量研究。E-mail: qinwei.liu@hengrui.com**\*通信作者:** 王洪森, 男, 本科, 主要从事化学药合成及质量标准研究, 江苏省产业教授。E-mail: wanghongsen163163@163.com

唑来膦酸是一种含氮杂环双磷酸盐,化学名为1-羟基-2-(1-咪唑)-亚乙基-1,1-二磷酸,结构式见图1,是由瑞士Novartis公司研发,于2000年10月15日首次在加拿大上市,全球第一个批准应用于临床治疗所有晚期恶性肿瘤骨转移的药物,目前已经得到了广泛应用,主要防止骨破坏、抑制骨吸收、增加骨量,有治疗骨质疏松以及辅助治疗骨破坏引起的疼痛作用,降低血钙水平。在临床上,唑来膦酸可单一使用或与其他药物联合使用治疗骨质疏松症、乳腺癌等<sup>[1-4]</sup>,特别是对老年性和女性绝经性骨质疏松有一定的治疗作用<sup>[6-9]</sup>。有研究表明,在骨转移瘤中,唑来膦酸可协同增加放疗的抗肿瘤疗效<sup>[10]</sup>。目前,双膦酸类药物的含量测定方法主要包括:滴定法(酸碱电位滴定法<sup>[11-12]</sup>)、分光光度法(钒钼酸比色法<sup>[13]</sup>)、放射免疫测定(RIA)法<sup>[14]</sup>和高效液相色谱(HPLC)法<sup>[15-16]</sup>。其中,电位滴定法的终点确定方法有二级微商法和两点法,其中二级微商法的数据较多,误差较大,两点法中可能由于溶液性质与终点相差较大,会造成测定误差;RIA法虽有较强选择性,但分析成本过高;其他分析方法专属性低,存在残留物质、中间体或杂质干扰现象。与其他几种方法相比,HPLC法具有专属性强、灵敏度高、操作简便等优点,因此本研究开发了一种快速、简便的HPLC法测定唑来膦酸原料药及粉针剂中主成分唑来膦酸的含量。

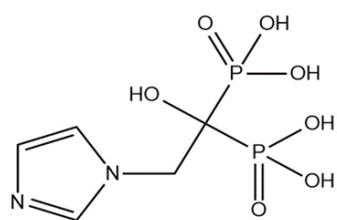


图1 唑来膦酸化学结构

Fig. 1 Zoledronic acid chemical structure formula

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

高效液相色谱仪(岛津 LC-20AT);紫外检测器;MS105DU型十万分之一电子分析天平(Mettler Toledo);pH酸碱度计(Mettler Toledo)。

### 1.2 主要试剂

唑来膦酸原料药(江苏恒瑞医药有限公司,批号 20221001、20221002、20221003);唑来膦酸粉针剂(江苏恒瑞医药有限公司,批号 210215AJ、210323AJ、210530AJ);唑来膦酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号 100778-201702,质量分数

92.7%);乙腈(HPLC级,MackLin,质量分数99.9%);甲醇(HPLC级,Fisher,质量分数99%);甘露醇(AR级,MackLin,质量分数98%);枸橼酸钠(AR级,国药集团);三乙胺(AR纯,MackLin,质量分数99%);磷酸(AR纯,国药集团,质量分数98%)。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:Kromasil 100-5-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-三乙胺缓冲液(4:96),用磷酸调pH至4.0;体积流量:0.8 mL·min<sup>-1</sup>;检测波长:215 nm;柱温:25 °C;进样量:10 μL。

### 2.2 溶液配制

**2.2.1 缓冲液** 精密移取2 mL三乙胺,置于1 000 mL量瓶中,加超纯水至刻度,用磷酸调pH至4.0,作为缓冲液。

**2.2.2 空白溶液(稀释液)** 精密移取2 mL三乙胺,置于1 000 mL量瓶中,加超纯水至刻度,用磷酸调pH至4.0,并用0.22 μm水系滤膜抽滤,作为缓冲液。精密量取缓冲液960 mL,用乙腈定容至1 000 mL,即得空白溶液。

