



УКРАЇНА

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВО(19) UA (11) 26852 (13) C1(51) 6 C 07 D 231/56; A 61 K 31/415ОПИС ДО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІД(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ПОХІДНИХ 1-БЕНЗИЛ-3-ОКСИМЕТИЛІНДАЗОЛУ АБО ЇХ СОЛЕЙ З
ФАРМАЦЕВТИЧНО ПРИЙНЯТНИМИ ОСНОВАМИ

1

2

(20) 93004024 (21.05.93)

(21) 4743128

(22) 06.02.90

(24) 29.12.99

(31) 47620 A/89

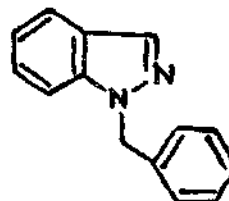
(32) 07.02.89

(33) IT

(46) 29.12.99. Бюл. № 8

(56) Вейганд-Хильгетаг. Методы экспери-
мента в органической химии. - М. - 1968.
- С. 174.(72) Сілвестріні Бруно (IT), Байоккі Леанд-
ро (IT)(73) АЦЬЕНДЕ КІМІКЕ РЬЮНІТІ АНДЖЕЛІ-
НІ ФРАНЧЕСКО А.К.Р.А.Ф.С.П.А. (IT)(57) 1. Способ получения производных 1-
бензил-3-оксиметилиндазола формулы (I)где А представляет собой 1-бензилинда-
зол-3-ил,

R и R' могут быть одинаковыми или

различными и представляют собой C₁-C₄-
алкил,R''' представляет собой H,
или их солей с фармацевтически прием-
лемыми основаниями, о т л и ч а ю щ и й
с я тем, что соединение формулы (IIa)где Y представляет собой OH,
подвергают взаимодействию с кетоном
формулы RCO R',
где R и R' имеют вышеуказанные значе-
ния,
и хлороформом в присутствии гидроксида
щелочного металла и, при необходимос-
ти, получают соль кислоты формулы (I) с
фармацевтически приемлемыми основа-
ниями.2. Способ по п. 1, о т л и ч а ю щ и й
с я тем, что реакцию проводят при
температуре кипения реакционной смеси
и времени реакции от 30 мин до 12 ч.Изобретение относится к простым
эфирам 1-бензил-3-гидроксиметилиндазо-
ла с алифатическими 2-гидроксикислота-
ми, к их солям с фармацевтически прием-
лемыми основаниями, к промежуточным
соединениям и способам их получения, а
также к содержащим эти эфиры фарма-
цевтическим композициям.Более конкретно, первой целью нас-
тоящего изобретения является получение
соединения формулы:где А представляет ядро 1-бензилинда-
зол-3-ила формулы:(19) UA (11) 26852 (13) C1

R и R' могут быть одинаковы или различны и представляют H или C₁-C₅-алкил, R'' представляет H или остаток алифатического насыщенного спирта с 1-4 атомами углерода; и если R'' = H, соли соединения (I) с фармацевтически приемлемыми основаниями.

Совершенно очевидно, что когда R и R' отличны друг от друга, соединение формулы (I) может существовать в виде единственного энантиомера или в виде рацемической смеси. Таким образом, настоящим изобретением охватываются как рацемические смеси, так и индивидуальные энантиомеры, полученные либо выделением обычными способами из рацемических смесей, либо стереоспецифичным синтезом. При отсутствии особых указаний в приведенных примерах исходные соединения, имеющие асимметрический атом углерода, используют в виде рацемических смесей.

Известно соединение бендазак формулы:



где A принимает вышеуказанное значение, наделенное противовоспалительной активностью (Патент США № 3470194). Непрерывавшиеся несколько лет исследования этого соединения показали, что бендазак и его соли с фармацевтически приемлемыми основаниями проявляет активность при лечении некоторых дислепсий (Патент США № 4352813), пигментозного ретинита (Европейский патент В 131317) и катаракта (Патент США № 4451477), а также было обнаружено, что бендазак и его соли могут предотвращать помутнение контактных линз (Европейский патент А 255967).

