

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОФІЛІВ ДЕГРАДАЦІЇ РАМІПРИЛУ ТА ГІДРОХЛОРТІАЗИДУ ЯК ЕТАП РОЗРОБКИ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ДОМІШОК У КОМБІНОВАНОМУ ПРЕПАРАТІ

Вступ. Для виробників лікарських засобів важливим є гарантування якості препарату протягом терміну придатності. Тому методи контролю якості повинні бути придатними для дослідження стабільності препаратів.

Мета дослідження – дослідити профіль деградації раміприлу та гідрохлортіазиду і встановити можливість використання розробленої методики для одночасного визначення домішок обох компонентів у комбінованому препараті.

Методи дослідження. При проведенні дослідження використовували стандартні зразки раміприлу, гідрохлортіазиду та раміприлу домішок А, В, С, D (USP RS), реактиви класу А, таблетки раміприлу по 2,5 мг та раміприлу з гідрохлортіазидом 10 мг/12,5 мг. Зразки аналізували на рідинному хроматографі з діод-но-матричним детектором Agilent 1260. Застосовували колонку Inertsil ODS-3 (4,6×150×3 мкм); рухома фаза А – 0,2 г/л розчину натрій гексансульфонату (рН 2,7); рухома фаза Б – ацетонітрил; швидкість рухомої фази – 1,5 мл/хв; довжина хвилі детектування – 210 нм; температура колонки – 45 °С, градієнтний режим елюювання.

Результати й обговорення. Попередньо ми розробили метод ВЕРХ для визначення раміприлу в таблетках, який апробували в дослідженнях для вивчення профілів деградації. При дії стресових факторів на плацебо препарату жодних додаткових піків не виявлено. Найбільш значний вплив на деградацію як раміприлу, так і гідрохлортіазиду чинив лужний гідроліз. Продукти деградації гідрохлортіазиду мали час утримування від 2 до 5 хв, раміприлу – від 10 до 20 хв.

Висновки. Розроблена методика може забезпечити одночасне визначення домішок раміприлу та гідрохлортіазиду при контролі стабільності комбінованого препарату.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: супровідні домішки; раміприл; гідрохлортіазид; таблетки; рідинна хроматографія.

ВСТУП. Гіпертонічна хвороба є найпоширенішим захворюванням, яке супроводжується високою смертністю людей працездатного віку та інвалідністю від серцево-судинних і цереброваскулярних захворювань [1]. Увага дослідників зосереджена на вивченні методів аналізу інгібіторів ангіотензинперетворювального ензиму в лікарських засобах та їх оптимізації. Раміприл є несольфгідрилним інгібітором ангіотензинперетворювального ензиму з антигіпертензивною дією [2]. У монографії щодо раміприлу Європейської Фармакопеї (Ph. Eur.) [3] та Фармакопеї США (USP) [4] описано метод ВЕРХ для перевірки домішок раміприлу як діючої речовини [3] і таблеток раміприлу [4]. Недоліками цього методу є тривалий час хроматографування і витра-

© К. В. Типлинська, Л. С. Логойда, 2023.

та значного об'єму рухомої фази. Монографія щодо раміприлу Ph. Eur. [3] регламентує титриметричний метод (алкаліметрію) для визначення раміприлу як діючої речовини. Недоліком цього методу є неможливість використання для аналізу лікарських форм раміприлу.

Згідно з літературними даними, раміприл був стійким до дії УФ-випромінювання [5–7], гідрохлортіазид за дії УФ-випромінювання або не деградував взагалі [8], або деградував незначно [9, 10]. Оскільки обидві діючі речовини стійкі до УФ-випромінювання, цієї стресової дії надалі не досліджували.

Витримка при підвищеній температурі на гідрохлортіазид також не мала значного впливу [8–10]. При нагріванні раміприлу продуктів деградації також не виявлено [6, 7]. Тоді як під

час тривалого нагрівання (21 день при 70 °С) спостерігали збільшення вмісту раміприлу дикетопіперазину [5].

