

Método de cromatografía líquida de alta resolución para la determinación simultánea de fosinopril sódico e hidroclorotiazida en formulaciones de comprimidos

High performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of fosinopril sodium and hydrochlorothiazide in tablets formulation

MASHRU RC, SUTARIYA VB* Y THAKKER AJ

Pharmacy Department. Center of relevance and excellence in NDDS. G.H. Patel building
The M.S. University of Baroda. Kalabhavan, Vadodara – 390002. Gujarat, India

* E-mail: vsutariya@yahoo.co.in o sankalia_mayur@hotmail.com

RESUMEN

Se ha desarrollado un método HPLC de fase inversa con detección de UV sencillo, específico, exacto y preciso para la determinación de fosinopril sódico e hidroclorotiazida en formulaciones farmacéuticas. La solución de fármaco se preparó en fase móvil y se inyectó en una columna C_{18} con detección de UV a 208 nm. La fase móvil era una mezcla de 0,2% p/v de ácido fosfórico en agua y acetonitrilo (30:70) añadida a una velocidad de flujo de 0,5 ml/min a 29 °C. Los gráficos de calibración fueron lineales en el rango de 10-50 µg/ml ($r^2 > 0,99$) para el fosinopril sódico y de 6,25-31,35 µg/ml para la hidroclorotiazida ($r^2 > 0,99$). El límite de detección fue de 0,5 µg/ml para el fosinopril sódico y de 1,0 µg/ml para la hidroclorotiazida, con un límite de cuantificación de 10 µg/ml y 6,25 µg/ml para el fosinopril sódico y la hidroclorotiazida, respectivamente. La evaluación estadística del método se examinó mediante calibración intradía ($n=5$) e interdía ($n=5$) y resultó satisfactoria, con una exactitud y precisión elevadas. El método sugerido se aplicó con éxito en la determinación simultánea de fosinopril sódico e hidroclorotiazida en formulaciones de comprimidos, con un elevado porcentaje de recuperación, buena exactitud y precisión.

PALABRAS CLAVE: Fosinopril sódico. Hidroclorotiazida. Determinación simultánea. Método HPLC.

ABSTRACT

A simple, specific, accurate and precise reversed phase HPLC method with UV detection for the simultaneous determination of fosinopril sodium and hydrochlorothiazide in pharmaceutical formulations was developed. The drug solution was prepared in mobile phase and was injected into a C_{18} column with UV detection at 208 nm. The mobile phase was a mixture of 0.2%w/v phosphoric acid in water and acetonitrile (30:70) delivered at a flow rate of 0.5 ml/min at 29 °C. The calibration graphs were linear in the range of 10-50 µg/ml ($r^2 > 0.99$) for fosinopril sodium and 6.25-31.35 µg/ml for hydrochlorothiazide ($r^2 > 0.99$). The detection limit was 0.5µg/ml for fosinopril sodium and 1.0 µg/ml for hydrochlorothiazide with quantitation limit of 10 µg/ml and 6.25 µg/ml for fosinopril sodium and hydrochlorothiazide, respectively. The statistical evaluation of the method was examined by performing intra-day ($n=5$) and inter-day calibration ($n=5$) and was found to be satisfactory, with high accuracy, and precision results. Application of the suggested method was successfully applied to the simultaneous determination of fosinopril sodium and hydrochlorothiazide in tablets formulation, with high percentage of recovery, good accuracy with precision.

KEYWORDS: Fosinopril sodium. Hydrochlorothiazide. Simultaneous determination. HPLC method.