Настоящее изобретение основано на открытии того, что введение метиленовой группы (-CH₂-) между ядром А бензилиндазол-3-ила (II) и боковой цепью (-O-CH₂-COOH) меняет фармакологические свойства бендазака, в отличие от которого соединения формулы (I) наделены обезболивающей активностью (пример 5).

Второй целью настоящего изобретения является создание способа получения соединения формулы (I), и такой способ включает:

la) реакцию по обычным методикам соединения формулы:



где A принимает вышеуказанное значение и Y - гидроксил, с щелочным металлом или его приемлемым производным с образованием алкоголя формулы:

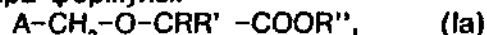


где A принимает вышеуказанное значение

и Me - атом щелочного металла, с последующей реакцией соединения (II) с соединением формулы:



5 где R и R' принимают вышеуказанные значения, X представляет отходящую группу, выбранную из галоидов и радикалов формулы: -Z-SO₂-O-, где Z - арил или алкил, R' - C₁-C₅-алкил, с образованием простого эфира формулы:

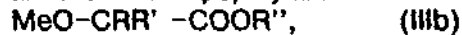


10 где A, R, R', R'' принимают вышеуказанные значения, или

15 lb) реакцию по обычной методике соединения формулы:

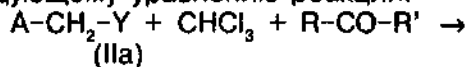


где A и X принимают вышеуказанные значения, с алкоголем формулы:

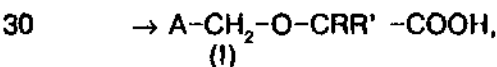


20 где R, R', R'' и Me принимают вышеуказанные значения, с образованием простого эфира формулы (Ia) или

25 lc) реакцию по обычной методике соединения формулы (IIa) с кетоном и хлороформом в присутствии щелочи согласно следующему уравнению реакции:



(IIa)



где A и Y принимают вышеуказанные значения, R и R' могут быть одинаковы или различны, и представляют C₁-C₅-алкил,

35 II) гидролиз при желании сложного эфира (Ia) с образованием соответствующей кислоты формулы (I) по обычной методике и III) получения по обычным методикам и при желании (A) соли кислоты формулы (I) с фармацевтически приемлемым основанием или (B) эфира кислоты формулы (I) с насыщенным алифатическим спиртом с 1-4 атомами углерода.

45 Стадии (Ia) и (Ib) направлены на способ получения асимметричных простых эфиров по Уильямсону (March I. Advanced Organic Chemistry, 3-е изд., с. 342-344, реакции O-14 и O-16), который рекомендуется осуществлять в присутствии приемлемого растворителя при температуре от комнатной до температуры кипения реакционной смеси и в течение времени от 18 минут до 48 часов. Примерами приемлемых растворителей являются апротонные растворители. Типичные примеры рекомендуемых растворителей включают: тетрагидрофуран, диметилформамид, толуол и их смеси.

50 Алкоголяты (IIb) и (IIIb) рекомендуется получать в реакции с металлическим натрием, металлическим калием или гидра-

том натрия в присутствии приемлемого растворителя при температуре от комнатной до температуры кипения реакционной смеси в течение времени от 15 минут до 48 часов. Примером рекомендуемых растворителей являются апротонные растворители. Типичные примеры рекомендуемых растворителей включают тетрагидрофуран, диметилформамид, толуол и их смеси.

Рекомендуемые значения для X – хлор, бром и $Z-SO_2-O-$, где Z представляет п-метилфенил, фенил и метил.

Стадию (Ic) рекомендуется проводить при температуре кипения реакционной смеси в течение времени от 30 мин до 12 ч.