**2.2.3 空白辅料溶液** 取枸橼酸钠约600 mg、甘露醇约5 500 mg,精密称定,置于50 mL量瓶中,加入稀释液溶解稀释并定容至刻度,混匀,制得空白辅料溶液。

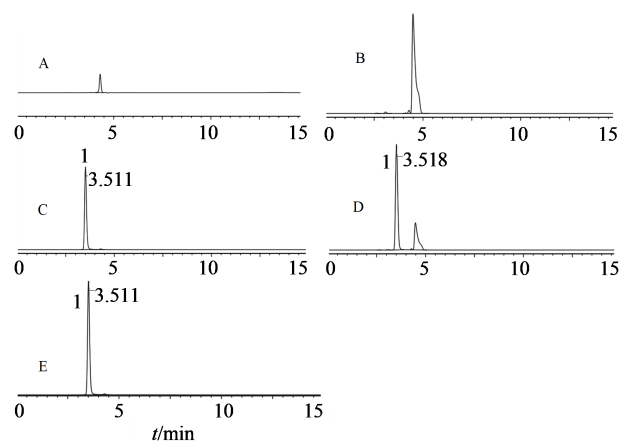
**2.2.4 原料药供试品溶液** 取唑来膦酸原料药约10 mg,精密称定,置于10 mL量瓶中,用空白溶液溶解并稀释制得质量浓度约为1.0 mg·mL<sup>-1</sup>的原料药供试品储备液。再精密量取原料药供试品储备液5 mL,置于10 mL量瓶中,稀释液稀释并定容至刻度,摇匀,即制得质量浓度为500 μg·mL<sup>-1</sup>的原料药供试品溶液。

**2.2.5 粉针剂供试品溶液** 取唑来膦酸冻干粉一支,精密加入4 mL空白溶液,制得质量浓度约为1.0 mg·mL<sup>-1</sup>的粉针剂供试品储备液。再精密量取2 mL粉针剂供试品储备液,精密加入2 mL稀释液,混匀,制得唑来膦酸质量浓度为500 μg·mL<sup>-1</sup>的粉针剂供试品溶液。

**2.2.6 对照品溶液** 取唑来膦酸对照品约20 mg,精密称定,置于20 mL量瓶中,用空白溶液溶解并稀释制得质量浓度约为1.0 mg·mL<sup>-1</sup>的对照品储备液。再精密量取5 mL对照品储备液于10 mL量瓶中,稀释液稀释并定容至刻度,摇匀,即制得质量浓度为500 μg·mL<sup>-1</sup>对照品溶液。

### 2.3 专属性试验

取“2.2”项中的空白溶液、空白辅料溶液、对照品溶液、供试品溶液,按“2.1”项下的色谱条件进行检测,记录色谱图。空白溶液与对照品溶液色谱图见图2。结果表明主成分唑来膦酸与相邻峰的分度为3.9。



A-空白溶液; B-空白辅料溶液; C-原料药供试品溶液; D-粉针剂供试品溶液; E-对照品溶液; 1-唑来膦酸

A-blank solution; B-blank cofactor solution; C-API test solution test solution; D-powdered test solution; E-reference solutions; 1-zoledronic acid

图2 专属性色谱图

Fig. 2 Proprietary chromatograms

### 2.4 检测限(LOD)和定量限(LOQ)检测

取“2.2”项下对照品溶液逐级稀释,按照“2.1”项中的色谱条件进行检测,当信噪比( $S/N$ )不小于3确定LOD;当 $S/N$ 不小于10,且重复6次进样主成分唑来膦酸保留时间的RSD $\leq 2.0\%$ ,峰面积的RSD $\leq 10\%$ ,确定此浓度为LOQ。主成分唑来膦酸的LOD为 $75.2 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,LOQ为 $250.5 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,连续进样6针峰面积的RSD为8.6%,保留时间的RSD为0.5%,上述结果表明本法灵敏度好。

### 2.5 线性关系考察

依据有关物质的限度,将“2.2”项下对照品储备液稀释至20%、50%、100%、150%、200%,按照“2.1”项下色谱条件进行检测,得到线性方程 $y=8\,092.7x-94\,447$ ,计算相关系数 $R^2=0.998\,6$ ,线性范围为 $100.2 \sim 1\,002.0 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。结果表明,主成分在线性范围内线性关系良好,符合验证要求。

### 2.6 重复性试验

按照“2.2”项下方法平行制备6份唑来膦酸原料药供试品溶液和6份唑来膦酸粉针剂供试品溶液,进样分析,记录色谱图,计算唑来膦酸主成分的峰面积,唑来膦酸原料药和粉针剂主成分峰面积