Fecha de recepción: 09-12-05

Fecha de aceptación: 13-03-06

INTRODUCCIÓN

El fosinopril sódico, L-prolina, 4-ciclohexil-1-[[[2-metil-1-(1-oxopropoxi) propoxi] (4-fenilbutil) fosfinil] acetilo] sódico es un nuevo inhibidor de la enzima de conversión de la angiotensina (ACE) eficaz en el tratamiento de la hipertensión. Es eficaz en el tratamiento de la tensión sanguínea cuando se utiliza sola o en combinación con otras medicaciones como la hidroclorotiazida. El fosinopril sódico también se utiliza para el tratamiento del fallo cardíaco. Bloquea la enzima que produce la angiotensina, sustancia formada de manera natural que contrae los vasos sanguíneos y estimula la producción de la hormona adrenal, y la aldosterona, que promueve la retención de sodio en el organismo. Como resultado, relaja los vasos sanguíneos (haciendo que se ensanchen) y reduce la retención de sodio, lo que reduce a su vez la presión sanguínea y, en consecuencia, el trabajo del corazón. Tiene un efecto antihipertensivo incluso en pacientes con hipertensión baja en renina¹⁻¹⁵.

Las formulaciones que contienen fosinopril sódico (FS), una nueva clase química de inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (ACE), en combinación con un fármaco diurético han demostrado tener efectos terapéuticos. La hidroclorotiazida (HCT) ha demostrado poseer acción diurética. Más recientemente, se ha indicado una nueva forma de dosificación que combina fosinopril e hidroclorotiazida para el tratamiento y el control del edema y la hipertensión¹⁶⁻¹⁸. Para la determinación individual de la hidroclorotiazida se han descrito métodos como la electroforesis capilar¹⁹. Para la determinación individual del fosinopril se han descrito métodos espectrofotométricos y de cromatografía líquida de alta resolución^{20,21}. Para la determinación simultánea de FS y HCT en formulaciones farmacéuticas sólo se han descrito métodos espectrofotométricos²². Pero los métodos espectrofotométricos para la determinación simultánea de FS y HCT no son específicos, exactos ni precisos. La mezcla de fosinopril e hidroclorotiazida no se ha incluido aún oficialmente en ninguna farmacopea. Por tanto, se consideró de interés el desarrollo de un método sencillo, específico y exacto para la determinación simultánea de ambos fármacos dosificados en comprimidos.

El sencillo, rápido y preciso método propuesto se puede aplicar en laboratorios de control de

INTRODUCTION

Fosinopril sodium, L-proline, 4-cyclohexyl-1-[[[2-methyl-1-(1-oxopropoxy) propoxy] (4-phenylbutyl) phosphinyl] acetyl] sodium is a new angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor that is effective in the treatment of hypertension. It is effective when used alone or in combination with other medications such as hydrochlorothiazide for the treatment of high blood pressure. Fosinopril sodium is also prescribed for heart failure. It blocks an enzyme that produces angiotensin, a naturally occurring substance that causes blood vessels to constrict and stimulates production of the adrenal hormone, and aldosterone, which promotes sodium retention in the body. As a result, it relaxes blood vessels (causing them to widen) and reduce sodium retention, which lowers blood pressure and so decreases the workload of the heart. It has an antihypertensive effect even in patients with low-renin hypertension¹⁻¹⁵.

Formulations containing fosinopril sodium (FS), a new chemical class of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors in combination with a diuretic drug were found to provide therapeutic effects. Hydrochlorothiazide (HCT), is shown to possess diuretic actions. More recently a new combination dosage form of fosinopril and hydrochlorothiazide is indicated in the treatment and management of edema and hypertension¹⁶⁻¹⁸. Method such as capillary electrophoresis has been described for the individual determination of hydrochlorothiazide¹⁹. Spectrophotometric and high performance liquid chromatographic methods have been reported for the individual determination of fosinopril^{20,21}. Only spectrophotometric method has been reported for the simultaneous determination of FS and HCT in pharmaceutical formulation²². But spectrophotometric methods for are not specific, accurate and precise for the simultaneous determination of FS and HCT. The fosinopril-hydrochlorothiazide mixture is not yet official in any pharmacopoeia. Therefore, it was thought of interest to develop the simple, specific and accurate method for the simultaneous determination of both the drugs in tablet dosage forms.

