

Samples of Comparison for Visual Binary Testing of p-Chloroaniline as Impurity in Substance Chlorhexidine Digluconate

E.A. Reshetnyak*, A.Yu. Solokha, A.A. Khadzhikova, A.V. Panteleimonov

V.N. Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq. 4, Kharkiv, 61022, Ukraine; *e-mail: reshetnyak@univer.kharkov.ua;

Received: August 18, 2017; Accepted: December 11, 2017

DOI: 10.17721/moca.2017.123-129

For the visual detection of the impurity - p-chloroaniline (p-CA) at the level of its limiting content in the substance chlorhexidine digluconate (CH), it was suggested to use the screening methodology - binary testing using a single sample of comparison. Two indicator reactions were selected: the reaction in a solution of diazotized p-CA with N-naphthylethylenediamine (sample of comparison 1) and the chemisorption reaction of diazotized p-CA with polyurethane foam (sample of comparison 2). For establishing the concentration of p-CA in the samples of comparison a statistical approach that previously had used for estimating the limit of detection for visual test methods, was applied. Estimated value of the threshold concentration of p-CA less than the normalized level on the value which providing the risk of false-negative test result not more than 5%. Accuracy of the visual binary testing of p-CA in the chlorhexidine digluconate substance was confirmed by spectrophotometric, chromatographic methods and diffuse reflection spectroscopy.

Keywords: p-chloroaniline, chlorhexidine, normalized concentration, spectrophotometry, visual binary testing

Образцы сравнения для визуального бинарного тестирования примеси п-хлоранилина в субстанции хлоргексидина

E.A. Решетняк, А.Ю. Солоха, А.А. Хаджилова, А.В. Пантелеймонов

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, 4, пл. Свободы, Харьков, Украина, 61022;

*e-mail: reshetnyak@univer.kharkov.ua

Поступила: 18 августа 2017 г; Принята: 11 декабря 2017 г

DOI: 10.17721/moca.2017.123-129

Для визуального обнаружения примеси п-хлоранилина (п-ХА) на уровне его предельного содержания в субстанции хлоргексидина диглюконата (ХГ) предложено использовать методологию скрининга – бинарное тестирование с применением одного образца сравнения. Выбраны две индикаторные реакции: реакция взаимодействия в растворе диазотированного п-ХА с N-нафтилэтилендиамином (образец сравнения 1) и реакция хемосорбционного взаимодействия диазотированного п-ХА с пенополиуретаном (образец сравнения 2). При установлении концентрации п-ХА в образцах сравнения применили статистический подход, ранее использованный для оценки предела обнаружения визуальных тест-методик. Оцененные значения пороговой концентрации п-ХА меньше нормируемого показателя на величину, обеспечивающую риск ложноотрицательного результата тестирования не более 5%. Правильность визуального бинарного тестирования п-ХА в субстанции хлоргексидина диглюконата подтвердили методами спектрофотометрии, хроматографии и спектроскопии диффузного отражения.

Ключевые слова: п-хлоранилин, хлоргексидин, нормированная концентрация, спектрофотометрия, визуальное бинарное тестирование

Контроль и мониторинг примесей является важным вопросом при разработке и производстве лекарственных средств, количество которых с каждым годом увеличивается. Повышение требований к качеству фармацевтических препаратов, необходимость быстрого обнаружения бракованной продукции требует разработки новых методов анализа, в том числе достаточно дешевых и доступных методов экспресс-контроля [1, 2].

Широко известные фармацевтические препараты, содержащие хлоргексидин (ХГ),

обладают дезинфицирующим, антисептическим, противомикробным, противогрибковым и противовирусным действием. Обычно их используют в виде растворов ХГ разной концентрации для наружного применения. Хлоргексидин (1,6-ди-(пара-хлорфенилгуанидо)-гексан, рис. 1) выпускается в виде солей диацетата, диглюконата или дигидрохлорида. Диглюконат, благодаря его высокой растворимости в воде, наиболее часто используют в стоматологии, дерматологии и косметологии [3].

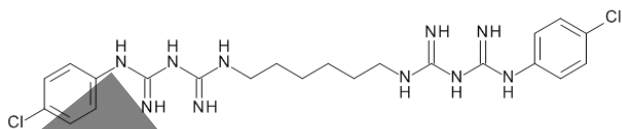


Рис. 1. Структурная формула хлоргексидина.

