

Atorvastatin Kalsiyumun Valide Edilmiş HPLC Metodu ile Tablet Formundan Analizi

Şerife Hande Temir, Bedia Koçyiğit Kaymakçıoğlu

¹Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, İstanbul - Türkiye

Yazışma Adresi / Address reprint requests to: Bedia Koçyiğit Kaymakçıoğlu
Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı Haydarpaşa Yerleşkesi, İstanbul - Türkiye
Elektronik posta adresi / E-mail address: bkaymakcioglu@marmara.edu.tr
Kabul tarihi / Date of acceptance: 2 Ekim 2013 / October 2, 2013

ÖZET

Atorvastatin kalsiyumun valide edilmiş HPLC metodu ile tablet formundan analizi

Amaç: Atorvastatin kandaki kolesterolü düşürmek için kullanılan statin olarak bilinen ilaç sınıfının bir üyesidir. Atorvastatinin miktar tayini ve safsızlık analizleri için literatürlerde genellikle HPLC ile kombine edilmiş UV veya kütle dedektör sisteminin kullanıldığı yöntemler yer almaktadır. Bu yöntemlerde genellikle kromatografik ayırımın gradient bir metot ve tampon sistemi içeren bir mobil faz kullanılarak sağlandığı göze çarpmaktadır. Bu çalışmada atorvastatinin miktar tayini için diklofenak sodyumun internal standard olarak kullanıldığı ters faz sıvı kromatografisinde isokrotik bir metot geliştirilmiştir.

Yöntem: Ters faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi kullanılarak asetonitril ve % 0.01 ortofosforik asit (67:33 h/h) mobil fazı ile C₁₈ kolonda isokrotik bir ayırım gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Atorvastatine ait alıkonma zamanı 3.770±0.200 dakika, internal standart olan diklofenaka ait alıkonma zamanı 5.266±0.200 dakikadır. Basit bir mobil faz kullanılarak metot optimize edilmiş; doğruluk, kesinlik, doğruluk ve LOD-LOQ validasyon parametreleri açısından valide edilmiştir.

Sonuç: Geliştirilen bu basit, hassas, duyarlı ve kesin yöntem atorvastatin kalsiyum için rutin analizlerde kullanılabilir.

Anahtar sözcükler: Atorvastatin kalsiyum, tablet, HPLC, validasyon

ABSTRACT

A validated HPLC method for analysis of atorvastatin calcium in tablet dosage forms

Objective: Atorvastatin is a member of the drug class known as statins, used for lowering blood cholesterol. Literature for the assay and impurity analysis of atorvastatin is usually combined with HPLC methods using UV or mass detection system.

These methods are usually a gradient chromatographic separation method and a mobile phase containing buffer system using the provided stand out. In this study, an isocratic method was developed for which diclofenac sodium is used as internal standard for the determination of atorvastatin.

Method: The separation was carried out on C₁₈ column using acetonitril and orthophosphoric acid (0.01%) (67:33 v/v) with isocratic separation using reversed phase high performance liquid chromatography.

Results: The retention times of atorvastatin calcium is 3.770±0.200 min and internal standard diclofenac sodium is 5.266±0.200 min. The method was optimized using a simple mobile phase; validation parameters such as linearity, accuracy, precision and LOD-LOQ were validated in terms. .

Conclusion: The developed method is simple, sensitive and precise. The developed method can be used as a routine analysis for atorvastatin calcium.

Key words: Atorvastatin calcium, tablet, HPLC, validation

GİRİŞ

Lipit düşürücü ilaçlar grubu olan statinler (veya HMG-KoA redüktaz inhibitörleri) yüksek kan kolesterol düzeylerinden dolayı kardiyovasküler hastalık riski taşıyan kişilerde kolesterolü düşürmek için kullanılırlar. Atorvastatin, statin grubu bir antihiperlipidemik ilaç olup, 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim a (HMG-KoA) redüktaz enziminin

selektif kompetitif inhibitörüdür. Bu gruptaki ilaçlardan farklı olarak hiperkolesterolemisi olan hastalarda yükselmiş LDL kolesterolü ve trigliserit düzeylerinin her ikisini birden düşürme endikasyonuna sahip tek ilaçtır (1-3).

