

PENETAPAN KADAR SIMVASTATIN MENGGUNAKAN KROMATORAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT) :REVIEW

Savira Silma Aulia, Iyan Sopyan, Muchtaridi

Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung Sumedang Km.21 Jatinangor 45363 Telp. 022-7996200

E-mail*: muchtaridi@unpad.ac.id

Abstrak

Simvastatin merupakan produk utama golongan statin yang memiliki khasiat utama sebagai antihiperlipidemia dan antikolestrol. Sebagai produk utama, simvastatin banyak diproduksi sebagai obat di industri farmasi. Penetapan kadar simvastatin dalam sediaan farmasetika atau dalam sediaan hayati diperlukan untuk mengetahui kadar sesungguhnya dari simvastatin dalam sediaan yang selanjutnya dapat dijadikan acuan dalam studi ketersediaan hayati dari simvastatin. Metode untuk penetapan kadar simvastatin dapat menggunakan berbagai macam instrumen salah satunya Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Perbedaan jenis sampel dan kondisi dalam analisis penetapan kadar simvastatin mempengaruhi pemilihan fase gerak, kolom, panjang gelombang pengukuran, rate flow, dan waktu retensi analisis untuk menentukan kondisi optimum analisis. Penentuan aspek-aspek tersebut mempengaruhi hasil analisis sampel.

Kata kunci : Simvastatin, analisis penetapan kadar, KCKT

Abstract

Simvastatin is the main product of statins which have the primary efficacy as antihyperlipidemia and anticholesterol. As the main product, simvastatin produced as drugs in pharmaceutical industry. Simvastatin assay in pharmaceutical preparations or in biological preparations needed to determine the actual levels of simvastatin in dosage then it can be used as a reference in the study of the bioavailability of simvastatin. Methods for the determination of simvastatin can use a variety of instruments one of them is High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The different types of sample and assay conditions in the analysis of simvastatin affect the selection of the mobile phase, the column, the wavelength measurement, flow rate, and retention time analysis to determine the optimum conditions of analysis. The determination of these aspects affect the results of sample analysis.

Keywords: Simvastatin, analysis assay, HPLC

Pendahuluan

Simvastatin adalah analog dari lovastatin, yang merupakan produk utama dalam golongan obat statin (Desager dan Horsman, 1996). Simvastatin atau

1S,3R,7S,8S,8aR)-8-{2-[(4R)-4-hidroksi-6-oxooxan-2-etil]-3,7-dimetil-1, 2, 3, 7, 8, 8 a -hexahidronaphthalen-1-yl-2,2-dimetilbutanoate (Desager dan Horsman, 1996 ; Lennernas dan Fager, 1997) digunakan untuk mengobati

hiperkolesterolemia dan kondisi yang berkaitan serta digunakan untuk mencegah penyakit kardiovaskular (Nissen *et al.*, 2006). Simvastatin memiliki tingkat keefektivan tinggi dalam mereduksi total kolesterol dan LDL, yang dapat digunakan secara luas pada hiperkolesterolemia (Corsini *et al.*, 1999).

Penetapan kadar simvastatin dalam berbagai sediaan baik dalam sediaan farmasetikal seperti tablet, kapsul, ataupun dalam sediaan hayati seperti dalam plasma diperlukan untuk mengetahui dan memastikan kadar sesungguhnya dari simvastatin terutama dalam sediaan hayati yang dapat dijadikan acuan untuk mengetahui profil bioavailabilitas simvastatin. Berbagai metode seperti kromatografi lapis tipis (Vickers *et al.*, 1990 ; Pravish *et al.*, 2010), elektrokinetik kromatografi dan voltametri (USP, 2002), kromatografi cair kinerja tinggi (Fabio *et al.*, 2009 ; Lucie *et al.*, 2008 ; Carlucci *et al.*, 1992 ; Ochiai *et al.*, 1997), spektrometri massa (Barret *et al.*, 2006 ; Ramakrishna *et al.*, 2007 ; Basavaih dan Devi, 2008 ; Yang *et al.*, 2005 ; Bhavin *et al.*, 2008), kromatografi gas (Takano *et al.*, 1990) telah dilaporkan dapat digunakan untuk menganalisis kadar simvastatin.