Исходными веществами при синтезе ХГ являются гексаметилен-бис-дициандиаמיד, дигидрохлорид *p*-хлоранилина и β -этоксизтанол [4]. Конечный продукт может содержать примеси исходных веществ, в частности, примесь *p*-хлоранилина (*p*-ХА), который может образоваться в лекарственном препарате со временем в результате разложения ХГ, а также при его неправильном хранении [3, 5]. Метаболит *p*-ХА обнаруживали в слюне послеоперационных пациентов после недельного использования ими жидкости для полоскания рта, содержащей 0.2% ХГ [6].

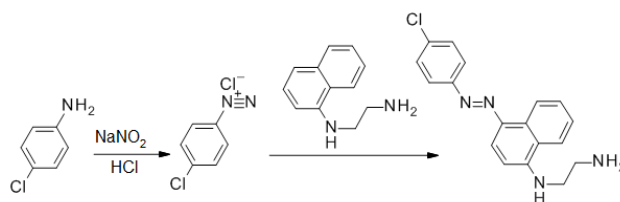
p-ХА – сильный метгемоглобинообразователь, вызывающий дегенеративные изменения эритроцитов; он может поражать центральную нервную систему, печень и почки; является токсичным при вдыхании, проглатывании или всасывании через кожу [7]. Международное агентство по исследованию рака (IARC 2006) классифицировало *p*-ХА в группе 2В, т.е. признало потенциально канцерогенным для человека [3]. Поэтому обнаружение и определение *p*-ХА в лекарственных препаратах на основе ХГ имеет решающее значение для обеспечения безопасного их использования. Содержание примеси *p*-ХА в чистой субстанции хлоргексидина нормируется, оно не должно превышать 0.05% по массе [8-10].

Испытание на предельное содержание примесей является обязательным разделом современных Фармакопей, эту процедуру называют «limit test» [8-10], «випробування на граничний вміст домішок» [11]. Для испытания чаще используют тонкослойную хроматографию или визуальное тестирование.

Выбор метода контроля *p*-ХА зависит от агрегатного состояния объекта анализа, его природы и происхождения, количественного содержания самой примеси, места и времени анализа и др. В фармацевтическом анализе сложных по составу объектов очевидное преимущество отдают хроматографии [3, 5, 6, 10, 12]. Так, метод ВЭЖХ с УФ- и масс-детектированием применяли для определения *p*-ХА в растворах ХГ, используемых для ополаскивания полости рта и в качестве глазных капель [3, 6, 12]: в медицинских препаратах одновременно детектировали ХГ и *p*-ХА [12], а в слюне больных после ополаскивания рта одновременно детектировали изомеры *p*-, *m*- и *o*-ХА [6]. Комбинация методов твердофазной экстракции и ВЭЖХ дала возможность авторам [5] успешно определять в пробах биологического

материала (сыворотки крови и мочи) содержание ХГ и продуктов его разложения – 4-хлоранилина и 1-хлор-4-нитробензола.

Несколько реже для определения *p*-ХА используют спектрофотометрический метод, основанный на детектировании окрашенного продукта реакции, например, основания Шиффа, образующегося из *p*-ХА и *p*-диметиламинобензальдегида в кислой среде [13]. В Европейской и в Международной фармакопее [8, 9] приведены методики спектрофотометрического определения *p*-ХА в субстанции ХГ. В основе определения лежит цветная реакция азосочетания диазотированного *p*-ХА с *N*-(1-нафтил)-этилендиамином (реакция 1), продуктом реакции является 4-(4'-хлорфенилазо)-*N*-(2-аминоэтил)-1-нафтиламин (ХФАН). Эту же реакцию использовали для определения примесей первичных ароматических аминов, в том числе и *p*-ХА, в ациламино-препаратах [14].



(1)

Для экспресс-контроля основных веществ и примесей в фармпрепаратах предложено немало тест-методов, которые не требуют сложного оборудования и длительной пробоподготовки. Индикаторные реакции протекают либо в растворах, либо на сорбентах. Полуколичественную оценку содержания аналитов проводят визуально по цветовой шкале [2]. Доступным и удобным в использовании сорбентом является пенополиуретан (ППУ); он характеризуется мембранной ячеистой структурой, большой площадью поверхности, содержит различные функциональные группы, в том числе реакционноспособные концевые толуидиновые группы [15]. Эти группы являются бифункциональными — кроме реакции диазотирования, они могут вступать в реакцию азосочетания по ароматическому ядру в пара- или орто-положение к аминогруппе. Реакции азосочетания толуидиновых групп ППУ с тетрафторборатом 4-нитрофенилдиазония, с диазотированными 4-нитроанилином, 1-нафтиламином и риванолом применили для сорбционно-спектроскопического и визуально-тестового определения аналитов в различных объектах [15, раздел 5.3].