Atorvastatinin miktar tayini ve safsızlık analizleri için literatürlerde genellikle yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile kombine edilmiş UV veya kütle dedektör sisteminin kullanıldığı yöntemler yer almaktadır (4).

Ertürk ve ark. (5) tarafından HPLC metodu kullanılarak atorvastatinin toz ürün ve tabletlerdeki bozunma ürünleri için bir yöntem geliştirilmiştir. Kullanılan metot ile atorvastatin, desfloro-atorvastatin, diastereomer atorvastatin, bilinmeyen safsızlık ve yardımcı maddeler birbirlerinden ayrılmışlardır. Metanol, asetonitril ve su ya da değişik pH değerleri kullanarak gradient bir ayırım gerçekleştirilmiştir. En iyi ayırım Luna C₁₈ kolonu kullanılarak asetonitril, amonyum fosfat pH:4 tamponu ve tetrahidrofuran içeren mobil faz ile gerçekleştirilmiştir. Akış hızı 1.0 ml/dakika ve dalga boyu 248 nm'ye ayarlanmıştır.

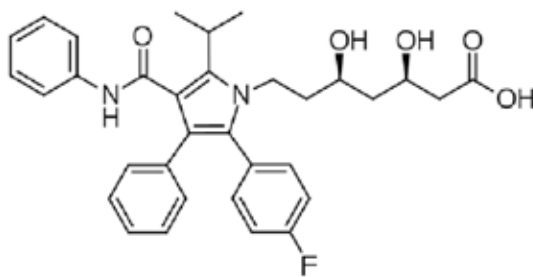
Vijayamirharaj ve ark. (6) tarafından atorvastatin kalsiyumun, telmisartan içeren ikili kombinasyon tablet dozaj şekillerinden analizi için bir HPLC-UV metodu geliştirmiş ve valide etmiştir. Analitik ayırım Phenomenex C₁₈ 250×4.6mm,5µm kolon ile gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak ACN:0.01 M potasyum dihidrojen fosfat pH:4 tamponu kullanılmış, akış hızı 2.5 ml/dakikaya ve dalga boyu da 250 nm'ye ayarlanmıştır. Geliştirilen metotta atorvastatin kalsiyum için doğrusallık çalışmaları 86-130 µg/ml aralığında 6 farklı konsantrasyon için yapılmış ve regresyon katsayısı 0.9999 olarak tespit edilmiştir.

Kracun ve ark. (7) tarafından atorvastatine ait oksidatif bozunma ürünleri, yapısal kararlılıkları ve izolasyonuna ait bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada atorvastatinin dört oksidatif bozunma ürününün izolasyonu için bir metot geliştirilmiştir. ATV-FX1 (4-(1b-4-floro-fenil)-6-hidroksi-6-isopropil-1a-fenil-6a-fenilkarbomoil-hekzahidro-1,2-dioksa-5a-aza-siklopropa(a)inden-3-il-3-(R)-hidroksibutirik asit) atorvastatinin alkali asetonitrilli çözeltisinin içine hidrojen peroksit ilavesiyle hazırlanmıştır. Güneş ışığında birkaç saat atorvastatinin sulu asetonitrilli çözeltisinin pH:8-9

