



УКРАЇНА

(19) UA (11) 82582 (13) C2

(51) МПК (2006)

A61K 36/81 (2008.01)

A61K 131/00 (2008.01)

A61P 31/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ВОДОРОЗЧИННОЇ ФІТОСУБСТАНЦІЇ З ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ ДІЄЮ

1

2

(21) а200607252

(22) 30.06.2006

(24) 25.04.2008

(46) 25.04.2008, Бюл. № 8, 2008 р.

(72) ДУБРОВНА ЛЮДМИЛА ВОЛОДИМИРІВНА,  
UA, БЕНЗЕЛЬ ЛЕОНІД ВАСИЛЬОВИЧ, UA, ВОВК  
ЮРІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ, UA, НЕКТЕГАЄВ ІГОР  
ОЛЕКСІЙОВИЧ, UA, БЕНЗЕЛЬ ІГОР  
ЛЕОНІДОВИЧ, UA, МАСЛЮК МАРІЯ  
ОЛЕКСАНДРОВИЧ, UA, НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ ІМ. Д. ГАЛИЦЬКОГО, UA(56) Чекман І.С. Клінічна фітотерапія. - К.: А.С.К.,  
2003. - с. 78-79.Борисенко А. Н., Давиденко И. И. Модель  
асептического воспаления мягких тканей полости  
рта у крыс // Стоматология. - 1973. - № 5. - С. 73-  
74. Клінічні дослідження лікарських засобів.  
Методичні рекомендації / Під ред. Стефанова О.  
В. - К.: Авіцена, 2001. - 528 с.Горячковский А. М. Справочное пособие по  
клинической биохимии. - Одесса: ОКФА, 1994. - С.  
340. Сайт Компанії "Международный Коралловый  
Клуб", ПЕРЕЦ, опубл. в Internet 18.05.2006  
([http://web.archive.org/web/\\*/http://www.coralclub.mk-sat.net/product/rbc/capsicum.htm](http://web.archive.org/web/*/http://www.coralclub.mk-sat.net/product/rbc/capsicum.htm)), [Знайдено  
07.12.2007]. Знайдено в Internet: .Лабораторные методы исследования в клинике.  
Справочник. / Под ред. Меньшикова В. В. - М.:  
Медицина, 1987. - С. 122-125, 174-175.Прозоровский В. Б., Прозоровская М. П., Демченко  
В. М. Экспресс-метод определения эффективной  
дозы и ее ошибки // Фармакология и токсикология.  
- 1978, - № 4. - С. 497-502.Сидоров К. К. Токсикология новых промышленных  
веществ. - М.: Медицина, 1973. - Вып. 3. - 47 с.

UA 52930 A, 15.01.2003.

UA 69702 A, 15.09.2004.

UA 76000 C2, 15.06.2006.

UA 29617 A, 15.11.2000

(57) Спосіб одержання водорозчинної  
фітосубстанції з протизапальною дією, що  
включає використання сухої рослинної сировини з  
плодів перцю стручкового (*Capsicum annum*), її  
подрібнення, який **відрізняється** тим, що  
подрібнену суху рослинну сировину кількарразово  
екстрагують при температурі 90-95°C очищеною  
водою у співвідношенні 1:15-1:20 впродовж 30-60  
хвилин з наступним просвітленням,  
фільтруванням та ліофільним висушуванням  
кінцевого продукту.Винахід відноситься до галузі медицини, а  
саме фармації, і може бути використаний для  
створення на основі біологічно активних речовин,  
виділених із плодів перцю стручкового (*Capsicum  
annum*), нового протизапального лікарського  
засобу при лікуванні стоматологічних хвороб.У медичній практиці застосовують настойку  
плодів перцю стручкового. Відомий спосіб  
одержання такого засобу, основні умови  
виконання якого включають настоювання 10г сухої  
подрібненої сировини у 100мл 70% етанолу з  
наступним процідженням настойки [1], що не  
дозволяє максимально виділити основні діючі  
речовини з рослинної сировини. Одержаний  
фітопрепарат не може бути використаний встоматологічній практиці через подразнюючу дію  
на слизову оболонку ротової порожнини і не  
володіє протизапальними властивостями, тому  
має досить обмежений спектр дії на організм.Недоліком вказаного способу є також те, що  
він не дає можливості отримати водорозчинний  
фармацевтичний препарат у вигляді стійкої сухої  
субстанції, придатної до застосування в технології  
ліків.В основу винаходу поставлено завдання  
удосконалення способу одержання рослинного  
екстракту з протизапальними властивостями, в  
якому шляхом проведення кількарразового  
екстрагування забезпечують повноту виділення

(13) C2

(11) 82582

(19) UA

біологічно активних речовин та високий вихід готового ліофілізованого продукту.