The proposed simple, fast and precise method can be applied in quality control laboratories for the simultaneous determination of fosinopril and hydrochlorothiazide in the presence of each other.

calidad para la determinación simultánea de fosinopril e hidroclorotiazida en presencia recíproca de cada una de estas sustancias.

MATERIALES Y MÉTODOS

Instrumental

Sistema HPLC compuesto por una bomba LC200 conectada a un detector de UV (Perkin Elmer, EE. UU.) y un integrador PE Nelson 1050S (Perkin Elmer, EE. UU.) con un inyector Rheodyne 7123 (Rheodyne, Cotai, CA) con un volumen de inyección de 100- μ l. Para la separación cromatográfica se utilizó una columna de Thermohypersil, 5 μ m RP C₁₈, 250 x 4,6 mm. Se estableció una longitud de onda de excitación de 208 nm en el detector de rayos ultravioletas.

Productos químicos y reactivos

La muestra de fosinopril sódico e hidroclorotiazida se obtuvo de forma gratuita de Cadila Pharmaceutical Ltd., Ahmedabad, India. El ácido fosfórico se adquirió de S. D. Fine Chem. Ltd, Mumbai, India. El resto de las sustancias químicas utilizadas fueron de grado analítico. Todos los disolventes utilizados fueron de grado HPLC. Se utilizó agua desionizada sometida a doble destilación. La fase móvil utilizada estaba compuesta de 0,02% p/v de ácido fosfórico en agua y acetonitrilo (30: 70% V/V).

Preparación de la muestra

Se preparó una solución que contenía 1 mg/ml de FS y 1,25 mg/ml de HCT en fase móvil, que se diluyó en diez partes para obtener una solución de trabajo de 100 μ g/ml de FS y 125 μ g/ml de HCT.

Cuantificación

Se creó una curva estándar mediante la inyección de muestras de trabajo que contenían FS a concentraciones comprendidas entre 10-50 μ g/ml de FS y 6,25-31,35 μ g/ml de HCT. El área pico se determinó y se trazó en función de la concentración en μ g/ml.

MATERIALS AND METHODS

Instrumentation

An HPLC system consisting of a LC200 pump, connected to a UV detector (Perkin Elmer, USA), PE Nelson 1050S integrator (Perkin Elmer, USA) with Rheodyne 7123 injector (Rheodyne, Cotai, CA) with a 100- μ l loop. The chromatographic separation was performed using Thermohypersil, 5 μ m RP C₁₈, 250 x 4.6 mm column. The ultra violet detector was set at an excitation wavelength of 208 nm.

Chemicals and reagents

Fosinopril sodium and hydrochlorothiazide was obtained as a gift sample from Cadila Pharmaceutical Ltd., Ahmedabad, India. Phosphoric acid was purchased from S. D. Fine Chem. Ltd, Mumbai, India. All other chemicals were of analytical grade. All solvents used were of HPLC grade. Double distilled de-ionized water was used. The mobile phase used was composed of 0.02 % w/v phosphoric acid in water and acetonitrile (30: 70% V/V).

Sample preparation

A solution containing 1 mg/ml of FS and 1.25 mg/ml of HCT was prepared in mobile phase and diluted ten-fold to give a working solution of 100 μ g/ml of FS and 125 μ g/ml of HCT.

Quantitation

A standard curve was constructed by injecting working samples containing FS at concentrations ranging from 10-50 μ g/ml of FS and 6.25-31.35 μ g/ml of HCT. The peak area was determined and plotted versus the concentration in μ g/ml.