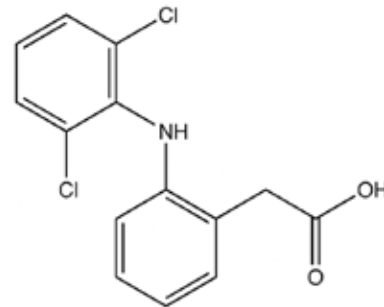
olan potasyum hidroksit ile alkalizasyonu sonucu ATV-FXA (4-[6-(4-florofenil)-6-hidroksi-1b-izopropil-6a-fenil-1a-fenilkarbomoil-hekzahidro-1,2-dioksa-5a-aza-siklopropan(a)-inden-3-il]-3-(R)-hidroksibutirik asit) oluşmuştur. Fosforik asit ile gerçekleştirilen asitifikasyonu sonucu FXA1 ve FXA2 (3-(4-florobenzoil)-2-izobutiril-3-feniloksin-2-karboksilik asit fenilamid ve 4-(4-florofenil)-2,4-dihidroksi-2-izopropil-5-fenil-3,6-dioksa-bisiklo[3.1.0]hekzan-1-karboksilik asit fenilamid) hazırlanmıştır. İzole edilmiş oksidatif bozunma ürünlerinin analizi ters faz kromatografik şartlarda XBridge Shield RP 18 150×4.6mm, 3.5µm kolon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Akış hızı 2.0 ml/dakika ve dalga boyu 248 nm'ye ayarlanmıştır. Amonyum asetat (pH:4) tamponu ve asetonitril içeren mobil faz ile gradient bir ayırım gerçekleştirilmiştir.

Mohammadi ve ark. (8) yapılan başka bir stabilite çalışmasında ise ayırım, mobil faz olarak (55:45 h/h) asetonitril-0.025 M NaH₂PO₄ tamponu (pH:4.5) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Akış hızı dakikada 1 ml olacak şekilde ayarlanmış ve UV dedektör için dalga boyu 273 nm olarak seçilmiştir. Önerilen metodun atorvastatin için doğrusallığı 2-30 µg/ml aralığında tespit edilmiş ve dedekte edilebilir alt sınır (LOD) 0.65 µg/ml, tayin edilebilir alt sınır ise (LOQ) 2 µg/ml olarak bulunmuştur.

Atorvastatinin biyolojik sıvılardan miktar tayini içinde çeşitli kromatografik yöntemler geliştirilmiştir. Literatürlerde bu yöntemlerin büyük bir kısmının HPLC ile kombine edilmiş UV veya kütle dedektör sisteminin (MS) kullanıldığı yöntemler olduğu göze çarpmaktadır. Liu ve ark. (9), Farhani ve ark. (10), Bahrami ve ark. (11) insan plazmasından atorvastatinin analizi için UV dedektörün kullanıldığı bir HPLC metodu geliştirmişlerdir. Novakova ve ark. tarafından



Atorvastatin



Diklofenak (Internal standard)

Figure 1: Atorvastatin ve diklofenak'ın kimyasal formülleri

ise atorvastatinin biyolojik sınırlarda miktar tayini için bir UPLC/MS metodu geliştirilmiştir (12). Bir başka çalışmada da (13) atorvastatin ve metabolitleri olan orthohidroksi (o-AT) ve para-hidroksi (p-AT) atorvastatinin HPLC/MS-MS ile insan, köpek ve fare plazmasında analizi için bir metod geliştirilmiş ve valide edilmiştir.

Mazurek ve ark. (14) tarafından atorvastatin kalsiyum tablet içerisindeki atorvastatini belirlemek için FT-Raman spektroskopisi kullanılarak bir metod geliştirilmiştir. Bir başka analitik yöntemde ise Guihen ve ark. (15) tarafından atorvastatin kalsiyum için kapiler elektroforez ve mikroçip elektroforez kullanılarak hızlı bir analiz yöntemi geliştirilmiştir.