Simvastatin

Simvastatin adalah analog dari lovastatin, yang merupakan produk utama dalam golongan obat statin (Desager dan

Horsman, 1996). Simvastatin atau 1S,3R,7S,8S,8aR)-8-{2-[(4R)-4-hidroksi-6-oxooxan-2-etil]-3,7-dimetil-1, 2, 3, 7, 8, 8 a -hexahidronaphthalen-1-yl-2,2-dimetilbutanoate menghambat 3-hidroksi-3metil-glutaril-coenzymeA (HMG-CoA) reduktase yang mengkatalis proses konversi dari HMGCoA menjadi mevalonat yang merupakan prekursor kolesterol, hal ini merupakan proses awal dalam biosintesis kolesterol di dalam tubuh (Desager dan Horsman, 1996 ; Lennernas dan Fager, 1997). Simvastatin digunakan untuk mengobati hiperkolesterolemia dan kondisi yang berkaitan serta digunakan untuk mencegah penyakit kardiovaskular (Nissen *et al.*, 2006). Simvastatin memiliki tingkat keefektivan tinggi dalam mereduksi total kolesterol dan LDL, yang dapat digunakan secara luas pada hiperkolesterolemia (Corsini *et al.*, 1999).

Selain menurunkan kadar lipid, golongan statin juga mempunyai peranan penting dalam mereduksi kolesterol sebagai antioksidan (Ebru *et al.*, 2011 ; Preston *et al.*, 2006), antitumor (Carmen *et al.*, 2012 ; Sune *et al.*, 2012), antiinflamasi (Anuradha *et al.*, 2011 ; Aryeh *et al.*, 2006), immunomodulator (Aryeh *et al.*, 2006 ; Ulrike *et al.*, 2005) anti malaria (Rina *et al.*, 2009 ; Veronique *et al.*, 2010), antifungi (László *et al.*, 2011) dan agen pembentuk tulang (Pasquale *et al.*, 2011 ; Bernard *et al.*, 2007 ; Athanasios *et al.*, 2012).

Terdapat tiga bentuk kristal simvastatin dimana pola difraksi kristal tersebut dipengaruhi oleh perubahan suhu yaitu suhu rendah. Bentuk I kristal simvastatin stabil pada suhu lebih dari 272 K, sedangkan bentuk II dan III berturut – turut stabil pada suhu 272-232 K dan dibawah 232 K (Husak, 2009).

Simvastatin merupakan prodrug yang akan menjadi bentuk aktif asam - β -hidroksi jika dihidrolisis terlebih dahulu dalam bentuk lakton di hati (ISFI,2008). Hasil hidrolisis simvastatin sebesar 95 % terikat protein plasma dan hanya sekitar 5 % simvastatin dalam bentuk bebasnya yang aktif (ISFI, 2008). Sedangkan waktu paruh dari simvastatin di dalam tubuh selama 2 jam (ISFI, 2008).

Simvastatin berdasarkan *Biopharmaceutical Classification System* (BSC) termasuk kedalam kelompok obat kategori II yang memiliki kelarutan rendah dalam air tetapi memiliki permeabilitas yang tinggi. Kelarutan simvastatin dalam air sebesar 0,03 mg/l, kelarutan yang rendah ini mempengaruhi laju disolusi yang rendah dan bioavaibilitas oral yang rendah (Amidon *et al.*, 1995). Kelarutan adalah salah satu faktor penting dalam menilai bioavaibilitas obat di dalam darah (Racz, 1989 ; Shargel 1999).

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) adalah pengembangan terkini dari kromatografi cair kolom klasik, dimana pada KCKT ini terdapat pengembangan teknologi pada kolom, detektor yang lebih sensitiv dan peka serta kemjuan teknologi pada pompa bertekanan tinggi yang menyebabkan KCKT menjadi suatu metode dengan sistem pemisahan zat yang cepat dan efisien (Johnson, 1991).

Kromatografi adalah teknik pemisahan suatu campuran zat menggunakan fase gerak dan fase diam, dimana pemisahan terjadi akibat adanya perbedaan daya adsorpsi, kelaruutan, partisi, ukuran moleul, ukuran ion dan tekanan uap pada komponen yang dibawa oleh fase gerak melalui fase diam (Dong, 2006 ; Grob dan Barry, 2004 ; Lux, 2004).