При анализе массовых проб используют методологию скрининга, которая удобна в тех случаях, когда контролируемый компонент присутствует не во всех пробах или, если и присутствует, то в концентрациях, обычно, ниже нормируемой или заданной каким-то

иным способом величины [2,16-20]. Задача решается с помощью инструментальных или органолептических (чаще визуальных) тест-методов анализа. Вариантами ответов в бинарном тестировании с использованием только одного образца сравнения (при скрининге) могут быть: содержание аналита «больше — меньше» нормируемой (предельной) концентрации ($c_{\text{пред}}$). Если аналит обнаружен или его содержание превышает предельное значение, то следует количественный анализ с использованием подтверждающих методик; отрицательный результат считают правильным и окончательным, к таким пробам процедура количественного анализа не применяется. Поэтому ложный отрицательный результат является более опасным, чем ложный положительный. Это обстоятельство заставляет повышать надежность тест-систем, используемых для скрининга [17, 19].

Уровень концентрации аналита, которой должен соответствовать тест-образец сравнения в бинарном тестировании, необходимо задать ниже нормируемой концентрации настолько, чтобы вероятность пропуска анализируемых проб с содержанием аналита выше $c_{\text{пред}}$ (ложных отрицательных результатов) не превышала заданную, например, 5%. Эту концентрацию называют пороговой и обозначают $c_{\text{сравн}}$ [21].

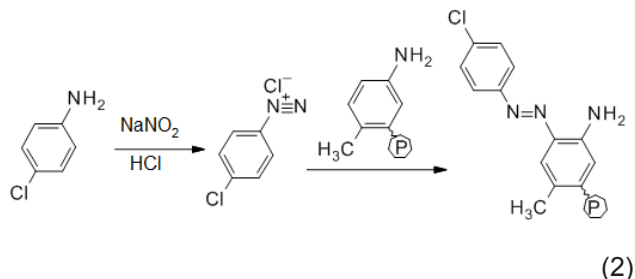
Примеров решения практических задач для скрининга неорганических и органических примесей в объектах анализа разной природы в литературе крайне мало. Нами были предложены образцы для бинарного тестирования неорганических примесей Fe(III), SO_4^{2-} и H_2S в пробах возвратных попутно-пластовых подземных вод [22-24]. Значения пороговой концентрации аналитов в образцах сравнения оценивали статистическим методом, который используют при оценке предела обнаружения визуальных тест-методик [25-28].

В данной работе поставлена задача применить методологию скрининга для визуального обнаружения примеси *p*-хлоранилина на уровне его предельного содержания в субстанции хлоргексидина диглюконата. Подобно «испытанию на предельное содержание примесей», предварительное быстрое обнаружение *p*-ХА нужно будет проводить только с применением одного тест-образца сравнения.

Выбирая тест-системы (индикаторные реакции) для создания образцов сравнения, мы руководствовались следующими требованиями: а) сорбент и реагенты должны быть доступны, чтобы тест-средство можно было изготовить в лабораторных условиях; б) наблюдатель должен обнаруживать различие в интенсивности цвета тест-средств вблизи нормируемой концентрации *p*-ХА.

Для изучения были выбраны две индикаторные реакции: реакция, протекающая

в растворе – взаимодействие диазотированного *p*-хлоранилина с *N*-нафтилэтилендиамином (реакция 1), и реакция хемосорбционного взаимодействия диазотированного *p*-ХА с ППУ в условиях, подобных реакции взаимодействия диазотированного *p*-нитроанилина с ППУ [15], (реакция 2):



Материалы и методики исследований

В работе использовали реактивы квалификации х.ч. или ч.д.а.; применяли *p*-хлоранилин и дигидрохлорид *N*-(1-нафтил)-этилендиамина (НЭДА) с содержанием основного вещества не менее 98% (Acros). Исходные растворы *p*-ХА (75 мг/л и 12.5 г/л), *N*-(1-нафтил)-этилендиамина дигидрохлорида (1 г/л), сульфаминовой кислоты ($\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$, 0.5 моль/л), NaNO_2 (1.5 ммоль/л), Na_2CO_3 (1 моль/л) готовили растворением точных навесок в дистиллированной воде.