Вказане завдання вирішується тим, що у способі отримання фітосубстанції з протизапальною дією, що включає використання сухої рослинної сировини з плодів перцю стручкового (*Capsicum annuum*), її подрібнення, згідно з винаходом, подрібнену суху рослинну сировину кількаразово екстрагують при температурі 90-95°C очищеною водою у співвідношенні 1:15-1:20 впродовж 30-60 хвилин, з наступним просвітленням, фільтруванням та

Розроблений спосіб екстрагування плодів перцю стручкового дає можливість одержати водорозчинну ліофілізовану фітосубстанцію з виходом біологічно активних речовин у кількості 33,6-38,1% і стабільністю вираженої протизапальної дії впродовж 2-3 років.

Запропонований спосіб здійснюють таким чином.

Сухі плоди перцю стручкового (*Capsicum annuum*) подрібнюють на частинки розміром 3-5мм, екстрагують діючі речовини очищеною водою при температурі 90-95°C у співвідношенні 1:15-1:20 впродовж 30-60 хвилин і проціджують. Екстрагування проводять 3-4 рази, після чого об'єднані екстракти просвітлюють впродовж 10-15 годин, фільтрують і висушують.

Одержаний ліофілізований екстракт є комплексом біологічно активних речовин у вигляді гігроскопічного аморфного порошку жовто-коричневого кольору з легким специфічним запахом і пекучим смаком. Вихід кінцевого продукту становить 33,6-38,1%. У ліофілізаті, умовно позначеному "ПС", виявлені капсаїциноїди, флавоноїди, сапоніни, фенолкарбонові кислоти та інші фізіологічно активні сполуки. Вміст

Спосіб ілюструється наступними прикладами.

#### Приклад 1

50г подрібненої сухої лікарської рослинної сировини з плодів перцю стручкового (*Capsicum annuum*) екстрагували в круглодонній колбі ємністю 2,0л доведеною до кипіння очищеною водою у співвідношенні сировина - екстрагент 1:15 на водяній лазні при температурі 90°C впродовж 30 хвилин. Аналогічний спосіб отримання біологічно активних речовин повторювали ще тричі, після чого об'єднані екстракти просвітлювали при температурі 8-10°C впродовж 10 годин і фільтрували. Фільтрати розливали у флакони по 250мл і висушували за допомогою сублімаційного апарату КС-30. Вихід кінцевого продукту становив

#### Приклад 2

50г подрібненої сухої лікарської рослинної сировини з плодів перцю стручкового (*Capsicum annuum*) екстрагували в круглодонній колбі ємністю 2,0 л доведеною до кипіння очищеною водою у співвідношенні сировина - екстрагент 1:20 на водяній лазні при температурі 93°C впродовж 45 хвилин. Вказане екстрагування повторювали ще двічі, після чого об'єднані екстракти просвітлювали при температурі 8-10°C впродовж 12 годин, фільтрували і проводили ліофільне висушування. Вихід кінцевого продукту становив 35,9%.

#### Приклад 3

50г подрібненої сухої лікарської рослинної сировини з плодів перцю стручкового (*Capsicum annuum*) екстрагували в круглодонній колбі ємністю 2,0л доведеною до кипіння очищеною водою у співвідношенні сировина - екстрагент 1:17 на водяній лазні при температурі 95°C впродовж 60 хвилин. Аналогічний спосіб отримання біологічно активних речовин повторювали ще тричі, після чого об'єднані екстракти просвітлювали при температурі 8-10°C впродовж 15 годин, потім фільтрували і ліофільно висушували. Вихід кінцевого продукту становив 38,1%.

Вивчення впливу фітосубстанції з плодів перцю стручкового (*Capsicum annuum*) на перебіг асептичного запалення м'яких тканин ротової порожнини проводили в дослідах на 42 статевозрілих білих щурах-самцях лінії Вістар віком 5-6 місяців і масою 240-350г. Експеримент тривав 8 днів. Для відтворення запалення м'яких тканин ротової порожнини використано "скипидарну" модель асептичного запалення [2]. Дослідження проводились згідно з методичними рекомендаціями та відповідали основним вимогам Державного фармакологічного центру МОЗ

Для порівняльної характеристики і оцінки активності "ПС" використовували засіб "Ротокан", який застосовували за оптимальною для нього схемою введення: на рясно змочених ватних турундах.