Стадию (II) рекомендуется проводить в водном или водно-спиртовом растворе щелочи при температуре от комнатной до температуры кипения и времени реакции 1–48 часов.

Типичные примеры фармацевтически приемлемых неорганических оснований, приемлемых для использования на стадии (IIa), включают щелочные или щелочноземельные металлы, более конкретно натрий, калий и кальций. Типичными примерами органических оснований являются метиламин, изопропиламин, гексиламин, диэтиламин, этаноламин, 2-гидроксиметил-2-амино-1,3-пропандиол, глюкамин, глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, серин, треонин, аспаратиновую кислоту, глутаминовую кислоту, аргинин, лизин, цистин, метионин, фенилаланин, тирозин, триптофан и гистидин.

К типичным представителям спиртов, рекомендуемых для использования на стадии (IIIb), относятся спирты с прямой цепью.

Еще одной целью настоящего изобретения является получение промежуточных соединений формулы:



где A представляет ядро 1-бензилиндазол-3-ила и W представляет OH, OMe (Me – атом щелочного металла) или отходящую группу, выбранную из галоидов или радикалов формулы: $Z-SO_2-O-$ где Z – арил или алкил.

К рекомендуемым отходящим группам относятся бром, хлор и $Z-SO_2-O-$, где Z – п-метилфенил, фенил или метил.

Спирт формулы (II)($A-CH_2-OH$) может быть получен восстановлением кислоты формулы: $A-COOH$ (IV), где A принимает вышеуказанное значение, или ее алифатического эфира по обычной методике. Восстановление сложного эфира рекомендуется проводить использованием

приемлемого восстановителя, такого как литийалюминийгидрид, натрийбис(2-метокси-этокси)алюминийгидрид (70% в толуоле) или кальцийтетра (изопропокси)аланат (70% в толуоле) в присутствии приемлемого растворителя при температуре от 0°C до температуры кипения реакционной смеси и времени реакции от 30 минут до 12 часов. Примеры приемлемых растворителей включают диэтиловый эфир, тетрагидрофуран, толуол и их смеси.

Соответствующие алкогалогены ($W = -OMe$), галоидпроизводные ($W =$ галоид), и сульфоновые эфиры ($W = O-SO_2-Z$) могут быть легко получены известными способами.

В практической медицине соединения настоящего изобретения и их фармацевтически приемлемые соли могут быть введены как таковые, но рекомендуется их вводить в виде фармацевтических композиций.

Такие композиции являются еще одной целью настоящего изобретения, и они содержат эффективное количество одного или нескольких соединений формулы (I) или их солей с фармацевтически приемлемыми органическими или неорганическими основаниями в смеси с жидкими или твердыми фармацевтическими наполнителями, пригодными для системного введения, например перорально, ректально и парентерально или местно в виде аэрозоля или офтальмическим введением.

Фармацевтические композиции настоящего изобретения могут быть твердыми, например, иметь вид таблеток, пилюль, капсул и медленно действующих препаратов или быть жидкими, т.е. в виде растворов, суспензий и эмульсий.

Кроме традиционных наполнителей композиции могут включать приемлемые в фармацевтических целях добавки, такие как консерванты, стабилизаторы, эмульгаторы, регулирующие осмотическое давление соли, буферные системы, отдушки и красители.

В случае необходимости при конкретном лечении композиции настоящего изобретения могут включать другие совместимые активные компоненты, совместное введение которых приносит лечебную пользу.

В лечебной практике эффективное количество вводимого соединения настоящего изобретения может меняться в широком интервале в зависимости от известных факторов, таких как конкретный вид лечения, вида фармацевтической композиции, пути введения и эффективности конкретного применяемого соединения изобретения. Однако оптимальное эффек-

тивное количество может быть легко определено обычным способом.

Фармацевтические композиции могут быть приготовлены обычными способами из практики химика-фармацевта с применением смешивания, гранулирования и прессования, когда это необходимо, или смешивания и растворения различным образом компонентов с получением целевого конечного продукта.