При дії кислот на гідрохлортіазид вдалось досягти значної деградації – утворення 15 % 4-аміно-6-хлорбензен-1,3-дисульфонаміду (Ph. Eur. домішка В) за дії 1 М НСІ протягом 0,5 год при 80 °С [8]. Хоча за більш жорстких умов значної деградації досягти не вдалось [9]. Тоді як раміприл проявляв нестабільність до дії кислот. За дії 0,1 М НСІ упродовж 12 год при 40 °С зруйнувалось понад 66 % раміприлу [6]. Основними продуктами деструкції були раміприлат та раміприл дикетопіперазин.

Гідрохлортіазид проявляв меншу стійкість до дії лугів, ніж до дії кислот [8–10]. Основним продуктом деструкції, як і при кислотному гідролізі, був 4-аміно-6-хлорбензен-1,3-дисульфонамід [8]. Дані щодо стабільності раміприлу до дії лугів суперечливі. За дії 0,1 М NaOH протягом 5 хв при 60 °С зруйнувалось 34,6 % раміприлу [5]. Тоді як, відповідно до [6], за дії такої ж концентрації лугу впродовж 12 год при 40 °С деградації майже не спостерігали, що узгоджується з даними [7].

До дії окиснювачів гідрохлортіазид також проявляв стійкість. Для отримання продуктів деструкції його витримували в 30 % перекисі водню при підвищенні температури (60 °С) [9, 10]. Раміприл проявляв приблизно такий же рівень деградації за дії 30 % перекису водню при температурі 40 °С [6].

Досліджували дію стресових факторів на чисту субстанцію [6–9], таблетки [10], субстанцію з додаванням внутрішнього стандарту [5]. Кислоту, луг чи окиснювач додавали до метанольного розчину [5, 9, 10], речовини [6–8] або точного алгоритму не було описано. Тобто на утворення продуктів деструкції впливає не лише природа речовини та інтенсивність дії, а й склад розчину. Тому для подальших досліджень використовували порошок розтертих таблеток. Кислоту, луг або перекис водню додавали безпосередньо до зразка для уникнення впливу органічного розчинника на результат.

Мета дослідження – дослідити профіль деградації раміприлу та гідрохлортіазиду і встановити можливість використання розробленої методики для одночасного визначення домішок обох компонентів у комбінованому препараті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.

Стандартні зразки: раміприл (0,993 мг/г), гідрохлортіазиду (0,997 мг/г), раміприлу домішки А, В, С, D (USP RS).

Реактиви: кислота хлористоводнева 37 % (“Fluka”), натрій гідроксид, перекис водню 30 %, ацетонітрил, кислота фосфорна (“Sigma-Aldrich”), натрій гексансульфонат (“Supelco”).

ацетонітрил, кислота фосфорна (“Sigma-Aldrich”), натрій гексансульфонат (“Supelco”).

Досліджувані зразки: таблетки раміприлу по 2,5 мг і раміприлу з гідрохлортіазидом 10 мг/12,5 мг, які зберігали протягом 9 місяців при температурі 30 °С та відносній вологості 75 %, і свіжоприготовлене плацебо цих препаратів.

Обладнання: рідинний хроматограф з діодно-матричним детектором Agilent 1260, аналітичні ваги Mettler Toledo XPE-205 та рН-метр Mettler Toledo Seven Easy.

Умови хроматографування: застосовували колонку Inertsil ODS-3 (4,6×150×3 мкм); рухома фаза А – 0,2 г/л розчину натрій гексансульфонату (рН 2,7); рухома фаза Б: ацетонітрил; швидкість рухомої фази – 1,5 мл/хв; довжина хвилі детектування – 210 нм; температура колонки – 45 °С, градієнтний режим елюювання відповідно до таблиці 1 [11].

Таблиця 1 – Градієнт елюювання

Час хроматографування, хв	Рухома фаза А, %	Рухома фаза Б, %
0	86	14
6	86	14
18	39	61
20	39	61
22	86	14
25	86	14

Приготування розчинів.

Як розчинник для зразків використовували суміш рухомої фази А:рухомої фази Б (1:1 об/об).