Тварини були поділені на 4 групи: перша група (6 тварин) - інтактні тварини; друга - контрольна (12 тварин) - модель асептичного запалення м'яких тканин ротової порожнини без лікування; третя група - дослідна №1 (12 тварин) - після моделювання асептичного запалення як лікувальний засіб використано "Ротокан"; четверта група - дослідна №2 (12 тварин) - після моделювання асептичного запалення як лікувальний засіб використано 4% водний розчин

Запалення м'яких тканин ротової порожнини відтворювали шляхом введення очищеного скипидару мікрошприцом з фіксованою канюлею та нанесенням на відстані 3мм від кінця голки обмежувачем в перехідну згортку з вестибулярної сторони нижньої щелепи в зоні, яка відповідає розташуванню першого правого моляра. Об'єм введеного скипидару - 0,04мл на 1кг маси тіла. Через три-чотири години після введення скипидару з'являлась асиметрія голови тварин за рахунок набряку правої щоки. Праве око щурів частково закривалось. На наступну добу приєдналась слезотеча з ока, тризм жувальних м'язів, гіперемія слизової оболонки щоки та

Методика нанесення "ПС" була наступною: 4% водний розчин фітосубстанції з плодів перцю стручкового наносили на ватну турунду в кількості 0,1-0,25мл та вводили щурам дослідної групи №2 в присінок ротової порожнини з боку запалення на 3-4 хвилини.

Реєстрацію клінічних даних проводили щоденно, починаючи з першого дня дослідів і до зникнення клінічних симптомів запалення у тварин. З великого спектру клінічних симптомів, що характеризують перебіг гострого запального процесу, для оцінки його інтенсивності були обрані

і проаналізовані такі ознаки: стан слизової оболонки щоки, наявність набряку, ступінь відкриття рота, стан слизової оболонки ока.

З метою вивчення механізму протизапальної дії фітосубстанції і оцінки ефективності його застосування при асептичному запаленні м'яких тканин ротової порожнини, на 4-й і 8-й день були досліджені клінічні та біохімічні показники крові (лейкоцитарна формула, активність лужної фосфатази нейтрофілів крові та вміст білка в сироватці крові) [5, 6].

Гостра токсичність "ПС" вивчалась на білих мишах-самках, масою 190-200г, які знаходились на звичайному раціоні харчування та при вільному доступі до води. Фітосубстанцію вводили в очеревину (д/о) та в шлунок (д/ш) відповідно у дозах від 500 до 4000мг/кг та від 1000 до 6000мг/кг. За тваринами спостерігали протягом 14 днів. Відмічали час загибелі, зміни у поведінці та в зовнішньому вигляді тварин. При д/ш введенні загибель тварин не відмічено, тому за

середньосмертельну дозу ( $LD_{50}$ ) умовно взяли максимально введenu дозу 6000мг/кг (IV клас безпеки згідно з ГОСТ 12.1007-76). Як контрольну використовували групу тварин, які отримували еквівалентний об'єм 0,9% розчину натрію хлориду.  $LD_{50}$  для білих мишей-самок при д/о визначали за методом Лічфілда і Уїлкоксона.  $LD_{50}=2800$ мг/кг (V клас безпеки за класифікацією Сідорова К.К.) [7, 8, 9].

Статистична обробка результатів проводилась за допомогою Microsoft Excel. Для оцінки розбіжностей між середніми величинами при нормальному розподілі вибірових сукупностей використовували t-критерій Стюдента. При перевірці гіпотез використовувався рівень

Результати проведених досліджень з вивчення динаміки клінічних показників у щурів в умовах моделювання асептичного запалення м'яких тканин ротової порожнини та застосування водного розчину "ПС" наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Динаміка клінічних показників у щурів із асептичним запаленням м'яких тканин ротової порожнини