Для анализа были взяты образцы водных растворов хлоргексидина диглюконата (субстанция) с массовой долей ХГ 20%: 1) производителя «G. Amphray Laboratories» и 2) образец субстанции, которая предварительно прошла испытания в стрессовых условиях, т.е. в условиях ускоренного старения препаратов (субстанцию выдерживали в течение четырех месяцев в климатической камере при температуре 50°C и влажности ~60%, что эквивалентно правильному хранению препаратов в течение двух лет).

Тест-средства для хемосорбционного определения *p*-ХА готовили из листового пенополиуретана толщиной 10 мм, марки 2240 (на основе смешанных эфиров). Сорбент использовали в виде таблеток диаметром 16 мм, массой ~0.03 г. Таблетки ППУ очищали от примесей, выдерживая 30 мин в растворе 5 моль/л HCl , затем последовательно промывали водой до pH 5-6, ацетоном, отжимали между листами фильтровальной бумаги, сушили на воздухе и хранили при комнатной температуре в темном закрытом месте.

Индикаторную реакцию (1) в растворах для визуально-тестового обнаружения *p*-ХА и определения *p*-ХА спектрофотометрическим методом выполняли согласно схеме [8]: аликвоты исходного раствора *p*-ХА с массовой концентрацией 12.5 мг/л вносили в мерные колбы вместимостью 25.0 мл, добавляли 2.5 мл раствора 1 моль/л HCl и 0.5 мл раствора NaNO_2 . Растворы оставляли на 10 мин, затем для нейтрализации

непрореагировавшей азотистой кислоты добавляли по 1.0 мл раствора сульфаминовой кислоты и вновь оставляли на 10 мин, периодически перемешивая содержимое в колбах. Добавляли по 2.5 мл раствора НЭДА и 0.5 мл этанола; доводили до метки дистиллированной водой, перемешивали и оставляли растворы на 30 мин. Раствор хлоргексидина, взятого для анализа, разбавляли в 10 раз и 5 мл полученного 2%-ного раствора ХГ вносили в мерную колбу вместимостью 25.0 мл, все остальные операции повторяли.

При выполнении гетерогенной индикаторной реакции (2) в бюксы вместимостью 50 мл в строгой последовательности вносили аликвоты раствора *p*-ХА с массовой концентрацией 75 мг/л (или 2.25 мл анализируемого 20%-ного раствора ХГ), дистиллированную воду (до общего объема 5 мл), 5 мл раствора 1 моль/л HCl и 1 мл раствора NaNO₂. Спустя 10 мин, добавляли 4 мл раствора Na₂CO₃ (для создания pH~8-9). В полученные растворы объемом 15 мл погружали по одной очищенной таблетке ППУ, из таблеток удаляли пузырьки воздуха, бюксы закрывали пробками и встряхивали на механическом смесителе в течение часа. Таблетки желто-коричневого цвета вынимали из раствора, отжимали между листами фильтровальной бумаги и сушили на воздухе.

Светопоглощение окрашенных растворов измеряли на фотокolorиметре КФК-3 относительно дистиллированной воды, используя кюветы толщиной 1 см. Спектры диффузного отражения окрашенных таблеток ППУ измеряли на спектрофотометре СФ-2000 относительно белой таблетки. Функцию Гуревича-Кубелки-Мунка (ГКМ) рассчитывали по формуле $F = (1-R)^2/2R$, где $0 < R < 1$ – коэффициент диффузного отражения.

При визуальном тестировании окрашенные растворы наливали по 10 мл в калиброванные стеклянные пробирки вместимостью 12.5 мл; пробирки устанавливали в штативе, наблюдения проводили «на просвет» на фоне белого листа бумаги, расположенного под углом 45° к падающему свету (согласно рекомендациям [29]); глаза наблюдателей находились от штатива с пробирками на расстоянии 30-40 см. Подсушенные на воздухе окрашенные таблетки ППУ размещали на листе белой бумаги, глаза наблюдателей находились над тест-образцами на расстоянии 30-40 см. Все наблюдения проводили при дневном освещении в условиях рассеянного света, значение освещенности в помещении составляло 500-600 лк.