Linearity and range

The linear detector response for the assay was tested as follows. These determination (n = 4) from minimum of five concentration levels of FS (10, 20, 30, 40, 50 μ g/ml) and HCT (6.25, 12.5,

Rango y linealidad

Se probó la respuesta del detector lineal para el ensayo de la forma que se describe a continuación. Se realizaron estas determinaciones (n=4) con cantidades mínimas de los cinco niveles de concentración de FS (10, 20, 30, 40 y 50 $\mu\text{g/ml}$) y HCT (6,25, 12,5, 18,75, 25,00 y 31,25 $\mu\text{g/ml}$). Se determinó la correlación entre la respuesta del detector y la concentración de analito mediante regresión por mínimos cuadrados. Se utilizó un peso de 1/y para determinar los coeficientes de correlación, interceptación y pendientes. A priori, el coeficiente mínimo aceptable para establecer la linealidad se fijó en 0,95.

Exactitud y precisión

Para la determinación de la precisión y la exactitud intradía e interdía del ensayo, se inyectaron muestras que contenían FS (10-50 $\mu\text{g/ml}$) y HCT (6,25-31,35 $\mu\text{g/ml}$) cinco veces en un día (intradía) y en cinco días consecutivos. La precisión se calculó como un coeficiente de variación intradía y interdía [% C.V. = (D.E./media) x 100].

Análisis de la formulación farmacéutica

Se utilizó una máquina monocomprimidora para la preparación de comprimidos que contenían 20 mg de fosinopril sódico y 12,5 mg de hidroclorotiazida mediante el método de granulación húmeda. Se analizaron comprimidos de tres lotes diferentes mediante el método HPLC propuesto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una fase móvil compuesta de 0,2% p/v de ácido fosfórico en agua y acetonitrilo (30:70) produjo un pico marcado bien resuelto para el FS con un tiempo de retención de 7,2 minutos y para la HCT con un tiempo de retención de 5,0 minutos, tal como se muestra en la Figura 1.

18.75, 25.00, 31.25 $\mu\text{g/ml}$) were made. Detector response was correlated against analyte concentration by least squares regression. A weight of 1/y was used to determine slopes, intercept and correlation coefficients. The minimum acceptable coefficient to establish linearity was set at 0.95 a priori.

Accuracy and precision

For the determination of intra-day and inter-day accuracy and precision of the assay, samples containing FS (10-50 $\mu\text{g/ml}$) and HCT (6.25-31.35 $\mu\text{g/ml}$) were injected for five times in a day (intraday) and in five consecutive days. Precision was calculated as inter and intra-day coefficient of variation [% C.V. = (S.D./mean) x 100].

Analysis of pharmaceutical formulation

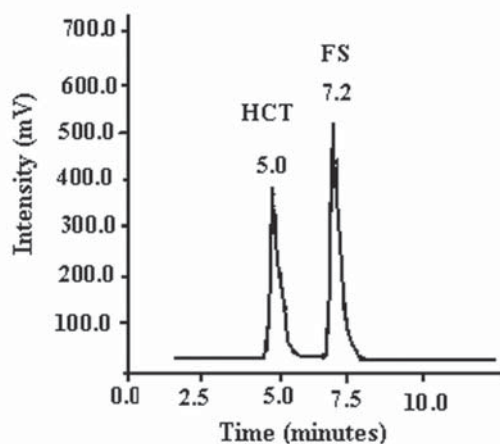
Tablets containing 20 mg fosinopril sodium and 12.5 mg hydrochlorothiazide were prepared by wet granulation method by using single punch tableting machine. Tablets of three different batches were analyzed by using proposed HPLC method.

RESULTS AND DISCUSSION

A mobile phase composed of 0.2 %w/v phosphoric acid in water and acetonitrile (30:70) gave a well resolved, sharp peak for FS with a retention time of 7.2 minutes and HCT with a retention time of 5.0 minutes which is shown in Figure 1.

FIGURA 1.- Cromatogramas HPLC de 30 µg/ml de fosinopril sódico (FS) estándar y 18,75 µg/ml de hidroclorotiazida (HCT).

FIGURE 1.- HPLC chromatograms of standard 30 µg/ml fosinopril sodium (FS) and 18.75 µg/ml hydrochlorothiazide (HCT).