RSD分别为0.1%和0.3%,表明本方法重复性良好。

### 2.7 中间精密度试验

由不同人员,在不同时间,取同一批样品,按照“2.2”项下方法平行制备6份唑来膦酸原料药供试品溶液和6份唑来膦酸粉针剂供试品溶液,作为中间精密度溶液。进样分析,记录色谱图,计算唑来膦酸主成分的峰面积。唑来膦酸原料药和粉针剂主成分中间精密度峰面积RSD分别为0.48%和0.3%,表明本方法中间精密度良好。

### 2.8 回收率试验

分别精密称取9份唑来膦酸粉针剂供试品,置于10 mL量瓶中,分别精密量取2.5 mL空白辅料溶液和唑来膦酸对照品储备液各2.5、5.0、7.5 mL置于上述量瓶中,用稀释液稀释定容至刻度,作为50%(3份)、100%(3份)和150%(3份)浓度水平的溶液,按照“2.1”项下色谱条件进行检测,计算回收率。唑来膦酸在不同浓度下平均回收率为108.3%,RSD为0.3%,表明该方法具有良好的准确度。

### 2.9 溶液稳定性

按照“2.2”项方法配制溶液,将对照品溶液、唑来膦酸原料药供试品溶液和唑来膦酸粉针剂供试品溶液分别于室温下放置0、1、3、7、12 h后进样,计算唑来膦酸的色谱峰面积的RSD。唑来膦酸对照品溶液唑来膦酸峰面积RSD为1.3%;唑来膦酸供试品溶液原料药和粉针剂峰面积RSD分别为1.1%和1.3%,表明唑来膦酸在12 h内稳定。

### 2.10 耐用性

对色谱系统进行少量变动,以考察测定结果不受影响的承受程度。按照“2.2”项方法配制溶液,将唑来膦酸原料药供试品溶液和粉针剂供试品溶液分别在柱温变化( $\pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$ )、体积流量变化( $\pm 0.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ )、波长变化( $\pm 2 \text{ nm}$ )、流动相pH变化( $\pm 0.2$ )、三乙胺浓度变化( $\pm 0.02\%$ )、乙腈浓度变化( $\pm 0.05\%$ )不同条件下进行检测。结果显示,不同条件下测定的唑来膦酸原料药供试品溶液的唑来膦酸含量RSD为0.15%,唑来膦酸粉针剂供试品溶液的唑来膦酸含量RSD为0.11%,符合验证要求,耐用性良好。

### 2.11 样品含量测定

取3批唑来膦酸原料药和3批唑来膦酸粉针剂,按照“2.2”项方法,每批样品平行配制2份供试品溶液,按“2.1”项中的色谱条件进行检测,每份测定2次,按外标法计算原料药的质量分数,主成分唑来膦酸的质量分数均高于95.0%。结果见表1。



表1 唑来膦酸原料药及粉针剂中唑来膦酸测定结果  
Table 1 Determination of zoledronic acid content in APIs and powdered formulations

| 待测物 | 样品批号     | 质量浓度/<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) | 质量分数/% |
|-----|----------|-----------------------------------------------|--------|
| 原料药 | 20221001 | 500.45                                        | 99.9   |
|     |          | 501.05                                        | 99.8   |
|     |          | 501.20                                        | 99.8   |
|     |          | 501.76                                        | 99.7   |
|     | 20221002 | 521.00                                        | 96.0   |
|     |          | 520.18                                        | 96.1   |
|     |          | 502.31                                        | 99.6   |
|     |          | 501.00                                        | 99.8   |
|     | 20221003 | 519.91                                        | 96.2   |
|     |          | 520.51                                        | 96.1   |
|     |          | 520.67                                        | 96.0   |
|     |          | 520.89                                        | 95.0   |
| 粉针剂 | 210215AJ | 468.25                                        | 106.8  |
|     |          | 470.99                                        | 106.2  |
|     |          | 472.01                                        | 105.9  |
|     |          | 477.51                                        | 104.7  |
|     | 210323AJ | 476.64                                        | 104.9  |
|     |          | 476.91                                        | 104.8  |
|     |          | 426.05                                        | 105.0  |
|     |          | 476.42                                        | 105.0  |
|     | 210530AJ | 475.74                                        | 105.1  |
|     |          | 476.10                                        | 105.0  |
|     |          | 476.46                                        | 104.9  |
|     |          | 475.92                                        | 105.1  |