Оценку пороговой концентрации *p*-ХА в образцах сравнения проводили согласно алгоритму [22]: 1) готовили тест-образцы, соответствующие нормируемой (предельной) концентрации *p*-ХА: $c_{\text{пред}} = 2$ мг/л в случае реакции (1) и $c_{\text{пред}} = 15$ мг/л в случае реакции (2); эти тест-образцы называли нормируемыми образцами. 2) Готовили тест-

образцы, соответствующие меньшим концентрациями *p*-ХА (образцы сравнения). 3) 7-10 наблюдателей выявляли интервал ненадежности – область концентраций *p*-ХА, в которой частота обнаружения различий в цвете образцов сравнения и нормируемого образца, $P(c)$, менялась от 0 до 1. Верхняя граница интервала соответствует нормируемой концентрации $c_{\text{пред}}$, нижняя граница интервала соответствует концентрации *p*-ХА в индикаторном растворе или отвечает модифицированной таблетке ППУ, различие в цвете которых по отношению к нормируемому образцу установили все наблюдатели ($P(c)=1$). 4) Выявленный интервал ненадежности разбивали на несколько уровней концентраций (k) с равным концентрационным шагом. Для каждой концентрации c_k с помощью 15-17 независимых наблюдателей получали по 50 результатов наблюдений из трех экспериментальных серий (трижды готовили все образцы сравнения). 5) Вычисляли частоты обнаружения различий в цвете образцов для концентрации c_k в каждой серии $P(c_k) = n_k / N_k$, где n_k – число положительных ответов наблюдателей, N_k – общее число испытаний в серии. Усредняли значения частоты по сериям, вычисляя $\overline{P(c_k)}$ и стандартное отклонение частоты. 6) Используя статистические критерии χ^2 и Колмогорова-Смирнова λ , проверяли соответствие эмпирической зависимости $\overline{P(c_k)}$, называемой кривой эффективности [16-20, 25, 26], математическим функциям известных распределений (нормального, логистического, логнормального, экспоненциального, Вейбулла). 7) Выбрав вид распределения, при доверительной вероятности $P(c)=0.95$ вычисляли значение пороговой концентрации $c_{\text{сравн}}$.

Результаты исследований и их обсуждение

Продукт взаимодействия *p*-ХА с НЭДА, 4-(4'-хлорфенилазо)-*N*-(2-аминоэтил)-1-нафтиламин (ХФАН) (реакция 1), имел фиолетовый цвет. Интенсивность светопоглощения ХФАН при $\lambda_{\text{max}} = 555$ нм пропорционально возрастала с увеличением концентрации *p*-ХА от 0.05 до 2.5 мг/л (рис. 2), что согласуется с литературными данными [8].

Согласно рекомендациям Европейской фармакопеи [8], в растворе для фотометрического определения содержания примеси *p*-ХА в субстанции ХГ по реакции (1) массовая концентрация ХГ после добавления всех реагентов должна составлять 4 г/л. Учитывая, что нормируемое содержание *p*-ХА в субстанции ХГ составляет 0.05% от массы ХГ, значение предельной массовой концентрации *p*-ХА в фотометрируемом растворе не должно превышать $c_{\text{пред}} = 2$ мг/л. Это значение массовой концентрации мы приняли в качестве предельной концентрации для нормируемого раствора при визуальном обнаружении *p*-ХА по реакции (1).

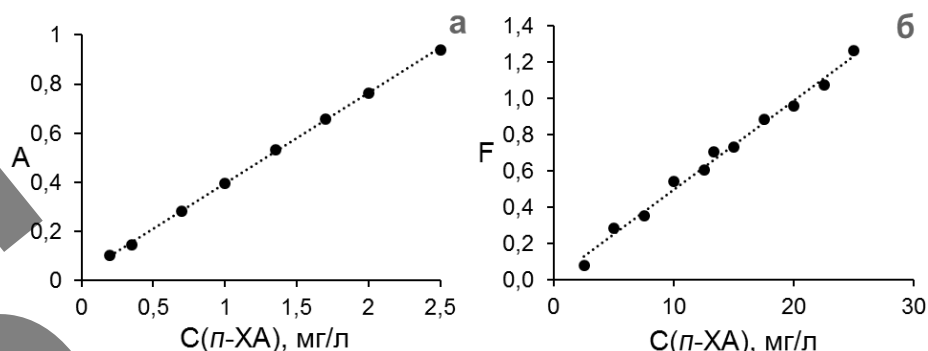


Рис. 2. Графики градуировочных зависимостей для спектрофотометрического и твердофазно-спектрофотометрического определения *p*-ХА: (а) – индикаторные растворы, реакция (1), $\lambda_{\max}=555$ нм; (б) – гетерофазная реакция (2) с участием ППУ, $\lambda_{\max}=400$ нм.