Rango y linealidad

La cuantificación del cromatograma se realizó utilizando el área pico. Se trazaron las áreas pico en función de la concentración para FS y HCT. En la Tabla 1 se muestra el análisis estadístico de la regresión lineal. El rango de linealidad fue de 10-50 µg/ml con un coeficiente de correlación de 0,9997 para el FS y 6,25-31,35 µg/ml con un coeficiente de correlación de 0,9997 para la HCT. El límite de detección (LDD) fue de 0,5 µg/ml para el FS y de 1 µg/ml para la HCT. El límite de cuantificación (LDC) fue de 50µg/ml para el FS y de 31,35µg/ml para la HCT.

Linearity and range

The quantification of the chromatogram was performed using the area of peak. Peak areas versus concentrations were plotted for the both FS and HCT. The statistical analysis of linear regression is shown in Table 1. The linearity range was 10-50 µg/ml with correlation coefficient of 0.9997 for FS and 6.25-31.35 µg/ml with correlation coefficient of 0.9997 for HCT. The limit of detection (LOD) for was 0.5 µg/ml and 1 µg/ml for FS and HCT, respectively. The limit of quantification (LOQ) was 50µg/ml and 31.35µg/ml for FS and HCT, respectively.

TABLA 1.- Análisis estadístico de la regresión lineal.

TABLE 1.- Statistical analysis of linear regression.

Nº Sr. Sr. No	Conc. de FS (µg/ml) Conc. of FS (µg/ml)	Conc. de HCT (µg/ml) Conc. of HCT (µg/ml)	Área pico de FS Peak area of FS	Desviación estándar del área pico de FS Standard deviation of peak area of FS	Área pico de HCT (n=5) Peak area of HCT (n=5)	Desviación estándar del área pico de HCT Standard deviation of peak area of HCT
1	10	6,25	5103428	587008	3476445	1138288
2	20	12,50	10407256	420302	7371660	940367
3	30	18,75	15753454	367218	10945284	894069
4	40	25,00	20932443	247870	14766681	138615
5	50	31,25	25853497	211842	18264931	74706
Pendiente Slope			520253		591552	
Interceptación Intercept			2418,1		126598	
r ²			0,9997		0,9997	

Precisión y exactitud

En la Tabla 2 se muestran los resultados de exactitud y precisión intradía del fosinopril sódico. El resultado de la determinación de la precisión intradía calculada mediante el % DER de cuatro muestras de cinco concentraciones distintas fue de 0,68-2,85% para el FS y de 0,63-2,65% para la HCT. La exactitud intradía, evaluada mediante el cálculo de las concentraciones estimadas como porcentaje de las concentraciones nominales, fue de 99,63-101,10% para el FS y de 99,20-101,12% para la HCT.

Precision and Accuracy

The results of intraday precision and accuracy for fosinopril sodium is shown in Table 2. Intraday precision was determined by calculating the % RSD for five determinations at each concentration of four samples and was found to be between 0.68-2.85% for FS and 0.63-2.65% for HCT. Intraday accuracy, assessed by calculating the estimated concentrations as a percent of the nominal concentrations, was between 99.63-101.10% for FS and 99.20-101.12% for HCT.

TABLA 2.- Precisión y exactitud para fosinopril sódico.
TABLE 2.- Precision and accuracy for fosinopril sodium.

Intradía <i>Intraday</i>				Interdía <i>Interday</i>			
Conc. real (µg/ml) <i>Actual conc.</i> (µg/ml)	Conc. observada (µg/ml) <i>Observed conc.</i> (µg/ml)	Precisión ^a (%) <i>Precision^a (%)</i>	Exactitud ^b (%) <i>Accuracy^b (%)</i>	Conc. real (µg/ml) <i>Actual conc.</i> (µg/ml)	Conc. observada (µg/ml) <i>Observed conc.</i> (µg/ml)	Precisión ^a (%) <i>Precision^a (%)</i>	Exactitud ^b (%) <i>Accuracy^b (%)</i>
10	10,04	2,85	100,4	10	9,93	2,74	99,3
20	19,96	2,64	99,8	20	20,09	2,63	100,5
30	29,89	1,93	99,63	30	30,05	1,53	100,2
40	40,04	1,73	100,1	40	39,74	0,53	99,35
50	50,69	0,68	101,4	50	50,53	1,62	101,1