Клінічні прояви	Група інтактних тварин	Контрольна група	Дослідна група №1	Дослідна група №2
1	2	3	4	5
1-й день досліджу				
Ступінь відкриття рота (%)	100,0±0,0	65,61±1,49	70,52±1,0	69,46±1,46
Набряк щоки (мм)	1,00±0,00	1,12±0,02	1,14±0,01	1,15±0,02
Стан слизової оболонки щоки (бал)	0,00±0,00	1,33±0,16	1,30±0,12	1,42±0,34
Стан слизової оболонки ока (бал)	0,00±0,00	7,75±0,20	7,0±0,5	7,33±0,25
2-й день досліджу				
Ступінь відкриття рота (%)	100,0±0,0	67,04±2,17	71,24±2,1	73,92±2,67*
Набряк щоки (мм)	1,00±0,00	1,19±0,02	1,12±0,02	1,13±0,01
Стан слизової оболонки щоки (бал)	0,00±0,00	1,92±0,19	1,58±0,1	1,50±0,16
Стан слизової оболонки ока (бал)	0,00±0,00	7,25±0,14	5,2±0,25	5,83±0,12*
3-й день досліджу				
Ступінь відкриття рота (%)	100,0±0,0	70,02±2,02	75,45±1,9	77,43±2,91*
Набряк щоки (мм)	1,00±0,00	1,18±0,01	1,10±1,01	1,10±0,02*
Стан слизової оболонки щоки (бал)	0,00±0,00	1,92±0,19	1,17±0,12	1,25±0,14*
Стан слизової оболонки ока (бал)	0,00±0,00	7,42±0,16	1,08±1,09	5,00±0,30*
4-й день досліджу				
Ступінь відкриття рота (%)	100,0±0,0	73,92±2,23	77,33±1,12	82,73±2,15**
Набряк щоки (мм)	1,00±0,00	1,15±0,01	1,1±0,01	1,08±0,01*
Стан слизової оболонки щоки (бал)	0,00±0,00	1,83±0,12	1,08±0,09	0,92±0,16*
Стан слизової оболонки ока (бал)	0,00±0,00	6,00±0,30	4,91±0,28	3,83±0,35**
5-й день досліджу				
Ступінь відкриття рота (%)	100,0±0,0	76,16±2,34	80,5±1,24	88,23±2,36**
Набряк щоки (мм)	1,00±0,00	1,12±0,01	1,08±0,01	1,06±0,015*

Продовження таблиці 1

1	2	3	4	5
Стан слизової оболонки щоки (бал)	0,00±0,00	1,58±0,16	1,0±0,19	0,75±0,14*
Стан слизової оболонки ока (бал)	0,00±0,00	5,17±0,30	4,5±0,21	3,17±0,26**
6-й день досліджу				
Ступінь відкриття рота (%)	100,0±0,0	79,62±2,02	85,16±1,80	93,14±2,42**
Набряк щоки (мм)	1,00±0,00	1,09±0,01	1,05±0,01	1,03±0,01*
Стан слизової оболонки щоки (бал)	0,00±0,00	1,16±0,12	0,075±0,11	0,50±0,16*
Стан слизової оболонки ока (бал)	0,00±0,00	3,92±0,28	3,08±0,21	2,00±0,30**
7-й день досліджу				
Ступінь відкриття рота (%)	100,0±0,0	81,81±2,05	87,25±2,10	97,33±1,01**
Набряк щоки (мм)	1,00±0,00	1,08±0,01	1,05±0,02	1,01±0,01**
Стан слизової оболонки щоки (бал)	0,00±0,00	1,08±0,16	0,20±0,02	0,16±0,02*
Стан слизової оболонки ока (бал)	0,00±0,00	2,50±0,34	1,58±0,21	0,75±0,14**
8-й день досліджу				
Ступінь відкриття рота (%)	100,0±0,0	83,32±2,35	88,50±2,9	98,75±1,53**
Набряк щоки (мм)	1,00±0,00	1,06±0,02	1,03±0,01	1,00±0,00*
Стан слизової оболонки щоки (бал)	0,00±0,00	0,75±0,20	0,00±0,00	0,00±0,00*
Стан слизової оболонки ока (бал)	0,00±0,00	1,66±0,46	1,0±0,28	0,00±0,00**

Примітка: \* - достовірні відмінності (p&lt;0,05) від відповідних показників у контрольній групі тварин;

\*\* - достовірні відмінності (p&lt;0,05) від відповідних показників у дослідній групі №1.