При хемосорбционном тестировании *p*-ХА по реакции азосочетания (2), в которой в качестве азокомпоненты выступал пенополиуретан, белые таблетки ППУ приобретали желто-коричневый цвет с $\lambda_{\max}=400$ нм. Зависимость функции ГКМ имела линейный характер в диапазоне концентраций *p*-ХА 2–25 мг/л (рис. 2). Было установлено, что различие в интенсивности цвета прореагировавших таблеток наблюдатели надежно обнаруживали вблизи концентрации, равной 15 мг/л. Это значение концентрации *p*-ХА мы и приняли в качестве $c_{\text{пред}}$.

Оценка пороговой концентрации *p*-ХА в образцах сравнения. Согласно описанному выше алгоритму, выявили интервалы ненадежности – от 1.5 до 2.0 мг/л для реакции (1) и от 13.0 до 15.0 мг/л для реакции (2). Интервалы разбили на 9 концентраций с шагом $\Delta c=0.05$ мг/л и 0.25 мг/л, соответственно.

Интервалы ненадежности оказались достаточно узкими, их относительная ширина, вычисленная как отношение разности верхней и нижней границ к значению нижней границы концентраций интервала [30], равна 0.33 и 0.15. Эти значения меньше единицы, что указывает на устойчивость выбранных тест-реакций к внешним воздействиям. В данном случае пятидесяти наблюдений было достаточно для выбора функциональной

зависимости частот обнаружения различий в цвете тест-образцов в интервале ненадежности и для оценки $c_{\text{сравн}}$ [30].

В качестве аппроксимирующих функций были выбраны функции логистического и логнормального распределений для первой и второй тест-систем, соответственно. Вычисленные значения пороговой концентрации *p*-ХА в образцах сравнения составили 1.5 мг/л и 13.3 мг/л.

Результаты обнаружения и определения *p*-ХА в образцах субстанции хлоргексидина. Согласно выше описанных процедур, для визуального тестирования по реакции (1) исследуемые растворы ХГ готовили так, чтобы концентрация ХГ в индикаторном растворе была 4 г/л, а содержание *p*-ХА ~ 2 мг/л. В случае визуального тестирования по реакции (2) содержание *p*-ХА в контрольном растворе была близкой к 15 мг/л. При тестировании десяти наблюдателям задавали вопрос: «Какой образец – контрольный или образец сравнения – имеет более интенсивный цвет?», следовательно: «Какой образец отвечает более высокой концентрации *p*-ХА?».

Результаты бинарного тестирования и инструментального определения содержания *p*-ХА в растворах ХГ приведены в таблице 1.

Таблица 1. Результаты визуального обнаружения и инструментального определения содержания *p*-ХА (массовой доли *p*-ХА в пересчете на сухой ХГ) в пробах 20%-ой субстанции хлоргексидина диглюконата.

*Проба	Введено	m (p-XA) / m (ХГ), %			
		СФ (n=3-5; P=0.95)	СДО (n=3; P=0.95)	**Хроматография (n=3-5; P=0.95)	Визуальное тестирование реакция (1) реакция (2)
1	0	0.016±0.002	0.017±0.003	0.0162±0.0013	< 0.05 < 0.05
	0.0175	0.032±0.003	0.035±0.006	–	< 0.05 < 0.05
	0.040	0.060±0.006	0.058±0.005	–	> 0.05 > 0.05
2	0	0.252±0.015	0.258±0.018	0.263±0.012	> 0.05 > 0.05

*1 – образец субстанции производителя «G. Ampray Laboratories»; 2 – образец субстанции, предварительно прошедшей испытания в стрессовых условиях. **Исследования провели в лаборатории фармакопейного анализа Фармакопейного центра Украины, г. Харьков; «–» — не тестировали; СФ – спектрофотометрия; СДО – спектроскопия диффузного отражения.

В анализируемой пробе под № 1 концентрация примеси *p*-ХА не превысила нормируемое значение. Завышенный результат для образца субстанции ХГ, которую предварительно подвергли условиям ускоренного старения (проба № 2), был ожидаемым, т.к. *p*-ХА может накапливаться в лекарственном препарате со временем в результате частичного разложения хлоргексидина.