Literatürlerde atorvastatinin miktar tayini ve safsızlıklarının analizleri için kromatografik ayırım genellikle tampon çözeltilerinin kullanıldığı gradient bir metod kullanılarak sağlanmıştır. Bu çalışmada, diklofenak sodyum internal standart olarak kullanılarak isokratik bir ayırım ile atorvastatin kalsiyumun analizinin yapılması amaçlanmıştır. Bu yöntem ile atorvastatinin tablet formundan miktar tayini yapılması da planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışma standartları olan atorvastatin kalsiyum ve diklofenak sodyum Abdi İbrahim İlaç Sanayi ve Anonim Şirketten temin edilmiştir. Fosforik Asit, asetonitril ve metanol analitik saflıkta olup, Merck firmasından temin edilmiştir. Ator 20 mg film tablet (Sanovel İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.) yerel bir eczaneden satın alınarak temin edilmiştir.

HPLC Sistemi ve Kromatografik Koşullar

Kromatografik ayırım ters faz yüksek basınçlı sıvı kromatografisi tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizde üzerinde G1315B model diode-array dedektör, G1311A model pompa, G1316A model kolon ısıtıcısı ve G1379A model gaz giderici taşıyan Agilent 1100 serisi HPLC cihazı kullanılmıştır. Ayırım için Kromosil C₁₈ (250×4.6mm, 5µm) kolonu kullanılmıştır. Mobil faz olarak asetonitril ve %0.01'lik fosforik asit (67:33 h/h) (pH: 4.6) kullanılarak isokratik bir ayırım gerçekleştirilmiştir. Akış hızı 1.5 ml/dakika ve dalga boyu 246 nm'ye ayarlanmıştır.

Miktar Tayininde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

%0.01 'lik Orto Fosforik Asit Hazırlanması: 0.6 ml %85'lik orto fosforik asit alınarak 500 ml'ye deiyonize su ile tamamlanır. İyice karıştırıldıktan sonra 0.2 µm'lik filtreden süzülür ve degaze edilir.

Stok Standart Hazırlanması: 11 mg atorvastatin kalsiyum trihidrat çalışma standardı 100 ml'lik balon jöjeye alınıp, 10 ml metanol, 40 ml aseton ilave edilip 2-3 dk ultrasonik banyoda bekletilir. Daha sonra hacim deiyonize su ile tamamlanır. 0.20 µm'lik filtreden süzülüp, sisteme enjekte edilir.

Standart Çözeltisi Hazırlanışı: Stok standart çözeltisinde 20 µl alınıp 1 ml'ye metanol ile tamamlanır.

İnternal Standart Hazırlanması: 7.5 mg diklofenak sodyum çalışma standardı olarak tartılıp, 7.5 ml metanolde çözülür (Konsantrasyon: 1mg/ml).

Blank (Kör) Hazırlanması: 400µl Aseton, 100µl metanol ve 500µl su karıştırılıp, bu çözeltiden 20µl alınıp 1 ml'ye metanol ile tamamlanır.