Контрольний зразок таблеток – наважку препарату (чи плацебо препарату), еквівалентну 25 мг раміприлу (для монопрепарату) або 25 мг раміприлу та 31,25 мг гідрохлортіазиду, розчиняли в розчиннику і доводили до об'єму 25 мл. Отриманий розчин розводили в 10 разів розчинником.

Для дослідження впливу температури таблеток раміприлу, раміприлу з гідрохлортіазидом та їх плацебо витримували при 60 °С упродовж 24 год, далі готували розчини, як контрольний зразок.

З метою дослідження кислотного гідролізу наважку препарату чи плацебо, як для контрольного зразка, розчиняли в 5 мл 0,1 М НСІ і витримували при кімнатній температурі протягом 12 год (для комбінованого препарату) або при температурі 60 °С упродовж 2 год (для монопрепарату). Далі додавали 5 мл 0,1 М NaOH та доводили розчин до об'єму 25 мл ацетонітрилом. Отриманий розчин розводили в 10 разів розчинником.

З метою дослідження лужного гідролізу наважку препарату чи плацебо, як для конт-

рольного зразка, розчиняли в 5 мл 0,1 М NaOH і витримували при кімнатній температурі протягом 12 год (для комбінованого препарату) або впродовж 1 год (для монопрепарату). Далі додавали 5 мл 0,1 М HCl та доводили розчин до об'єму 25 мл ацетонітрилом. Отриманий розчин розводили в 10 разів розчинником.

З метою дослідження окиснення наважку препарату чи плацебо, як для контрольного зразка, розчиняли в 5 мл 3 % розчину H_2O_2 і витримували при кімнатній температурі протягом 12 год (для комбінованого препарату) або при температурі 60 °C упродовж 2 год (для монопрепарату).

Готували три розчини порівняння з такими концентраціями: раміприл 0,1 мг/мл/гідрохлортіазид 0,125 мг/мл; раміприл 5 мкг/мл/гідрохлортіазид 6,25 мкг/мл; раміприл 1 мкг/мл/гідрохлортіазид 1,25 мкг/мл.

Для ідентифікації домішок раміприлу використовували розчин, що містить по 2 мкг/мл раміприлу домішок А, В, С, D та раміприлу в розчиннику.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Методи контролю вмісту супровідних домішок у лікарських засобах повинні забезпечувати надійне виявлення продуктів деградації активних компо-

нентів. Для демонстрації спроможності аналітичних методик надійно оцінювати продукти деградації аналізують зразки, які піддаються різним стресовим діям (наприклад, нагрівання, окиснення, кислотний/лужний гідроліз та ін.) [12].

Попередньо ми розробили метод ВЕРХ для визначення раміприлу в таблетках [11], який апробували в дослідженнях для вивчення профілів деградації. У плацебо препарату (вихідному зразку та у зразках, що підлягали стресовим діям) не виявлено жодних піків, які могли б інтерферувати з піками раміприлу, гідрохлортіазиду або їх домішок. У зразках плацебо, що підлягали стресовим діям, не утворювалось жодних додаткових піків порівняно з контрольним зразком. Тобто ні компоненти плацебо, ні їх можливі продукти деградації не впливають на можливість визначення супровідних домішок раміприлу або гідрохлортіазиду.

На рисунках 1–5 наведено типові хроматограми раміприлу за умов дослідження профілів деградації.

У вихідному зразку таблеток раміприлу з гідрохлортіазидом домішок гідрохлортіазиду не виявлено. Деградації гідрохлортіазиду під дією температури не спостерігали. При дії кислоти, луку та окисника утворювалась домішка з