В целом, в случае системного введения ежедневная дозировка соединения (I) предпочтительно задается таким образом, чтобы его уровень в тканях достигал 10^{-5} – 10^{-3} М, и такой уровень обычно достигается при дозах в 0,5–100 мг/кг. В свою очередь в случае местного употребления рекомендуется использовать фармацевтическую композицию (примочки для глаз, кремы, мази и т.п.), содержащие 0,1–5 мас. % соединения формулы (I) или соответствующее количество его фармацевтически приемлемой соли.

И, наконец, еще одной целью изобретения является создание способа лечения, заключающегося в введении нуждающемуся в лечении больному эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли.

С целью дальнейшей иллюстрации изобретения ниже приводятся следующие примеры.

Пример 1.

а) 1-Бензил-3-гидроксиметилиндазол.

В суспензию 2 г литийалюминийида в 50 мл диэтилового эфира прикапывают с перемешиванием этиловый эфир 1-бензил-3-индазолкарбоновой кислоты (Von Auwers Schaich. Chem. Ber., 1921, 54, 1756) в 30 мл безводного тетрагидрофурана.

По окончании прикапывания реакционную смесь кипятят 90 мин.

После охлаждения реакционную смесь обрабатывают обычным образом, образовавшийся осадок отфильтровывают и перекристаллизацией остатка, полученного испарением растворителя, из изопропилового спирта получают 1-бензил-3-гидроксиметилиндазол (соединение (IIa), т.пл. 85–86°C.

б) Простой эфир 1-бензил-3-гидроксиметилиндазола с гликолевой кислотой.

К раствору всего количества 1-бензил-3-гидроксиметилиндазола, полученного вышеописанным способом, в 70 мл тетрагидрофурана добавляют 2,4 г гидрида натрия (60%-ная суспензия в масле) и реакционную смесь кипятят в токе инертного газа (азот). Затем добавляют раст-

вор 3,5 г бромуксусной кислоты в 40 мл тетрагидрофурана и реакционную смесь кипятят 90 минут. После охлаждения реакционную смесь обрабатывают обычным способом и подкисляют. Перекристаллизацией полученного продукта из изопропанола получают простой эфир 1-бензил-3-гидроксиметилиндазола с гликолевой кислотой (соединение (I), $R = R' = R'' = H$), т.пл. 136–138°C.

Пример 2.

а) 1-Бензил-3-хлорметилиндазол.

Раствор 1-бензил-3-гидроксиметилиндазола (11 г, получение см. пример 1а) и 11,9 г тионилхлорида в 100 мл толуола кипятят 4 часа. После испарения растворителя получают твердый остаток сырого 1-бензил-3-хлорметилиндазола (соединение (II), $W = Cl$), который применяют на следующей стадии (б) без дополнительной очистки. Образец, перекристаллизованный из гексана, имеет т.пл. 89–91°C.

б) Простой эфир 1-бензил-3-гидроксиметилиндазола с молочной кислотой и ее этиловым эфиром.

К кипящему раствору сырого 1-бензил-3-хлорметилиндазола, полученного вышеописанным способом, и 52 г этиллактата в 100 мл диметилформамида в течение примерно 60 минут порциями прибавляют 2,7 г гидрида натрия (60%-ная суспензия в масле). По окончании прибавления реакционную смесь кипятят еще 30 минут, затем охлаждают, разбавляют водой и отделившееся масло экстрагируют этилацетатом.

Полученный после испарения растворителя остаток представляет собой сырой этиловый эфир (соединение (I), $R = H$, $R' = CH_3$, $R'' = C_2H_5$), который растворяют в растворе 560 г водно-спиртовой смеси (1:1), содержащей 3,4 г NaOH. После кипячения в течение четырех часов большую часть спирта испаряют, оставшийся водный раствор подкисляют и перекристаллизацией образовавшегося твердого вещества из смеси гексана с этилацетатом получают простой эфир 1-бензил-3-гидроксиметилиндазола с молочной кислотой (соединение (I), $R = R'' = H$, $R' = CH_3$), т.пл. 126–128°C.