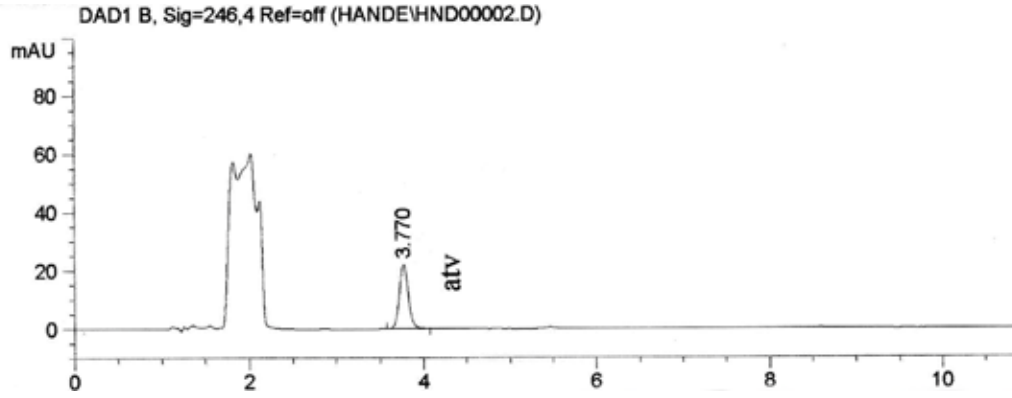
Metot Validasyonu

Dokuz farklı konsantrasyonda standart numunesi hazırlanmıştır. Konsantrasyonlar sırasıyla 0.5-1-2-4-10-15-20-25-30 µg/ml olarak seçilmiştir. Bu 9 farklı konsantrasyonlar ile bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve seçilen 3 konsantrasyon üzerinden (1-10-25 µg/ml) doğruluk, kesinlik, dedekte edilebilir alt sınır limiti (LOD, sinyal/gürültü=3) ve tayin edilebilir alt sınır limiti (LOQ, sinyal/gürültü=10) validasyon parametreleri incelenmiştir.

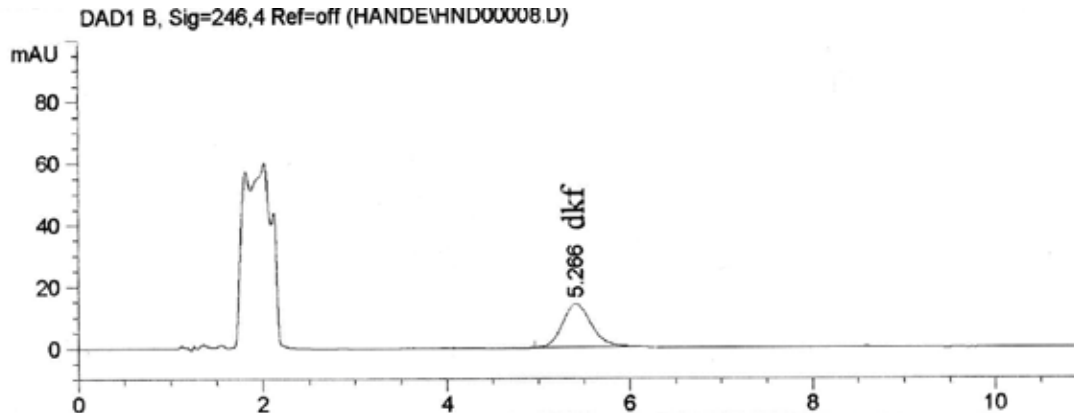
Tanımlayıcı istatistiksel analiz (% Relatif Standard Sapma (RSS), korelasyon katsayısı ve ortalama ± S) Microsoft Office Excel programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Tablet Numunesinin Hazırlanışı

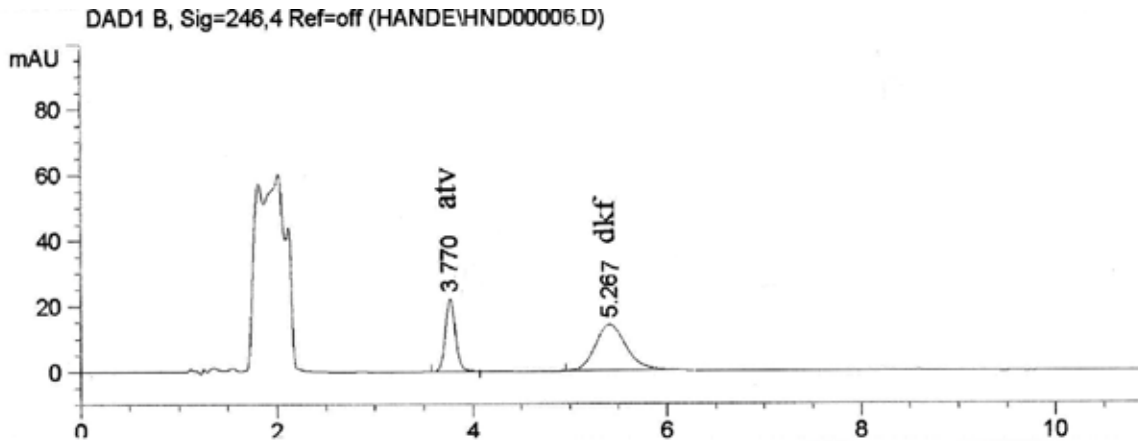
On adet film kaplı tablet tartılmış ve iyice ezilerek toz edilmiştir. Yaklaşık bir tablet ağırlığı toz karışım tartılarak 100 ml'lik balon jöjeye alınmıştır. 10 ml metanol, 40 ml aseton eklenerek 450 rpm'de 60 dakika karıştırılıp, hacmine aynı çözücü ile tamamlanmıştır. Bu çözeltiden 2 ml alınıp, 10 ml'ye seyreltilmiştir. 0.20 µm'lik naylon şırınga filtreden (N66) süzülüp, sisteme enjekte edilmiştir.