^aExpresada como desviación estándar relativa

^bExpresada como [(concentración observada/concentración real)x100]

^aExpressed as relative standard deviation

^bExpressed as [(observed concentration/actual concentration)x100]

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la exactitud y la precisión intradía de la hidroclorotiazida. Se determinó la exactitud y la precisión interdía mediante la evaluación de cuatro muestras de distintas concentraciones en cinco días consecutivos. La precisión interdía fue de 0,53-2,74% para el FS y de 0,74-2,55% para la HCT. La exactitud interdía, evaluada mediante el cálculo de las concentraciones estimadas como porcentaje de las concentraciones nominales, fue de 99,30-101,06% para el FS y de 99,10-101,28% para la HCT.

The results of interday precision and accuracy for hydrochlorothiazide is shown in Table 3. The Interday precision and accuracy were assessed by assaying four samples of different concentrations on five consecutive days. Interday precision ranged between 0.53-2.74% for FS and 0.74-2.55% for HCT. Interday accuracy, assessed by calculating the estimated concentrations as a percent of the nominal concentrations, was between 99.30-101.06% for FS and 99.10-101.28% for HCT.

TABLA 3.- Precisión y exactitud para hidroclorotiazida.
TABLE 3.- Precision and accuracy for hydrochlorthiazide.

Intradía <i>Intraday</i>				Interdía <i>Interday</i>			
Conc. real ($\mu\text{g/ml}$) <i>Actual conc.</i> ($\mu\text{g/ml}$)	Conc. observada ($\mu\text{g/ml}$) <i>Observed</i> <i>conc. ($\mu\text{g/ml}$)</i>	Precisión ^a (%) <i>Precision^a (%)</i>	Exactitud ^b (%) <i>Accuracy^b (%)</i>	Conc. real ($\mu\text{g/ml}$) <i>Actual conc.</i> ($\mu\text{g/ml}$)	Conc. observada ($\mu\text{g/ml}$) <i>Observed</i> <i>conc. ($\mu\text{g/ml}$)</i>	Precisión ^a (%) <i>Precision^a (%)</i>	Exactitud ^b (%) <i>Accuracy^b (%)</i>
6,25	6,32	2,32	101,12	6,25	6,24	2,50	99,84
12,50	12,40	2,65	99,20	12,50	12,66	2,55	101,28
18,75	18,71	1,75	99,79	18,75	18,72	1,62	99,84
25,00	25,03	1,65	100,12	25,00	25,23	1,03	100,92
31,25	31,50	0,63	100,80	31,25	30,97	0,74	99,10

^aExpresada como desviación estándar relativa

^bExpresada como [(concentración observada/concentración real)x100]

^aExpressed as relative standard deviation

^bExpressed as [(observed concentration/actual concentration)x100]

En la Tabla 4 se muestran los resultados del análisis de los comprimidos de formulación propia compuestos tanto por FS como por HCT. Los resultados del análisis de ambos fármacos concuerdan con su valor de contenido, lo que indica la exactitud y precisión del método.

The results of analysis of in-house formulated tablets containing both FS and HCT are given in Table 4. Results of analysis of both the drugs are in good agreement with their content value indicating the accuracy and precision of the method.

TABLA 4.- Resultados del análisis de la formulación de comprimidos.
TABLE 4.- Results of analysis of tablets formulation.