Дослідження показали, що фітосубстанція з плодів стручкового перцю нормалізує клінічні ознаки запалення. Так, вже з другого дня спостережень ступінь відкриття рота був достовірно більшим у тварин дослідної групи № 2 у порівнянні з контрольною. З третього дня експерименту у щурів другої дослідної групи вірогідно зменшувався набряк щоки, підвищувався ступінь відкриття рота і покращувався стан слизової оболонки ока. Позитивна динаміка зменшення клінічних симптомів запалення до останнього дня лікування була прискорена у дослідної групи тварин №2. При співставленні клінічних показників дослідних груп тварин з четвертого дня експерименту виявлено достовірну

різницю у ступені відкриття рота та стані слизової оболонки ока.

У таблиці 2 представлені показники крові у щурів на 4-й та 8-й день дослідження. Клінічні показники крові щурів дослідної групи №2 відрізнялися від аналогічних показників у контрольній групі. На 4-й день експерименту в тварин дослідної групи №2 спостерігався лейкоцитоз, нейтрофілія та моноцитоз, проте їх рівень був достовірно нижчим ніж у контрольній групі щурів. В останній день досліджу (8-й) відмічалась нормалізація всіх показників крові у тварин дослідної групи №2. У тварин, що отримували "Ротокан" спостерігався моноцитоз і нейтрофілія, який був достовірно більш виражений, ніж у дослідній групі №2.

Таблиця 2

Показники крові у щурів на 4-й та 8-й день дослідження

Групи тварин	Лейкоцити			Базофіли		Еозинофіли		Нейтрофіли		Моноцити		Лімфоцити	
	Г/л	Г/л	%	Г/л	%	Г/л	%	Г/л	%	Г/л	%	Г/л	%
Група інтактних тварин	11,3±0,77	0,00±0,0	0,00±0,0	0,18±0,11	1,59±0,34	2,53±0,17	22,4±0,24	0,46±0,05	4,09±0,01	8,13±0,45	71,92±1,7		
4-й день дослідження													
Контрольна група	20,2±0,40	0,033±0,01	0,67±0,20	0,10±0,019	0,50±0,03	7,70±0,14	38,16±0,58	1,58±0,035	7,84±0,60	10,67±0,25	52,83±0,51		
Дослідна група №1	16,0±0,24	0,080±0,01	0,50±0,25	0,19±0,020	1,20±0,12	5,28±0,12	33,0±0,89	1,20±0,041	7,5±0,45	9,25±0,20	57,80±0,89		
Дослідна група №2	16,6±0,30*	0,023±0,02**	0,50±0,34*	0,17±0,014**	1,0±0,12*	4,98±0,16**	30,0±1,15**	1,18±0,026*	7,1±0,63*	10,19±0,15--	61,4±0,58**		
8-й день дослідження													
Контрольна група	15,1±0,77	0,095±0,01	0,63±0,17	0,17±0,025	1,10±0,30	4,13±0,53	27,33±0,46	0,89±0,047	5,87±0,26	9,82±0,63	65,07±1,55		
Дослідна група №1	12,0±0,70	0,030±0,012	0,25±0,01	0,22±0,020	1,83±0,25	2,80±0,12	23,33±0,23	0,63±0,01	5,25±0,54	8,32±0,21	69,34±1,1		
Дослідна група №2	11,5±0,25*	0,029±0,01*	0,25±0,10*	0,22±0,017*	1,90±0,31*	2,55±0,32*	22,16±1,18**	0,54±0,01**	4,7±0,77**	8,16±0,16*	70,99±0,57**		

Примітка: \* - достовірні відмінності (p&lt;0,05) від відповідних показників у контрольній групі тварин;

-- - достовірні відмінності (p&lt;0,05) від відповідних показників у дослідній групі тварин №1.

Розвиток запальних процесів м'яких тканин щелепно-лицевої ділянки супроводжується зміною біохімічних маркерів запалення в крові. В таблиці 3 відображені результати дослідження активності лужної фосфатази нейтрофілів лейкоцитів крові в умовах асептичного запалення м'яких тканин ротової порожнини. На 4-й та 8-й день

експерименту даний показник у дослідній групі №2 достовірно відрізнявся від аналогічного показника у контрольній групі тварин. Активність лужної фосфатази нейтрофілів крові у тварин, що отримували засіб "Ротокан" на 8-й день дослідження була в 2,5 рази вищою, ніж у дослідній групі №2.