Şekil 1: Atorvastatin kalsiyuma ait kromatogram (atv: atorvastatin, 10 µg/ml)



Şekil 2: Diklofenak sodyuma ait kromatogram (dkf: diklofenak sodyum, 20 µg/ml)



Şekil 3: Atorvastatin kalsiyum ve diklofenak sodyuma ait standart kromatogram (atv: atorvastatin, 10 µg/ml; dkf: diklofenak sodyum, 20 µg/ml)

BULGULAR

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi metodu kullanılarak atorvastatinin hammadde ve tabletteki miktar tayini

analizi için bir yöntem geliştirilmiştir. Kullanılan metot ile atorvastatin ve yöntemde kullanılan iç standart birbirlerinden ayrılmışlardır. Asetonitril ve 0.1'lik fosforik asit (67:33 h/h) mobil fazı (pH: 4.6) ve kromosil C₁₈ (250×4.6mm, 5µm)

Tablo 1: Geliştirilen metot için gün içi ve günler arası kesinlik sonuçları

Örnek	Eklene miktar ($\mu\text{g/ml}$)	Sonuç (Ortalama \pm S.S.)	%RSS
Atorvastatin Kalsiyum	1	99.4 \pm 0.2	0.66
Gün içi (n=6)	10	99.7 \pm 0.004	0.16
	25	99.5 \pm 0.03	0.55
Atorvastatin Kalsiyum	1	99.1 \pm 0.15	0.86
Günler arası (n=6)	10	99.4 \pm 0.01	0.65
	25	99.2 \pm 0.73	0.52

n: Analiz sayısı

S.S.: Standart Sapma Değeri

RSS: Relatif Standart Sapma Değeri

Tablo 2: Atorvastatinin limit değerleri

Örnek	LOQ ($\mu\text{g/ml}$)	LOD ($\mu\text{g/ml}$)
Atorvastatin	0.500 \pm 0.010	0.125 \pm 0.010

LOQ: Tayin edilebilir alt limit

LOD: Dedekte edilebilir alt limit

Tablo 3: Doğruluk çalışması sonuçları (% geri kazanım)

	% 40	% 100 Pik Alanları	% 150
	4 $\mu\text{g/ml}$	10 $\mu\text{g/ml}$	15 $\mu\text{g/ml}$
Numune-1	9.72	23.6	35.1
Numune-2	9.62	23.8	35.4
Numune-3	9.70	23.4	35.6
Ortalama	9.68	23.6	35.4
% RSS	0.55	0.85	0.71
% Geri Kazanım	40.81	99.5	149.25

kolonu kullanılarak isokrotik bir ayırım gerçekleştirilmiştir. Akış hızı 1.5 ml/dakika ve dalga boyu 246 nm'ye ayarlanmıştır. Taze hazırlanmış stok çözeltileri kullanılarak kromatografik yöntemin etkinliği ve sistem uygunluk parametreleri tespit edilmiştir. Atorvastatin kalsiyum ve diklofenak sodyum için kuyruklanma faktörü 1'den küçük, ayırım faktörü 2'den büyük ve kapasite faktörü 2.50 olarak tayin edilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda atorvastatin kalsiyum pikinin alıkonma zamanı 3.770 \pm 0.200 dakika (Şekil 1), internal standart olarak kullanılan diklofenak sodyumun alıkonma zamanı ise 5.266 \pm 0.200 dakika (Şekil 2) olarak tespit edilmiştir. Atorvastatin kalsiyum ve diklofenak sodyum pikleri birbirinden düzgün olarak ayrılmıştır (Şekil 3).