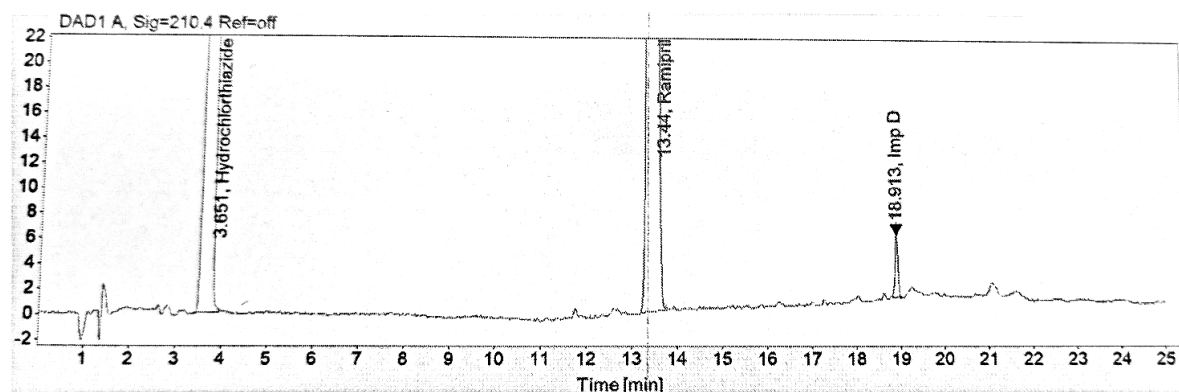


Рис. 1. Хроматограма вихідного зразка раміприлу та гідрохлортіазиду.

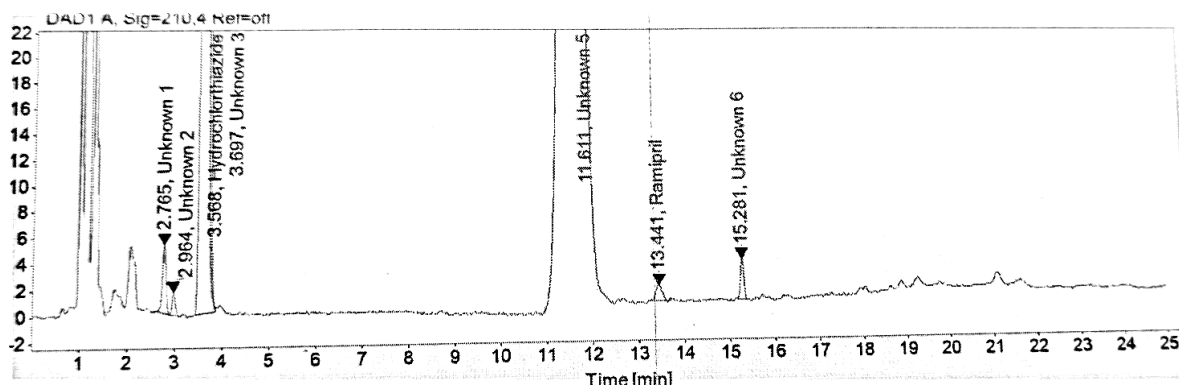


Рис. 2. Хроматограма розчину раміприлу та гідрохлортіазиду під дією лужного гідролізу.

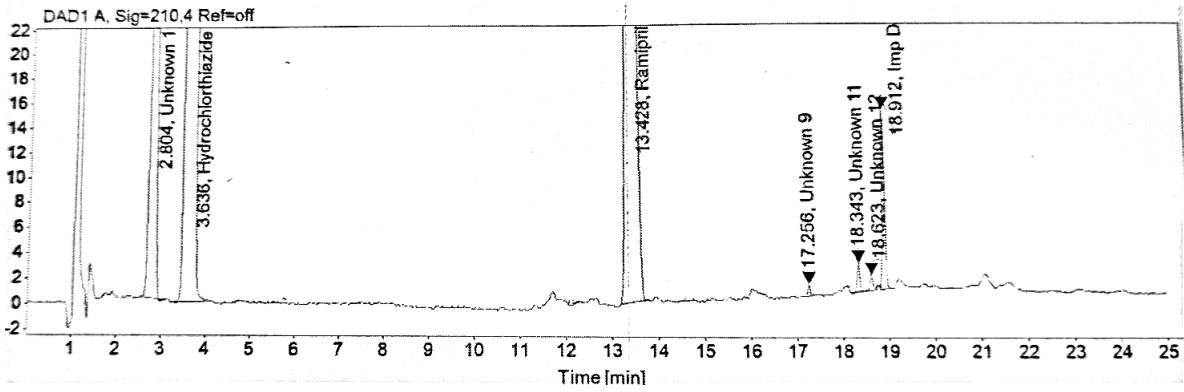


Рис. 3. Хроматограма розчину раміприлу та гідрохлортіазиду під дією окиснення.