Правильность визуального детектирования подтвердили методами количественного анализа. Методом «введено-найденно» доказали, что наличие большого избытка ХГ по отношению к *p*-ХА не оказывает значимого влияния на индикаторные реакции.

Заключение

Установлено, что для бинарного визуального тестирования примеси *p*-ХА в субстанции хлоргексидина диглюконата (в 20%-ом водном растворе) можно использовать один образец сравнения – либо реагентный раствор, содержащий продукт реакции азосочетания диазотированного *p*-ХА с *N*-(1-нафтил)-этилендиамином (реакция 1), либо таблетку пенополиуретана, модифицированную в результате реакции хемосорбционного взаимодействия ППУ с диазотированным *p*-ХА (реакция 2). Статистическим методом, который ранее применяли для оценки предела обнаружения визуальных тест-методик, оценили

значения пороговой концентрации *p*-ХА в образцах сравнения: 1.5 мг/л (1) и 13.3 мг/л (2), соответственно.

Полученные с надежностью 95% результаты качественного анализа для образцов субстанции ХГ (содержание *p*-ХА больше / меньше 0.05% по массе) подтверждены методом «введено-найденно» и инструментальными методами спектрофотометрии, хроматографии, спектроскопии диффузного отражения с установленным уровнем неопределенности.

Благодарность

Авторы благодарны доктору химических наук, старшему научному сотруднику лаборатории фармакопейного анализа Фармакопейного центра Украины (г. Харьков) А.Ю.Куликову за помощь в проведении измерений на жидкостном хроматографе Hewlett Packard (Agilent Technologies, Германия) модели 1050; авторы благодарны ведущему инженеру отдела аналитической химии функциональных материалов и объектов окружающей среды им. А.Б.Бланка НТК «Институт монокристаллов» НАН Украины (г. Харьков) Я.А.Бондаренко за помощь в проведении измерений диффузного отражения модифицированных таблеток ППУ на спектрофотометре СФ-2000.

Литература

1. Ravi P., Balasubrahmanyam E., Bhalme M., Srinivasa R., Wadekar K.R., Sampath Kumar L., Vigneshwar K. Evaluating impurities in drugs (Part III of III). *Pharm. Technol.* 2012, 36(4), 1–6.
2. Золотов Ю.А., Иванов В.М., Амелин В.Г. Химические тест-методы анализа. М.: Едиториал УРСС, 2002. С. 304.
3. Gonçalves A.R., Lopes do Nascimento H., Duarte G.H.B., Simas R.C., Soares A.J., Eberlin M.N., Marques L.A. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry determination of *p*-chloroaniline in gel and aqueous chlorhexidine products used in dentistry. *Springer-Verlag GmbH.* 2016, 79, 841–849.
4. Acton Q.A. Biguanides – advances in research and application: 2013 ed. Atlanta: Scholarly Editions, 2013. P. 61.
5. Below H., Lehan N., Kramer A. HPLC determination of the antiseptic agent chlorhexidine and its degradation products 4-chloroaniline and 1-chloro-4-nitrobenzene in serum and urine. *Microchim. Acta.* 2004, 146, 129–135.
6. Below H., Assadian O., Baguhl R., Hildebrandt U., Jäger B., Meissner K., Leaper D.J., Kramer A. Measurements of chlorhexidine, *p*-chloroaniline, and *p*-chloronitrobenzene in saliva after mouth wash before and after operation with 0.2% chlorhexidine digluconate in maxillofacial surgery: a randomised controlled trial. *Br. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2016, 55(2), 150–155. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjoms.2016.10.007>.
7. Лазарев Н.В., Левина Э.Н. Вредные вещества в промышленности. Справочник для химиков, инженеров и врачей. Т. 2. Л: Химия, 1976. С. 623.
8. European pharmacopoeia, 9th ed., Strasbourg, 2017, P. 3026.
9. The international pharmacopoeia, sixth edition. *World Health Organization.* 2016. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://apps.who.int/phint/en/p/docf/>.
10. The United States pharmacopoeia, USP 29 – NF 24, 2006. [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://www.pharmacopoeia.cn/v29240/us-p29nf24s0_m15620.html.
11. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: – RИPEГ, 2001. С. 556.
12. Alain N., Wolff E., Vergnes M.-F., Kaloustian J., Portugal H. Rapid HPLC method for determination of parachloroaniline in chlorhexidine antiseptic agent in mouthrinses, ophthalmic and skin solution. *AJAC.* 2011, 2, 422–428.
13. Методические указания по фотометрическому измерению концентраций *p*-хлоранилина и *m*-хлоранилина в воздухе рабочей зоны. МУ (Ме-

тодические указания) от 22.04 1983 г. №2774-83. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200038108>.