### 3 讨论

#### 3.1 色谱柱的选择

本实验分别考察了 Agilent ZORBAX Eclipse XDB 柱(150 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、喆分 Supfex ZY-C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )和 Kromasil 100-5-C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )。结果分析比较发现,采用 Agilent ZORBAX Eclipse XDB 柱时,唑来膦酸主峰峰形不佳;采用喆分 Supfex ZY-C<sub>18</sub> 柱时,唑来膦酸峰和乙腈峰不能完全分离;采用 Kromasil 100-5-C<sub>18</sub> 柱时,出峰形状较好,峰形对称,柱效较高。因此选择 Kromasil 100-5-C<sub>18</sub> 柱作为此分析方法的色谱柱。

#### 3.2 流动相 pH 的选择

唑来膦酸在酸性条件较稳定,故考察流动相中 pH 值对唑来膦酸主峰的影响,以进一步优化色谱条件。以水为流动相时,发现主峰峰形严重不好。用

磷酸将 pH 值调至 3.0~5.5,当 pH 为 3.0 时,唑来膦酸峰和溶剂峰有重合,不能完全分离。当 pH 为 5.5 时,唑来膦酸峰保留时间延长。当用磷酸调节 pH 为 4.0 时,保留时间比 pH 为 5.5 时明显缩短,其原理是在反相系统中,碱性样品在 pH 较低的环境,更倾向离子化,其与反相柱的固定相结合较差,保留时间因此缩短。结果表明,不同的 pH 值对唑来膦酸保留时间有较大影响,保留时间随 pH 缩小而不断提前。

#### 3.3 样品含量

针对在“2.11”项样品含量测定中原料药 20221003 批次质量分数偏低,唑来膦酸在操作过程应该避免光照,可能由于在配制这一批次溶液过程中被光照,原料药在光照下分解,使得药物活性下降,导致质量分数偏低。粉针剂质量分数超过 100%,推测可能由于在称量转移过程中,粉针剂辅料吸湿导致。

### 4 结论

本研究建立了一种同时测定 3 批唑来膦酸原料药及粉针剂中主成分唑来膦酸含量的 HPLC 法,并进行了方法学验证,表明该方法专属性强、准确性高、灵敏度高,此外操作简单,具有一定的使用价值,可准确测定 3 批唑来膦酸原料药及粉针剂中主成分唑来膦酸的含量。本实验主要针对色谱条件中流动相配制进行调整,确定流动相比比例以及流动相 pH,使得唑来膦酸峰保留时间提前,精密度 RSD 更小,精密度更高,缩短了分析时间,提高了工作效率,满足本品质量研究要求,为药品质量控制提供了可靠的依据。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 刘颖, 马风云. 阿仑膦酸钠及唑来膦酸治疗原发性骨质疏松症患者的临床疗效研究 [J]. 河北医学, 2016, 22(1): 25-29.  
Liu Y, Ma F Y. Clinical efficacy study of alendronate sodium and zoledronic acid in the treatment of patients with primary osteoporosis [J]. Hebei Med, 2016, 22(1): 25-29.
- [2] 任华, 张之梁, 蔡伟. 唑来膦酸联合碳酸钙 D3 治疗糖尿病性骨质疏松症的疗效及其对患者骨密度和骨代谢指标的影响 [J]. 河北医学, 2020, 26(1): 45-50.  
Ren H, Zhang Z L, Cai W. Efficacy of zoledronic acid combined with calcium carbonate D3 in the treatment of diabetic osteoporosis and its effects on patients' bone