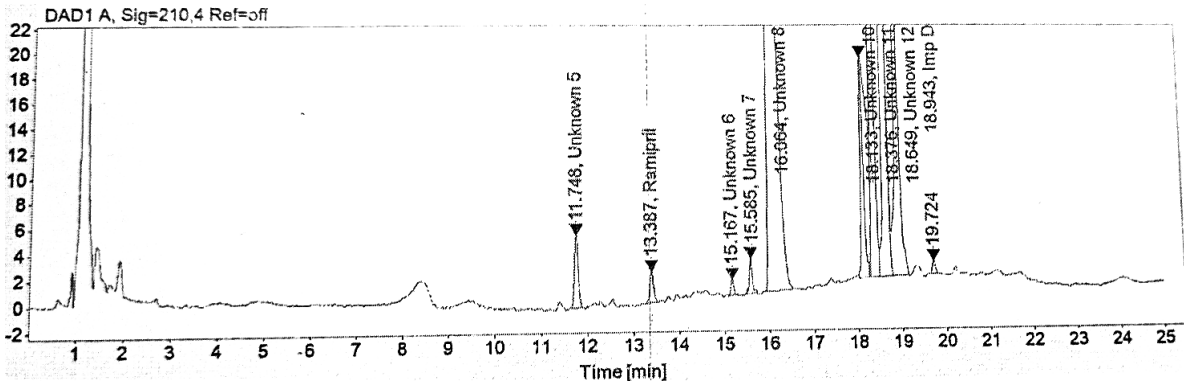


Рис. 4. Хроматограма розчину раміприлу під дією окиснення.

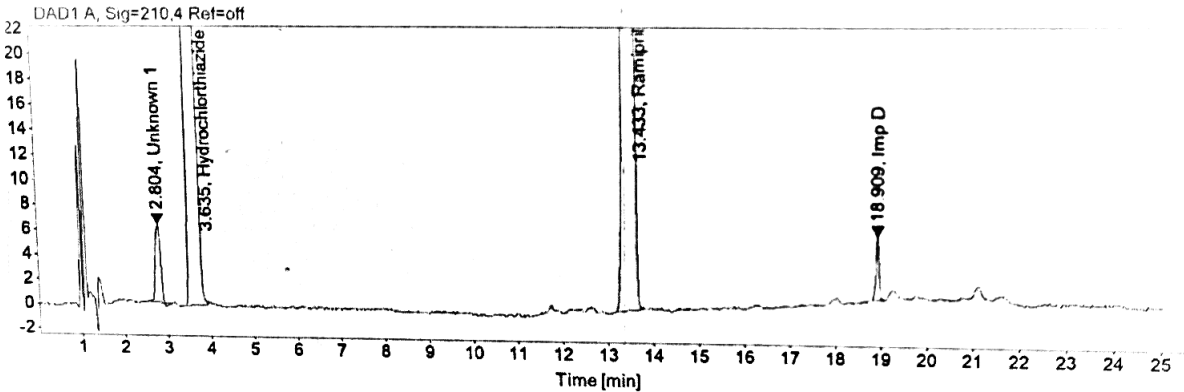


Рис. 5. Хроматограма розчину раміприлу та гідрохлортіазиду під дією кислотного гідролізу.

відносним часом утримування (щодо гідрохлортіазиду) 0,77. Найбільше її утворювалось при дії окисника. Найвищу кількість продуктів деградації спостерігали при лужному гідролізі (виявлено з RRT 0,77, RRT 0,83 та RRT 1,04). Результати визначення вмісту домішок гідрохлортіазиду наведено в таблиці 2.