14. Görög S. Identification and determination of impurities in drugs, Volume 4 1st ed. Elsevier: Amsterdam, New York, 2000. P. 772.

15. Дмитриенко С.Г., Аяри В.В. Пенополиуретаны. Сорбционные свойства и применение в химическом анализе. М: Красанд, 2009. С. 264.

16. Valcárcel M., Cárdenas S., Gallego M. Sample screening systems in analytical chemistry. *Trends Anal. Chem.* 1999, 18(11), 685-694.

17. Trullols E., Ruisánchez I., Xavier R.F. Validation of qualitative analytical methods. *Trends Anal. Chem.* 2004, 23(2), 137-145.

18. Forsum U., Hallander H.O., Kallner A., Karlsson D. The impact of qualitative analysis in laboratory medicine. *Trends Anal. Chem.* 2005, 24(6), 546-555.

19. Rios A., Tellez H. Reliability of binary analytical responses. *Trends Anal. Chem.* 2005, 24(6), 509-515.

20. Мильман Б.Л., Конопелько ЛА. Неопределенность результатов качественного химического анализа. Общие положения и бинарные тест-методы. *Журн. аналит. химии.* 2004, 59(12), 1244-1258.

21. Бланк А.Б. Метрологические аспекты аналитического контроля состава материалов. *Журн. аналит. химии.* 1997, 52(8), 800-807.

22. Решетняк Е.А., Немец Н.Н., Пантелеймонов А.В., Шугай Е.А., Холин Ю.В. Создание образца сравнения для бинарного тестирования железа(III) в подземных водах. *Вісник ХНУ, Серія Хімія.* Вип. 16(39). 2008, 146-155.

23. Спосіб візуального бінарного тестування сульфат-іонів в пробах зворотних супутньо-пластових вод: Пат. на корисну модель №57810. Україна / О.О. Решетняк, Н.М. Німець, В.Є. Асмолов,

А.В. Пантелеймонов, Ю.В. Холин. — № у 2010 10731; Заявлено 06.09.2010; Надр. 10.03.2011, Бюл. № 5. С. 6.

24. Решетняк Е.А., Немец Н.Н., Падалко Е.И., Пантелеймонов А.В. Тест-образцы для скрининга Fe(III), SO₄²⁻ и H₂S в возвратных попутно-пластовых подземных водах. *Сб. статей II Республ. научн. конф. по аналит. химии «Аналитика РБ-2012».* Минск: Изд. центр БГУ, 2012, С. 121-128.

25. Холин Ю.В., Никитина Н.А., Пантелеймонов А.В., Решетняк Е.А., Бугаевский А.А., Логинова Л.П. Метрологические характеристики методик обнаружения с бинарным откликом. Харьков: Тимченко, 2008. С. 128.

26. Пантелеймонов А.В., Никитина Н.А., Решетняк Е.А., Логинова Л.П., Бугаевский А.А., Холин Ю.В. Методики качественного анализа с бинарным откликом: метрологические характеристики и вычислительные аспекты. *Методы и объекты хим. анализа.* 2008, 3(2), 128-146.

27. Євтіфєєва О.А. Стандартизація підходів до оцінки хімічних методів ідентифікації речовин, які входять до складу екстемпоральних лікарських препаратів. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації.* 2010, 9(1), 19-24.

28. Gondim C.S., Coelho O.A.M, Alvarenga R.L., Junqueira R.G., Carvalho de Souza S.V. An appropriate and systematized procedure for validating qualitative methods: Its application in the detection of sulfonamide residues in raw milk. *Analytica Chimica Acta.* 2014, 830, 11–22.

29. Бабко А.К., Пилипенко А.Т. Фотометрический анализ. Общие сведения и аппаратура. М.: Химия, 1968. С. 388.

30. Решетняк Е.А., Никитина Н.А., Логинова Л.П., Островская В.М. Предел обнаружения в тест-методах анализа с визуальной индикацией. Влияющие факторы. *Журн. аналит. химии.* 2005, 60(10), 1102-1109.