Başlangıçta 9 farklı konsantrasyon (0.5-1-2-4-10-15-20-25-30 $\mu\text{g/ml}$) kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Doğrusallık çalışmaları atorvastatin için 0.5-30 $\mu\text{g/ml}$ arasında yapılmış olup, doğru denklemi $y= 24.443x-4.6604$ olarak saptanmıştır. Korelasyon katsayısı r^2 0.99908 olarak bulunmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinden 3 konsantrasyon

Tablo 4: 20 mg Atorvastatin kalsiyum ihtiva eden bir tablet içerisindeki atorvastatin miktarı

	Metot Kesinliği	Miktar Tayini Sonucu Bulunan Değer
	Ortalama	% RSS
Atorvastatin 20 mg tablet	% 99.7	0.15 19.94

seçilip (1-10-25 $\mu\text{g/ml}$) gün içi ve günler arası altışar enjeksiyon yapılmış ve kesinlik belirlenmiştir (Tablo 1). Tablo 2'de ise atorvastatin için dedekte edilebilir alt sınır limiti (LOD, S/N=3) ve tayin edilebilir alt sınır limiti (LOQ, S/N=10) tespit edilmiş olup limit değerleri sunulmuştur. Tablo 3'de doğruluk parametresinin (% geri kazanım) sonuçları sunulmuştur.

Geliştirilen ve valide edilen miktar tayini yöntemi kullanılarak 20 mg atorvastatin ihtiva eden tablet içerisindeki atorvastatin miktarı tayin edilmiştir. 20 mg atorvastatin içeren bir tabletin analizi sonucu hesaplanan relatif standart sapma değeri ve miktar tayini sonucu Tablo 4'de gösterilmiştir. Bir tablette 19.94 mg atorvastatin kalsiyum olduğu tespit edilmiştir.

SONUÇ

Bu çalışmada atorvastatin kalsiyum için yeni bir ters faz HPLC-UV metodu geliştirilmiştir. Basit bir mobil faz kullanarak metot optimize edilmiştir. Ayırım gradient bir metod oluşturulmadan sağlandığı için literatürlerde verilen yöntemlere göre daha kısa sürede tamamlanmış (yaklaşık 6 dakika) ve daha az çözücü kullanılmıştır. Metot kesinlik (tekrarlanabilirlik), doğruluk (geri kazanım), doğrusallık ve LOD-LOQ parametreleri açısından valide edilmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda atorvastatin pikinin alıkonma zamanı 3.770 \pm 0.200 dakika, internal standart olarak kullanılan diklofenak sodyumun alıkonma zamanı ise 5.266 \pm 0.200 dakika olarak tespit edilmiştir. Atorvastatin ve

diklofenak pikleri birbirinden düzgün olarak ayrılmıştır. Başlangıçta 9 farklı konsantrasyon (0.5-1-2-4-10-15-20-25-30 µg/ml) kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Doğrusallık çalışmaları atorvastatin için 0.5-30 µg/ml arasında yapılmış olup, korelasyon katsayısı (r^2) 0.99908 olarak bulunmuştur. Bu kalibrasyon eğrisinden 3 konsantrasyon seçilip (1-10-25 µg/ml) gün içi ve günler arası kesinlik çalış-

maları yapılmıştır. Metot kesinlik (tekrarlanabilirlik), doğruluk (geri kazanım), ve LOD-LOQ parametreleri açısından da valide edilmiştir. Geliştirilen yöntem basit, hassas, duyarlı ve kesin bir metot olup, atorvastatin kalsiyum için rutin analizlerde kullanılabilir. Ayrıca analiz süresinin 6 dakikadan az olması nedeniyle geliştirilen metot ile çok sayıda örnek kısa sürede analiz edilebilir.