У вихідному зразку таблеток раміприлу з гідрохлортіазидом було виявлено домішку раміприлу – дикетопіперазин (Ph. Eur. домішка D) у кількості 0,924 %. При дії кислоти вміст домішок раміприлу не змінювався. Дія температури сприяла збільшенню вмісту домішки D, з'являлась домішка раміприлату (Ph. Eur. до-

мішка E). У результаті окиснення вміст домішки D зростав і виникали додаткові піки (відносний час утримування (щодо піка раміприлу) 1,28, 1,37 та 1,39). При лужному гідролізі раміприл майже повністю перетворювався в раміприлат. Результати визначення вмісту домішок раміприлу наведено в таблиці 3.

За результатами деградації комбінованого препарату, умови дії на монопрепарат вирішили змінити. Оскільки в лужному середовищі раміприл повністю зруйнувався, то час витримки з лугом скоротили до 1 год. Витримку з кислотою та окисником скоротили до 2 год, однак підвищили температуру до 60 °С.

Таблиця 2 – Вміст домішок гідрохлортіазиду в комбінованому препараті після стресової дії

Аналіт	Вихідний зразок	Стрессова дія			
		60 °C 24 год	5 мл 0,1 М HCl 12 год	5 мл 0,1 М NaOH 12 год	5 мл 0,3 % H ₂ O ₂ 12 год
Домішка 1 (RRT 0,77), %	нмд	нмд	0,887	0,475	6,446
Домішка 2 (RRT 0,83), %	нмд	нмд	нмд	0,140	нмд
Домішка 3 (RRT 1,04), %	нмд	нмд	нмд	2,467	нмд
Гідрохлортіазид, %	100,567	99,867	98,345	95,836	92,479
Сума, %	100,567	99,867	99,232	98,917	98,925

Примітка. Тут і в таблицях 3, 4: нмд – нижче межі детектування.

Таблиця 3 – Вміст домішок раміприлу в комбінованому препараті після стресової дії

Аналіт	Вихідний зразок	Стрессова дія			
		60 °C 24 год	5 мл 0,1 М HCl 12 год	5 мл 0,1 М NaOH 12 год	5 мл 0,3 % H ₂ O ₂ 12 год
Домішка Е (RRT 0,86), %	нмд	0,190	нмд	100,959	нмд
Домішка 4 (RRT 1,12), %	нмд	нмд	нмд	0,689	нмд
Домішка 7 (RRT 1,28), %	нмд	нмд	нмд	нмд	0,137
Домішка 9 (RRT 1,37), %	нмд	нмд	нмд	нмд	0,393
Домішка 10 (RRT 1,39), %	нмд	нмд	нмд	нмд	0,243
Домішка D (RRT 1,41), %	0,924	3,184	0,967	нмд	2,522
Раміприл, %	98,118	94,528	97,784	0,543	92,730
Сума, %	99,043	97,802	98,751	102,190	96,025

У вихідному зразку монопрепарату раміприлу було виявлено домішку D у кількості 4,674 % та неспецифіковану домішку з відносним часом утримування (щодо піка раміприлу) 1,16. При дії температури дещо збільшувався вміст домішки D та з'являлась домішка з RRT 1,34. За умов дії кислоти при нагріванні деградації не спостерігали. При дії луку раміприл та його домішка D повністю зруйнувались, навіть у разі зменшення часу витримки. Підвищення температури при дослідженні окиснення призвело до

повного руйнування раміприлу з утворенням восьми продуктів деградації. Результати визначення вмісту домішок раміприлу наведено в таблиці 4.

Сумарний вміст гідрохлортіазиду та його домішок незначно відрізнявся від 100 %, так само, як і сумарний вміст раміприлу та його домішок. Це дозволяє припустити, що всі продукти деградації обох АФІ було враховано. Також це підтверджує можливість розрахунку вмісту домішок за піком основної речовини.