Pemisahan pada kromatografi partisi berdasarkan perbedaan partisi analit dalam fase gerak dan fase diam cair yang tidak bercampur yang terikat pada penyangga kolom. (Putra, 2004).

Dua jenis teknik kromatografi partisi :

- i. Kromatograsi fase balik.

Teknik ini menggunakan fase gerak yang bersifat polar dan fase diam besifat non polar atau kurang polar. Pada teknik ini sampel yang

memiliki tingkat kepolaran lebih tinggi akan terelusi lebih awal.

- ii. Kromatografi fase normal.
Teknik ini menggunakan fase gerak yang bersifat kurang polar atau non polar dan fase diam bersifat lebih polar. Pada teknik ini sampel yang memiliki tingkat kepolaran lebih rendah akan terelusi lebih awal.

Kolom

Pemisahan sampel dari komponen-komponen lainnya terjadi di dalam kolom, oleh karena itu kolom mempunyai peranan yang sangat penting pada KCKT. Spesifikasi kolom yang biasa digunakan untuk pemisahan analitik yaitu yang berdiameter 2-4mm (Putra, 2004). Terdapat dua jenis kolom yaitu:

- Kolom analitik.

Diameter kolom 2-6mm, dengan panjang kolom yang tergantung pada material pengisi kolom. Panjang kolom untuk kemasan *pellicular* 50-100cm. Sedangkan panjang kolom untuk kemasan poros mikropartikel 10-30 cm (Putra, 2004).

- Kolom preparatif.

Diameter kolom 6 mm atau lebih besar dengan panjang kolom 25-100 cm (Putra, 2004).

Kemasan kolom pada kromatografi fase balik yang banyak digunakan adalah jenis oktadesil silana (C_{18}) dan oktil silana (C_8). Kolom pada fase normal yang banyak digunakan adalah alkilnitrit dan alkilamina. Memperpanjang masa penggunaan kolom dapat dilakukan dengan memasang pelindung atau prakolom diantar katup pemasukan dan kolom utama (Johnson, 1991).

Beberapa fase diam yang sering digunakan pada KCKT yaitu divinil benzena, polimer stiren, dan silika baik yang dimodifikasi maupun yang tidak. Modifikasi silika dilakukan dengan menambahkan reagen klorosin yang akan bereaksi dengan gugus silanol. Gugus silanol (Si-OH) pada silika menyebabkan silika bersifat sedikit asam dan memiliki permukaan yang polar (Lux, 2004).

Fase diam jenis C-18 atau ODS (*Octa Desil Silica*) mampu memisahkan senyawa dengan tingkat kepolaran tinggi, sedang dan rendah. Rantai alkil yang lebih pendek pada fase diam sangat sesuai digunakan untuk senyawa polar. Silika yang tidak termodifikasi menyebabkan waktu retensi yang bervariasi dikarenakan adanya kandungan air (Lux, 2004).

Fase Gerak

Pada sistem KCKT fase gerak merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi hasil pemisahan zat. Pemisahan pada KCKT dipengaruhi oleh susunan pelarut atau fase gerak yang mengelusi sampel. Beberapa syarat pelarut yaitu :

- Tidak terdapat cemaran
- Inert atau tidak bereaksi dengan kemasan
- Dapat melarutkan cuplika
- Viskisitas rendah
- Kompatibel atau sesuai dengan detektor
- Memungkinkan untuk memperoleh kembali sampel dengan mudah (Johnson dan Stevenson, 1991).

Pemilihan fase gerak dapat ditentukan melalui eksperimen *trial and error* hingga didapatkan kromatogram yang diinginkan. Pada kromatografi fase terbalik, fase gerak bersifat polar dan akan terelusi lebih dulu. Sedangkan pada fase normal fase gerak bersifat kurang polar dan akan terelusi lebih dulu (Dong, 2006 ; Lux, 2004).

Pada beberapa penelitian kombinasi penggunaan dari fase gerak terdiri fase organik dan dapar. Fase organik seperti asetonitril dan methanol sering digunakan dalam sistem KCKT. Sedangkan dapar yang sering digunakan yaitu dapar asetat, dapar fosfat, tetrahidrofuran (THF). Komposisi fase gerak menentukan

pemisahan zat, seringkali komposisi yang tidak tepat memberikan hasil yang buruk walaupun sebenarnya kombinasi fase gerak yang digunakan sudah benar.