Comprimido <i>Tablet</i>	Contenido de fármaco <i>Drug content</i>	Valor de etiqueta (mg) <i>Labeled value (mg)</i>	Cantidad de fármaco detectada (mg) ^a <i>Amount of drug found (mg)^a</i>	% recuperación <i>% Recovery</i>
Comprimido-1 <i>Tablet-1</i>	FS	10,00	9,92 ± 0,53	99,20 %
	HCT	6,25	6,36 ± 0,82	101,76 %
Comprimido-2 <i>Tablet -2</i>	FS	10,00	10,04 ± 1,63	100,40 %
	HCT	6,25	6,23 ± 1,72	99,68 %
Comprimido-3 <i>Tablet -3</i>	FS	10,00	9,97 ± 0,96	99,70 %
	HCT	6,25	6,22 ± 0,77	99,52 %

^aMedia ± desviación estándar de seis determinaciones. Los comprimidos 1, 2 y 3 son comprimidos con fosinopril sódico (FS) e hidroclorotiazida (HCT) de tres lotes distintos.

^aAverage ± standard deviation of six determinations. Tablet-1, tablet-2 and tablet-3 stand for tablets containing fosinopril sodium (FS) and hydrochlorthiazide (HCT) of different three batches.

Análisis de la formulación farmacéutica

Se examinó la posibilidad de aplicación del método para la evaluación de los comprimidos farmacéuticos de preparación propia que contenían FS y HCT. Se comprobó la reproducibilidad del

Analysis of pharmaceutical formulation

The applicability of the method to assay the in-house prepared pharmaceutical tablets containing FS and HCT was examined. The reproducibility of the method was checked by six

método mediante la determinación de los resultados de seis réplicas. En la Tabla 4 se muestran los resultados del análisis de los comprimidos de preparación propia mediante el método propuesto. Se obtuvieron unos valores de desviación estándar porcentual relativa comprendidos entre 0,26 y 33.

CONCLUSIÓN

El método propuesto ha probado ser el primero de su clase en la bibliografía de la determinación simultánea de FS y HCT mediante el sistema HPLC. El método HPLC de fase inversa descrito es sencillo, específico, rápido, exacto y preciso para la determinación simultánea de FS y HCT en comprimidos que contienen una combinación de ambas sustancias. El método propuesto se puede utilizar como herramienta de control de calidad para la estimación simultánea de estos dos fármacos en formulaciones de comprimidos que contengan una combinación de ambos.

replicate determinations. The results of analysis of the in-house prepared tablets by the proposed method are given in table 4. It was found that the percentage relative standard deviation lie between 0.26-33.

CONCLUSION

The proposed method is found to be first of its kind in the literature survey of simultaneous HPLC determination of FS and HCT. The described reversed phase HPLC method is simple, specific, rapid, accurate and precise for the simultaneous determination of FS and HCT in their combined tablets dosage form. This proposed method can be used as a quality control tool for the simultaneous estimation of both the drugs in their combined tablets formulation.