Таблиця 4 – Вміст домішок раміприлу в монопрепараті після стресової дії

Аналіт	Вихідний зразок	Стрессова дія			
		60 °C 24 год	5 мл 0,1 М HCl 60 °C 2 год	5 мл 0,1 М NaOH 2 год	5 мл 0,3 % H ₂ O ₂ 60 °C 2 год
Домішка Е (RRT 0,86), %	нмд	нмд	нмд	97,968	1,380
Домішка 4 (RRT 1,12), %	нмд	нмд	нмд	нмд	0,257
Домішка 5 (RRT 1,16), %	0,398	0,431	0,437	0,312	0,555
Домішка 6 (RRT 1,19), %	нмд	нмд	нмд	нмд	35,985
Домішка 8 (RRT 1,34), %	нмд	1,118	нмд	0,478	3,609
Домішка 9 (RRT 1,37), %	нмд	нмд	нмд	нмд	16,298
Домішка 10 (RRT 1,39), %	нмд	нмд	нмд	нмд	35,358
Домішка D (RRT 1,41), %	4,674	5,698	4,949	нмд	9,813
Раміприл, %	95,498	91,409	92,063	нмд	0,599
Сума, %	100,570	98,656	97,449	98,758	103,854

Продукти деградації гідрохлортіазиду елюювались у діапазоні часу утримування від 2 до 5 хв, раміприлу – від 10 до 20 хв. Тобто методика дозволяє відокремити домішки кожної з діючих речовин.

ВИСНОВКИ. Розроблена методика придатна для одночасного контролю вмісту до-

мішок раміприлу та гідрохлортіазиду в комбінованому препараті. Також вона дозволяє оцінювати якість препарату впродовж терміну придатності. Оскільки раміприл є нестійким у лужному середовищі, то склад препарату та розчинники, які використовують при приготуванні зразків, не повинні містити лужних компонентів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab_3
2. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ramipril>
3. European Pharmacopoeia (2022) European Pharmacopoeia 11st edn. – Access mode: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph.-eur.-11th-edition>(accessed on 22 March 2023).
4. Pharmacopoeia, U. S., Pharmacopoeia, U. S. National Formulary, The United States Pharmacopoeial Convention. Inc., Rockville, MD. – 2021. – Access mode: <https://www.uspnf.com> (accessed on 22 March 2023).
5. Stress degradation studies of ramipril by a validated stability-indicating liquid chromatographic method / M. De Diego, G. Godoy, S. Mennickent [et al.] // *Journal of the Chilean Chemical Society*. – 2010. – No. 55 (4). – P. 450–453.
6. Lakshmi K. S. A stability indicating HPLC method for the simultaneous determination of valsartan and ramipril in binary combination / K. S. Lakshmi, L. Sivasubramanian // *Journal of the Chilean Chemical Society*. – 2010. – No. 55 (2). – P. 223–226.
7. Yb M. L. Stability indicating RP-HPLC method for determination of ramipril in pure and pharmaceutical formulation / M. L. Yb // *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. – 2013. – P. 158–161.
8. Mahajan A. A. LC, LC-MS/MS studies for the identification and characterization of degradation products of hydrochlorothiazide and establishment of mechanistic approach towards degradation / A. A. Mahajan, A. K. Thaker, K. Mohanraj // *Journal of the Brazilian Chemical Society*. – 2012. – No. 23. – P. 445–452.
9. Bhagwate S. Stability indicating HPLC method for the determination of hydrochlorothiazide in pharmaceutical dosage form / S. Bhagwate, N. Gaikwad // *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. – 2013. – No. 3 (2). – P. 088–092.
10. Rao A. L. Stability indicating RP-HPLC method for simultaneous Determination of telmisartan and hydrochlorothiazide in Pharmaceutical dosage form / A. L. Rao, D. Varma, S. C. Dinda // *Int Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*. – 2012. – No. 2 (3). – P. 382–391.
11. Typlynska K. Development of Methods of Quality Control of the Tablets "Ramipril" / K. Typlynska, Y. Kondratova, L. Logoyda // *Scientia Pharmaceutica*. – 2023. – No. 91 (2). – P. 21.
12. Snyder L. R. Introduction to modern liquid chromatography / L. R. Snyder, J. J. Kirkland, J. W. Dolan // John Wiley & Sons. – 2011.