Panjang Gelombang dan Waktu Retensi

Panjang gelombang simvastatin menurut British Pharmacopae adalah 238 nm, tetapi untuk berbagai kondisi yang berbeda panjang gelombang dari simvastatin dapat berbeda. Waktu retensi dinyatakan sebagai lamanya waktu analisis sampel, dimana pada fase terbalik zat yang lebih polar akan terelusi lebih dulu dan memiliki waktu retensi yang lebih cepat dibanding zat non polar (Putra, 2004).

Kondisi Sistem KCKT pada Berbagai Penetapan Kadar Simvastatin

Berbagai komposisi fase gerak yang berbeda digunakan dalam penelitian penetapan kadar simvastatin. Pada penetapan kadar simvastatin dan koenzim Q10 digunakan fase gerak asetonitril dan THF (80:20). Komposisi ini dinilai telah memberikan hasil yang optimum bagi pemisahan kedua senyawa tersebut dimana waktu retensi dari simvastatin 3,64 menit dan waktu retensi dari koenzim Q10 adalah 6,47 menit pada panjang gelombang 248 nm. Berdasarkan hasil perbandingan waktu retensi tersebut simvastatin dan koenzim Q10 telah terpisah dengan baik (Mahendra, 2012).

Pada penetapan kadar simvastatin dalam plasma manusia menggunakan KCKT komposisi fase gerak yang digunakan yaitu asetonitril dan air (80 : 20) (Alakhali, 2014) pada panjang gelombang 238 nm. Penetapan kadar simvastatin dalam plasma manusia pada penelitian lainnya menggunakan fase gerak metanol dan campuran 2mM ammonium asetat dan 500µl asam format 0,5 % (80 :20) yang dideteksi pada panjang gelombang 418,35 nm dengan waktu retensi simvastatin 5,41 menit (Muralidharan, 2010)

Pada penelitian penetapan kadar simvastatin dan sitagliptin menggunakan asetonitril dan dapar asetat pH 4 (60:40) dimana waktu retensi simvastatin 5 ment dan waktu retensi sitagliptin 2,1 menit pada panjang gelombang 253 nm (Devi, 2013). Fase gerak asetonitril dan dapar ammonium asetat 1 M (55:45) digunakan untuk menetapkan kadar simvastatin dan ezetimibe dalam obat pada panjang gelombang 230 nm dengan waktu retensi untuk ezetimibe 4,5 menit dan 20,1 menit untuk simvastatin (Stephen, 2010).

Kadar simvastatin dalam formulasi mikroemulsi ditetapkan dengan menggunakan fase balik KCKT. Komposisi fase gerak yang digunakan 0,1% dapar trietanilamin pH 7,5 dan setonitril (20 : 80) dideteksi pada panjang gelombang 238 nm. Waktu retensi

simvastatin dalam mikroemulsi ini yaitu 8,6 menit (Srinivas, 2012).

Kesimpulan

Penetapan kadar simvastatin tidak hanya terbatas pada sediaan farmasetika saja tetapi mencakup sediaan hayati atau biologis. Kondisi dan jenis sampel dalam penetapan kadar simvastatin menggunakan KCKT dipengaruhi oleh beberapa aspek penting dan mempengaruhi hasil analisis.

Daftar Pustaka

- Anuradha G., Nancy C., Jeanette H., Jing Q., Catherine R., Julia M., Carolyn B., Jean V., Catherine F. D., Peter S., Mary B., Sybil T., Dean F., Frank M . 2011. High Dose Atorvastatin Decreases Cellular Markers of Immune Activation without Affecting HIV-1 RNA Levels: Results of a Double-blind Randomized Placebo Controlled Clinical Trial. *The Journal of Infectious Diseases*; 203:756–764.
- Aryeh M., Abeles, Michael H., Pillinger. 2006. Statins as Anti-inflammatory and Immunomodulatory Agents. *J. Arthritis & Rheumatism*; 54: 393–407.
- Athanasios N. T., Charalambos D., Georgia D. K., Dimitris N. T., Antonios K., Apostolos I. H., Christos G. S. 2012. Statins, bone formation and osteoporosis: hope or hype?. *J. Hormones*; 11(2): 126-139.
- B, Stephen Ratinaraj, S.Vijaya Kumar, S. Sudharsini, B. Thirupathy dan Gurusharan. 2010. Quantitative Analysis Of Simvastatin And Ezetimibe Of Drugs In Combined Dosage Forms By HPLC. *International Journal Of Pharma and Bio Sciences*; 2.