BIBLIOGRAFÍA/BIBLIOGRAPHY

1. Davis R, Coukell A, Mc Tavish D. Fosinopril. A review of its pharmacology and clinical efficacy in the management of heart failure. *Drugs* 1997; 54: 103-116.
2. Shionoiri H, Naruse M, Minamisawa K, Ueda S, Himeno H, Hiroto S, Takasaki I. Fosinopril. Clinical pharmacokinetics and clinical potential. *Clin Pharmacokinet* 1997; 32:460-480.
3. Kostis JB, Garland WT, Delaney C, Norton J, Liao WC. Fosinopril: pharmacokinetics and pharmacodynamics in congestive heart failure. *Clin Pharmacol Ther* 1995; 58: 660-665.
4. Ford NF, Lassefer KC, Van Harken DR, Hammett JL, Raymond R, Manning J. Single-dose and steady-state pharmacokinetics of fosinopril and fosinoprilat in patients with hepatic impairment *J Clin Pharmacol* 1995; 35: 145-150.
5. Pizarro M, Lima MJ, Domingues J, Gouveia AC, Monteiro A, Carrageta M, de Freitas AF. Antihypertensive effect of fosinopril in mild hypertension. *Rev Port Cardiol* 1996; 15: 495-497.
6. Rosolova H, Cech J, Seřna Effectiveness and tolerance of fosinopril in the treatment of arterial hypertension of mild and medium severity. *Vnitr Lek* 2001; 47: 834-839.
7. Wang Z, Morris KR, Chu B. Aggregation behavior of fosinopril sodium-a new angiotensin –converting enzyme inhibitor. *J Pharm Sci* 1995; 84: 609-613.
8. Karpov YA. FLAG-a program of achievability of target blood pressure levels during treatment of patients with hypertension with fosinopril. *Kardiologiia* 2002; 42: 52-57.
9. Singhvi SM, Duchin KL, Morrison RA, Willard DA, Everett DW, Frantz M. Disposition of fosinopril sodium in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol* 1998; 25: 9-15.
10. Schoondyke JW, Mohan R, Kelly JL, Ponder MA, Iskandar S, Douglas JE. Fosinopril-induced hepatotoxicity in a complex medical patient. *Tenn Med* 2002; 95: 155-156.
11. Parodi A, Cozzani E, Milesi G, Drosera M, Reborra A. Fosinopril as a possible pemphigus-inducing drug. *Dermatology* 2002; 204: 139-141.
12. Pahor M, Franse LV, Deitche SR, Cushman WC, Johnson KC, Shorr RI, Kottke-Marchant K, Tracy RP, Somes GW, Applegate WB. Fosinopril versus amlodipine comparative treatments study: a randomized trial to assess effects on plasminogen activator inhibitors-1. *Circulation* 2002; 105: 457-461.
13. Angulo E, Robles NR, Grois J, Barquero A, Perez Miranda M. Comparison of the antihypertensive activity of fosinopril and irbesartan. *An Med Interna* 2002; 19: 571-575.
14. Agaev MM, Azizov VA. Efficacy of combined use of fosinopril and propranolol in acute myocardial infarction. *Kardiologiia* 2003; 43: 29-34.

15. Shinghvi SM, Dunchin KL, Morrison RA, Willard DA, Everett DW, Frantz M. Disposition of fosinopril sodium in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol* 1988;25:9-15.
16. Krum H, Skiba M, Gilbert RE. Comparative metabolic effects of hydrochlorothiazide and indapamide in hypertensive diabetic patients receiving ACE inhibitors therapy. *Diabet Med* 2003; 20: 708-712.
17. Cremonesi G, Cavalieri L, Cikes I, Dobovisek J, Bacchelli S, Degli Esposti D, Costa FV, Borghi C, Ambrosioni E. Fixed combination of delapril plus indapamide vs fosinopril plus hydrochlorothiazide in mild to moderate essential hypertension. *Adv Ther* 2002; 19: 129-137.
18. Guthire R, Reggi Dr, Plesher MM, Saini RK, Battikha JP. Efficacy and safety of fosinopril/hydrochlorothiazide combinations on ambulatory blood pressure profiles in hypertension. *Am J Hypertens* 1996; 9: 306-311.
19. Hillaert S, De Grauwe K, Van den Bossche W. Simultaneous determination of hydrochlorothiazide and several inhibitors of angiotensin-converting enzyme by capillary electrophoresis. *J Chromatogr A* 2001; 924: 439-349.
20. Paraskewas D, Demetrius G. Novel flow injection spectrophotometric determination of fosinopril using UV-assisted digestion and an orthophosphate calibration graph. *Analytica Chimica Acta* 2003; 481: 321-326.
21. Jemal M, Huang M, Mao Y, Whigan D, Schuster A. Liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry method for the quantitation of fosinoprilat in human serum using automated 96-well solid-phase extraction for sample preparation. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2000; 14: 1023-1028.
22. Erk, N. Simultaneous determination of fosinopril and hydrochlorothiazide in pharmaceutical formulations by spectrophotometric methods. *J Pharm Biomed Anal* 2002; 27: 901-912.