- mineral density and bone metabolic indexes [J]. Hebei Med, 2020, 26(1): 45-50.
- [3] 王绪麟, 刘新梅, 王丽华. 唑来膦酸联合依西美坦治疗激素受体阳性老年乳腺癌的疗效及安全性研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2023, 33(5): 23-28.
- Wang X L, Liu X M, Wang L H. Efficacy and safety study of zoledronic acid combined with exemestane in the treatment of hormone receptor-positive elderly breast cancer [J]. Chin J Mod Med, 2023, 33(5): 23-28.
- [4] 何新梅, 刘媛媛. 唑来膦酸治疗乳腺癌骨转移的相关研究进展 [J]. 广东化工, 2022, 49(8): 109-110.
- He X M, Liu Y Y. Research progress related to zoledronic acid in the treatment of bone metastases from breast cancer [J]. Guangd Chem Ind, 2022, 49(8): 109-110.
- [5] 魏志浩. 虎潜丸联合唑来膦酸治疗老年骨质疏松症的应用观察 [D]. 安徽中医药大学, 2020.
- Kui Z H. The application of Hu Qian Wan combined with zoledronic acid in the treatment of osteoporosis in the elderly [D]. Anhui Univ Tradit Chin Med, 2020.
- [6] 郭冰凌, 李法琦. 密固达在老年骨质疏松治疗中的安全观察 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(7): 820-823.
- Guo B L, Li F Q. Safety observation of MIGUDA in the treatment of osteoporosis in the elderly [J]. Chin J Osteop, 2014, 20(7): 820-823.
- [7] 寿张轩, 边平达, 金雪, 等. 唑来膦酸对高龄女性骨质疏松症患者骨密度和血清骨转换标志物的影响 [J]. 中国新药与临床杂志, 2017, 36(8): 497-500.
- Shou Z X, Bian P D, Jin X. Effects of zoledronic acid on bone mineral density and serum bone turnover markers in elderly women with osteoporosis [J]. Chin J New Drugs Clin, 2017, 36(8): 497-500.
- [8] 钱素凤, 王珏, 边平达, 等. 骨转换标志物在老年女性骨质疏松症患者静脉滴注唑来膦酸后骨密度变化预测中的价值 [J]. 中国新药与临床杂志, 2019, 38(5): 295-298.
- Qian S F, Wang J, Bian P D. Value of bone turnover markers in predicting bone mineral density changes after intravenous zoledronic acid infusion in elderly women with osteoporosis [J]. Chin J New Drugs Clin, 2019, 38(5): 295-298.
- [9] 李欣晓, 梁仁拔, 黄静, 等. 唑来膦酸联合放疗在恶性肿瘤骨转移治疗中研究进展 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2018, 32(2): 188-190.
- Li X X, Liang R B, Huang J, et al. Research progress of zoledronic acid combined with radiotherapy in the treatment of malignant tumor bone metastases [J]. Chin J Pract Diag Ther, 2018, 32(2): 188-190.
- [10] 方洪壮, 孙长海. 依替膦酸钠的电位滴定 [J]. 中国医药工业杂志, 1998, 29(4): 174-176.
- Fang H Z, Sun C H. Potentiometric titration of etidronate [J]. China J Pharm Ind, 1998, 29(4): 174-176.
- [11] 蒋晔, 张晓青, 徐智儒, 等. 唑来膦酸的电位滴定法测定 [J]. 中国医药工业杂志, 2005, (1): 41-42.
- Jiang Y, Zhang X Q, Xu Z R. Determination of zoledronic acid by potentiometric titration [J]. China J Pharm Ind, 2005, (1): 41-42.
- [12] 张彦凯, 樊淑彦, 赫立恩, 等. 分光光度法测定阿仑膦酸钠片剂含量 [J]. 分析化学, 2000(9): 1181.
- Zhang Y K, Fan S Y, He L E, et al. Determination of alendronate sodium tablets by spectrophotometric method [J]. Analyt Chem, 2000(9): 1181.
- [13] Francois L, Sonia G, Fabienne D, et al. Development and validation of a highly sensitive RIA for zoledronic acid, a new potent heterocyclic bisphosphonate, in human serum, plasma and urine [J]. J Pharm Biomed Anal, 2002, 30(Suppl 4): S897-S911.
- [14] 袁园. 唑来膦酸含量测定及有关物质的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- Yuan Y. Determination of zoledronic acid content and study of related substances [D]. Changchun: Jilin University, 2017.
- [15] 张岩, 范巍巍. 高效液相色谱法测定唑来膦酸粉针剂含量 [J]. 科技创新导报, 2015, 12(11): 90.
- Zhang Y, Fan W W. Determination of zoledronic acid powder injection by high performance liquid chromatography [J]. Sci Technol Innov Her, 2015, 12(11): 90.
- [16] 姚曦. HPLC法测定唑来膦酸原料药中的有关物质 [J]. 今日药学, 2019, 29(4): 231-233.
- Yao X. Determination of relevant substances in zoledronic acid API by HPLC [J]. Pharm Tod, 2019, 29(4): 231-233.

[责任编辑 兰新新]