Или NaOH добавляют при комнатной температуре и по окончании прибавления реакционную смесь нагревают при 40–50°C.

По методике примера 2б, но использованием вместо этиллактата метил-2-гидроксипропаноата, метил-2-этил-2-гидроксипропаноата и метил-2-гидроксипропаноата могут быть получены соединения формулы (I) со значением R , R' и R'' , приведенными ниже.

$R = H$, $R' = C_2H_5$, $R''' = CH_3$ (эфир) и H (кислота),

$R = C_2H_5$, $R' = C_2H_5$, $R''' = CH_3$ (эфир) и H (кислота),

$R = H$, $R' = C_4H_9$, $R''' = CH_3$ (эфир) 5 и H (кислота).

Пример 3. Простой эфир 1-бензил-3-гидроксиметилиндазола с 2-гидрокси-2-метилпропионовой кислотой.

В круглодонную колбу, снабженную 10 мощной мешалкой, последовательно вносят 1,9 г NaOH, 10 г ацетата и 1-бензил-3-гидроксиметилиндазола, полученного вышеописанным способом. Затем добавляют 1,6 г хлороформа (экзотермическая реакция) и смесь нагревают на водяной бане два часа. Добавляют воду, реакционную смесь промывают этилацетатом и подкисляют. Перекристаллизацией полученного в результате продукта из смеси гексана с этилацетатом (1:1) получают простой эфир-1-бензил-3-гидроксиметилиндазола с 2-гидрокси-2-метилпропионовой кислотой (соединение (I), $R = R' = CH_3$, $R''' = H$), т.пл. 132-134°C.

Пример 4. Простой эфир 1-бензил-3-гидроксиметилиндазола с 2-гидрокси-2-этилпропионовой кислотой.

К суспензии 5,9 г 1-бензил-3-гидроксиметилиндазола, полученного вышеописанным способом, 12 NaOH и 35 мл метилэтилкетона по каплям в течение примерно 30 минут прибавляют раствор 6 мл хлороформа и 6,8 мл метилэтилкетона. По окончании прибавления реакционную смесь кипятят 60 мин. Затем охлаждают, добавляют воду, водную фазу отделяют и подкисляют. Образовавшееся масло экстрагируют диэтиловым эфиром, и после испарения растворителя получают масло, которое затвердевает и перекристаллизацией которого из смеси гексана с этилацетатом (1:1) получают простой эфир 1-бензил-2-гидроксиметилиндазола с 2-гидрокси-2-этилпропионовой кислотой (соединение (I), $R = CH_3$, $R' = C_2H_5$, $R''' = H$), т.пл. 115-116°C.

По методике примера 4, но использованием 2- и 3-пентанона, 2- и 3-гексанона, 2-, 3- и 4-гептанона, 3-октанона, 5-нонанона и 6-ундеканона вместо метилэтилкетона получают соединения формулы (I) со значениями R , R' и R''' , приведенными ниже:

$R = CH_3$, $R' = C_3H_7$, $R''' = H$,

$R = C_2H_5$, $R' = C_3H_7$, $R''' = H$,

$R = CH_3$, $R' = C_4H_9$, $R''' = H$,

$R = C_2H_5$, $R' = C_4H_9$, $R''' = H$,

$R = CH_3$, $R' = C_5H_{11}$, $R''' = H$,

$R = C_2H_5$, $R' = C_5H_{11}$, $R''' = H$,

$R = C_3H_7$, $R' = C_3H_7$, $R''' = H$,

$R = C_2H_5$, $R' = C_5H_{11}$, $R''' = H$,

$R = C_4H_9$, $R' = C_4H_9$, $R''' = H$,

$R = C_5H_{11}$, $R' = C_5H_{11}$, $R''' = H$.