REFERENCES

1. https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases#tab=tab_3
2. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ramipril>
3. European Pharmacopoeia. (2022). European Pharmacopoeia (11st edn.). Retrieved from: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph.-eur.-11th-edition> (accessed on 22 March 2023).
4. Pharmacopoeia, U. S., & Pharmacopoeia, U. S. (2021). National Formulary, The United States Pharmacopoeial Convention. Inc., Rockville, MD. Retrieved from: <https://www.uspnf.com> (accessed on 22 March 2023).
5. De Diego, M., Godoy, G., Mennickent, S., Olivares, M., & Godoy, R. (2010). Stress degradation studies of ramipril by a validated stability-indicating liquid chromatographic method. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 55(4), 450-453.
6. Lakshmi, K.S., & Sivasubramanian, L. (2010). A stability indicating HPLC method for the simultaneous determination of valsartan and ramipril in binary combination. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 55(2), 223-226.
7. Yb, M.L. (2013). Stability indicating RP-HPLC method for determination of ramipril in pure and pharmaceutical formulation. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 158-161.
8. Mahajan, A.A., Thaker, A.K., & Mohanraj, K. (2012). LC, LC-MS/MS studies for the identification and characterization of degradation products of hydrochlorothiazide and establishment of mechanistic approach towards degradation. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 23, 445-452.
9. Bhagwate, S., & Gaikwad, N.J. (2013). Stability indicating HPLC method for the determination of hydrochlorothiazide in pharmaceutical dosage form. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(2), 088-092.
10. Rao, A.L., Varma, D., & Dinda, S.C. (2012). Stability indicating RP-HPLC method for simultaneous Determination of telmisartan and hydrochlorothiazide in Pharmaceutical dosage form. *Int Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 2(3), 382-391.
11. Typlynska, K., Kondratova, Y., & Logoyda, L. (2023). Development of Methods of Quality Control of the Tablets "Ramipril". *Scientia Pharmaceutica*, 91(2), 21.
12. Snyder, L.R., Kirkland, J.J., & Dolan, J.W. (2011). *Introduction to modern liquid chromatography*. John Wiley & Sons.

Отримано 04.10.2023

Адреса для листування: К. В. Типлинська, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, вул. Руська, 36, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: typlynska_kv@tdmu.edu.ua.

STUDY OF THE DEGRADATION PROFILES OF RAMIPRIL AND HYDROCHLOROTHIAZIDE AS A STAGE IN THE DEVELOPMENT OF METHOD FOR DETERMINATION IMPURITIES IN THE COMBINED DOSAGE FORM

Summary

Introduction. It is important for drug manufacturers, to guarantee the quality of the drug product during the shelf life. Therefore, quality control methods should be suitable stability testing.

The aim of the study – to investigate the degradation profile of ramipril and hydrochlorothiazide and establish the possibility of using the developed method for the simultaneous determination of impurities of both components in the combined preparation.

Research Methods. The research used standard samples of ramipril, hydrochlorothiazide and ramipril impurities A, B, C, D (USP RS), class A reagents, 2.5 mg tablets of Ramipril and Ramipril with Hydrochlorothiazide 10 mg/12.5 mg. The samples were analyzed on a liquid chromatograph with an Agilent 1260 diode array detector. An Inertsil ODS-3 column (4.6×150×3 μm) was used; mobile phase A – 0.2 g/l sodium hexanesulfonate solution (pH 2.7); mobile phase B: acetonitrile; mobile phase speed 1.5 ml/min; detection wavelength – 210 nm; column temperature – 45 °C, gradient elution mode.

Results and Discussion. We have previously developed an HPLC method for the determination of ramipril in tablets, which we tested in our studies to study the degradation profiles. Under the influence of stress factors on the placebo drug, no additional peaks were detected. Alkaline hydrolysis has the most significant effect on the degradation of both ramipril and hydrochlorothiazide. Degradation products of hydrochlorothiazide have retention times from 2 to 5 min, ramipril from 10 to 20 min. That is, the developed methodology allows to determine impurities of both active substances.

Conclusions. The developed analytical procedure can provide simultaneous determination of impurities of ramipril and hydrochlorothiazide while stability testing of the combined dosage form.

KEY WORDS: **related substances; ramipril; hydrochlorothiazide; tablets; liquid chromatography.**