- Barrett, B., J. Huclova, V. Borek-Dohalsky, B. Nemeč, and I. Jelinek. 2005. Validated HPLC–MS/MS Method for Simultaneous Determination of Simvastatin and Simvastatin Hydroxy Acid in Human Plasma. *J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 41(2006): 517-526.
- Basavaih K, Devi OZ. Cerimetric determination of simvastatin in pharmaceuticals. Based on redox and complex formation reactions. *Ecl Quim Sao Paulo* 2008; 33: 21-28
- Bernard U., Régis C., Patrick N., Michel C., Gérard-Yves P. 2007. Effects of statins on bone mineral density: A meta-analysis of clinical studies. *J. Bone*; 40: 1581–1587.
- Bhavin NP, Naveen S, Mallika S, Pranav SS. Simultaneous determination of simvastatin and simvastatin acid in human plasma by LC/MS/MS without polarity switch: application to a bioequivalence study. *J Separat Sci* 2008; 31: 301- 313
- Carlucci G, Mazzeo P, Biordi L, Bolonga M. Simultaneous determination of simvastatin and its hydroxyl acid form in human plasma by high performance liquid chromatography with UV detection. *J Pharm Biomed Anal* 1992; 10: 693- 697.
- Carmen C., Bucharest, Romania. 2012. The statins as anticancer agents. *Maedica - a Journal of Clinical Medicine*; 7: 337.
- Corsini, A., Bellosta, S., Baetta, R., Fumagalli, R., Paoletti, R., Bernini, F. 1999. New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *J. Pharmacol. Ther*; 64, 413-428.
- Desager, J.P., Horsmans. Y. 1996. Clinical Pharmacokinetics of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A Reductase Inhibitors. *J. Clin. Pharmacokinet*; 31, 348-371.
- Devi, Y. Murudula, R. Karthikeyan, Punttaguntla. S. B. 2013. *International Research Journal Of Pharmacy*; 8:2230-8407.
- Dong, M.W. 2006. *Modern HPLC for Practicing Scientist*. Canada: A John Wiley & Sons, Inc. Hal. 1-13.
- Ebru D.S., Eser Y.S., Deniz N.,Taner O. 2011. Effect of atorvastatin therapy on oxidant-antioxidant status and atherosclerotic plaque formation. *J. Vascular Health and Risk Management*; 7: 333–343.
- Fabio P, Gomes, Pedro LG, Joao MP, Anil KS, Erika RM. UV-Derivative spectrophotometric and stability-indicating high performance liquid chromatographic methods for determination of simvastatin in tablets. *Lat Am J Pharm* 2009; 28: 261-69.
- G.L. Amidon, H. Lunnernas, V.P. Shah, J.R. Crison. 1995. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. *Pharm. Res*. 12413-420.
- Grob, R.L. dan Bary, E.F. 2004. *Modern Practice of Gas Chromatography*. Canada: Wiley Interscience. Tersedia di <http://www.fda.gov/downloads/ScienceResearch/FieldScience?UCM298730.pdf> [diakses pada 20 Agustus 2015].
- Johnson, .E.L. dan R. Stevenson. 1991. *Dasar Kromatografi Cair*. Terjemahan dari *Basic Liquid Chromatography*, oleh Padmawinata K. ITB: Bandung. Hal 3-9.