KAYNAKLAR

1. Sweetman SC. Martindale the Complete Drug Reference, 34th ed., Pharmaceutical Press, London, 2005; 862-866.
2. Brittain Harry G. Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology, 2010; 35: 1-68.
3. Williams D, Feely J. Pharmacokinetic-pharmacodynamic drug interactions with HMG-CoA reductase inhibitors. Clin Pharmacokinet. 2002; 41: 343-370.
4. Novakova L, Satinsky D, Solich P. HPLC methods for the determination of simvastatin and atorvastatin. Trend Anal Chem. 2008; 27: 352-366.
5. Ertürk S, Aktaş ES, Ersoy L, Fiçioğlu S. An HPLC method for the determination of atorvastatin and its impurities in bulk drug and tablets. J Pharm Biomed Analysis 2003; 33: 1017-1023.
6. Vijayamirharaj R, Ramesh H, Bin Hashim J, And H. Development and validation of rp-HPLC method for the simultaneous estimation of telmisartan and atorvastatin calcium in tablet dosage forms. Pharm Glob Int J Comp Pharm. 2010; 1: 1-4.
7. Kracun M, Kocijan A, Bastarda A, Grahek R, Plavec J, Kocjan D. Isolation and structure determination of oxidative degradation products of atorvastatin. J Pharm Biomed Analysis 2009; 50: 729-736.
8. Mohammadi A, Rezanour N, Ansari Dogaher M, Ghorbani Bidkorbeh F, Hashem M, Walker RB. A stability-indicating high performance liquid chromatographic (HPLC) assay for the simultaneous determination of atorvastatin and amlodipine in commercial tablets. J Chromatography B. 2006; 846: 215-221.
9. Liu Y, Pu H, Liu G, Jia J, Weng L, Xu R, Li G, Wang W, Zhang M, Lu C, Yu C. Pharmacokinetics and bioequivalence evaluation of two different atorvastatin calcium 10-mg tablets: A single-dose, randomized-sequence, open-label, two-period crossover study in healthy fasted chinese adult males. Clin Ther. 2010; 32: 1397-1405.
10. Farahani H, Norouzi P, Beheshti A, Sobhi HR, Dinarvand R, Ganjali MR. Quantitation of atorvastatin in human plasma using directly suspended acceptordroplet in liquid-liquid microextraction and high-performance liquid chromatography-ultraviolet detection. Talanta 2009; 80: 1001-1006.
11. Bahrami G, Mohammadi B, Mirzaeei S, Kiani A. Determination of atorvastatin in human serum by reversed-phase high-performance liquid chromatography with UV detection. J Chromatography B 2005; 826: 41-45.
12. Novakova L, Vickova H, Satinsky D, Sadilek P, Solichova D, Blaha M, Blaha V, Solich P. Ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometric detection in clinical analysis of simvastatin and atorvastatin. J Chromatography B. 2009; 877: 2093-2103.
13. Bullen WW, Miller RA, Hayes RN. Development and validation of a high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry assay for atorvastatin, ortho-hydroxy atorvastatin, and para-hydroxy atorvastatin in human, dog, and rat plasma. J Am Soc Mass Spect. 1999; 10: 55-66.
14. Mazurek S, Szostak R. Quantification of atorvastatin calcium in tablets by FT-Raman spectroscopy. J Pharm Biomed Analysis 2009; 49: 168-172.
15. Guihen E, Sisk GD, Scully NM, Glennen JD. Rapid analysis of atorvastatin calcium using capillary electrophoresis and microchip electrophoresis. Anal Biol Chem Res Facilit. 2006; 12: 2338-2347.