Таблиця 3

Активність лужної фосфатази нейтрофілів крові щурів (мкмоль/с.л)

Групи тварин	Група інтактних тварин	Контрольна група	Дослідна група №1	Дослідна група №2
4-й день дослідження	0,9±2,29	7,53±0,24	5,50±0,18	4,87±0,43*
8-й день дослідження	0,9±2,29	4,87±0,27	2,83±0,18	1,07±0,17*..

Примітка: \* - достовірні відмінності ( $p < 0,05$ ) від відповідних показників у контрольній групі тварин;.. - достовірні відмінності ( $p < 0,05$ ) від відповідних показників у дослідній групі №1.

В таблиці 4 представлена динаміка зміни рівня білка в сироватці крові щурів. Як видно, при дослідженні через 4 дні після відтворення асептичного запалення м'яких тканин у сироватці крові контрольних щурів відмічається зниження концентрації білка. Це зумовлено інтенсифікацією катаболічних процесів і втратою білка організмом, що пов'язано з загальною реакцією на запалення.

Застосування фітосубстанції "ПС" гальмувало зниження цього показника. При дослідженні на 8-й день експерименту вміст білка в сироватці крові дослідної групи №2 відповідав показникам інтактних тварин. Вживання "Ротокану" також гальмувало втрату білка організмом, проте у меншій мірі, ніж при застосуванні "ПС".

Таблиця 4

Рівень білка в сироватці крові щурів (г/л)

Групи тварин	Група інтактних тварин	Контрольна група	Дослідна група №1	Дослідна група №2
4-й день дослідження	102,8±8,5	62,83±1,76	80,66±1,97	86,50±2,86*..
8-й день дослідження	102,8±8,5	76,83±1,05	92,50±1,25	99,17±1,13*..

Примітка: \* - достовірні відмінності ( $p < 0,05$ ) від відповідних показників у контрольній групі тварин;.. - достовірні відмінності ( $p < 0,05$ ) від відповідних показників у дослідній групі №1.

Таким чином, зіставивши показники біохімічних маркерів запалення у тварин контрольної та дослідної групи №2, можна стверджувати, що застосування фітосубстанції з плодів перцю стручкового (*Capsicum annuum*) "ПС" позитивно впливає на перебіг асептичного запалення. При цьому, використання засобу "Ротокан" у меншій мірі нормалізує клінічні та біохімічні показники крові щурів при запальному процесі м'яких тканин зубо-щелепової системи.

При порівняльному аналізі результатів лікування встановлено, що найбільш виражена і стійка стабілізація запального процесу в м'яких тканинах відмічається при використанні фітосубстанції з плодів перцю стручкового. Проведене експериментальне дослідження засвідчило, що застосування фітосубстанції з плодів перцю стручкового (*Capsicum annuum*) ліквідовує клінічні ознаки запалення і нормалізує клінічні та біохімічні показники крові у щурів при асептичному запаленні м'яких тканин ротової порожнини. Отримані результати вказують на можливість розробки нової лікарської форми з метою підвищення ефективності лікування запальних процесів м'яких тканин зубо-щелепової

Джерела інформації:

1. Чекман І.С. Клінічна фітотерапія. - К.: А.С.К., 2003. - С.78-79.

2. Борисенко А.Н., Давиденко І.І. Модель асептического воспаления мягких тканей полости рта у крыс // Стоматология. - 1973. - № 5. - С.73-74.

3. Доклінічне вивчення засобів для лікування та профілактики захворювань слизової оболонки порожнини рота. Методичні рекомендації / Косенко К.М., Скиба В.Я., Левицький А.П., Скиба О.І., Дзяд О.В. - К.: ДФЦ МОЗ України, 2002. - 19с.

4. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / Під ред. Стефанова О.В. - К.: Авіцена, 2001. - 528с.

5. Горячковский А.М. Справочное пособие по клинической биохимии. - Одесса: ОКФА, 1994. - С.180.

6. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. / Под ред. Меншикова В.В. - М.: Медицина, 1987. - С.122-125, 174-175.

7. Прозоровский В.Б., Прозоровская М.П., Демченко В.М. Экспресс-метод определения эффективной дозы и ее ошибки // Фармакология и токсикология. - 1978, - №4. - С.497-502.

8. Litchfield I.T., Wilcoxon T.I. A simplified method of evaluating dose-effect experiments // J. Pharmacol. Exp. Ther., 1949, V.96, P.99-115.

9. Сидоров К.К. Токсикология новых промышленных веществ. - М.: Медицина, 1973. - Вып.3. - 47с.