- Khaled, M. Alakhali. 2014. Validation Method For Measuring Simvastatin In Human Plasma By HPLC-UV And Its Application Study Simvastatin Stability In Plasma And Working Solution. *Asioan Journal Of Pharmaceutical And Clinical Research*; 7:0974-2441.
- László G., Ildikó N., Tamás P., Csaba V. 2011. Statins as antifungal agents. *World J Clin Infect Dis*; 1(1): 4-10.
- Lennernas H, Fager G. 1997. "Pharmacodynamic and pharmacokinetics of the HMG-CoA reductase inhibitors", *Clin Pharmacokinet* ;32:403-425.
- Lucie N, Dalibor S, Solich P. HPLC methods for the determination of simvastatin and atorvastatin. *Trends Anal Chem* 2008; 27: 352-367.
- Lux, P.E. 2004. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dalam Bidang Farmasi. Tersedia di <http://library.usu.ac.id/download/fmipa/farmasi-effendy2.pdf> [diakses pada 22 Agustus 2015].
- Muhammad, El Karbane, Y. Ramli, M. A. Al-Kamarany, H. Bouchfara, et al., 2014. Development And Validation Of HPLC Dissolution Assay Of Simvastatin Tablets Under Normal And Accelerated Conditions. *Journal Of Chemical And Pharmaceutical Research*,6(6):886-893.
- Muralidharan, S, Janaki.S, Sachin. S, Anil. D. 2010. Bioequivalence Study Of Simvastatin. *Journal Of Bioanalysis And Biomedicine*; 1.
- Nissen S, Nicholls S, Sipahi I, Libby P, Raichlen JS, Ballantyne CM . 2011. "Effect of very high-intensity statin therapy on regression of coronary atherosclerosis: the ASTEROID trial", *JAMA* 2006; 295(13):1556-1565.
- Ochiai H, Uchiyama N, Imagaki K, Hata S, Kamei T. Determination of simvastatin and its active metabolite in human plasma by column-switching high performance liquid chromatography using fluorescence detection after derivatization with 1-bromoacetylpyrene. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1997; 694: 211-217
- Pasquale M., Giustina V., Aurelio S., Francesco P., Ilenia P., Carmelina R., Salvatore D., Giovanna B., Enrico C., Mevalonate pathway: Role of bisphosphonates and statins. *J. Acta Medica Mediterranea*; 27: 85-95.
- Pravish KT, Padmakar S. Development and validation of HPTLC method for niacin and simvastatin in binary combination. *Adv Biosci Biotech* 2010; 1: 131-135.
- Preston M., Mary F. W., Charles A. D., Robert F. J. 2006. Active Metabolite of Atorvastatin Inhibits Membrane Cholesterol Domain Formation by an Antioxidant Mechanism. *Journal of Biological Chemistry*; 281: 9337-9345.
- Putra, E.D. 2004. Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dalam Bidang Farmasi. <http://222.USUdigitalibrary.or.id>. [diakses pada 20 Agustus 2015].
- Racz, I. 1989. *Drug Formulation*. New York: John Wiley and Sons.
- Ramakrishna N, Koteswara M, Vishwottam K. Chromatography-mass spectrometry methods for the quantitation of statin in biological samples. *J Pharm Biomed Anal* 2007; 44: 379-387.
- Shargel, L. and Andrew B. C. Yu. 1988. *Biofarmasetika dan Farmakokinetika*. Penerjemah: Siti

Sjamsiah. Surabaya: Airlangga University Press.

Stephen. 2010.

Srinivasu M K, Narasaraju A and Omreddy G, Determination of Lovastatin and Simvastatin in pharmaceutical dosage forms by MEKC. *J Pharm Biomed Ana* 29:715-721 (2002).

Takano T, Abe S, Hata S. A selected ion monitoring method for quantifying simvastatin and its acid form in human plasma, using the ferroceneboronate derivative. *Biomed Environ Mass spectrum* 1990; 19: 577-581

United States Pharmacopoeia. 2000. United State Pharmacopoeia Convention 24th ed. United States Pharmacopoeia/National Formulary. Rockville. MD.

Veronique P., Maud H., Nathalie W., Jerome D., Sebastien B., Marine G., Eric B., Remy A., Christophe R., Bruno P. 2010. Atorvastatin as a potential anti-malarial drug: in vitro synergy in combinational therapy with quinine against *Plasmodium falciparum*. *Malaria Journal*; 9: 139–145.

Yang AY, Sun L, Musson DG, Zhao JJ. Application of a novel ultra low elution volume 96-well solid phase extraction method to the LC/MS/MS determination of simvastatin and simvastatin acid in human plasma. *J Pharm Biomed Anal* 2005; 38: 521-527