Пример 5. Обезболивающая активность соединений настоящего изобретения может быть выявлена в испытании с горячей пластинкой, а также в испытании в вызванном фенолхиноном вытягиванием у мышей.

А. Испытание с горячей пластинкой.

Обезболивающую активность испытывают по методике Woolf и MacDonald (J.Pharmacol. Exp. Ther. 80, 300, 1944), Eddy и др. (J. Pharmacol. Exp. Ther. 98, 121, 1950), Janssen и Jagencan ип. (J.Pharm. Pharmacol. 9, 381, 1957), которая была модифицирована.

1. Оборудование для испытания с "Горючей пластинкой", каталожный № фирмы Ugo Basile (Корнерио-Варез, Италия).

Алюминиевую пластинку нагревают электричеством с помощью батареи по всей поверхности испытаний. Температурный регулятор чувствует изменение температуры пластинки и регулирует подачу напряжения с целью свести к минимуму перегрев. Потенциометр позволяет установить заданную температуру в интервале 45-62°C ($\pm 0,2^\circ C$).

2. Создание дискомфорта.

Мышь (одну) помещают на пластинку, нагретую до $55 \pm 0,2^\circ C$. Для удерживания зверька в пределах "площади испытания" используют прозрачный цилиндр из perspекса диаметром 19 см и высотой 13 см. Зверек проявляет дискомфорт одной из следующих реакций (Eddy и др. J.Pharmacol. Exp. Ther. 98, 12, 1950):

- отдергивание задних лапок (S)
- выворачивание и облизывание подуш задних лапок (L),
- танец около ограничивающего цилиндра (D)
- подъем одной из задних лапок и прижимание ее к телу (A).

Эта реакция обычно проявляется при убывании обезболивающего действия лекарства.

50 - подпрыгивание с попыткой выйти из ограничивающего цилиндра (J).

3. Измерение продолжительности реакции.

Время реакции определяют с помощью встроенного электронного таймера, отсчитывающего каждые 0,1 сек и приводимого в действие с помощью педального выключателя. Таймер включают в момент, когда мышь попадает на пластинку, и выключают, когда зверек проявляет од-

ну из вышеописанных реакций. Сразу же после этого зверька снимают с пластинки и отмечают время пребывания в секундах, соответствующие показаниям таймера и отмеченные символами (S, L, D, A, J) для каждого конкретного типа наблюдаемой реакции (см. пункт 2).

4. Отсчет времени.

Базовый отсчет: два отсчета проводят до введения лекарства соответственно при 20 и 10 минутах. Среднее значение для этих двух отсчетов служит "нормальным временем реакции" (Janssen и Jagencap, J.Pharm.Pharmacol., 9, 381, 1957).

Отсчет после введения лекарства. Отсчет проводят при 10-20-30-40-50-60-90-120 минутах после введения лекарства.

Удлинение времени отсчета. Максимальное увеличение времени отсчета не должно превышать 30 секунд, чтобы избежать повреждения лап зверьков. После указанного времени при отсутствии реакции зверька снимают с пластинки и отмечают время реакции как "> 30", цифра 30 используется при расчетах (Eddy и Jeimbach, J.Pharm. E.Th. 107, 385, 1953).

5. Положительные реакции.

Данный параметр означает "конечную точку" для подсчета ЭД₅₀ и определяется следующим образом (Janssen и Jagencap, J.Pharm. Pharmacol., 9, 381, 1957). Реакция считается положительной, если время реакции, по меньшей мере, однажды > 30 или если, в, по меньшей мере, 3 отсчетах время реакции в 3 или более раз превышает нормальное время реакции.

6. Подопытные группы и введение лекарства.

Для каждого продукта и каждой дозы образуют группы из двух зверьков при максимальном количестве 14 штук. Лекарство в основном вводят внутрибрюшинно или подкожно.

В. Испытание с вытягиванием под действием фенилхинона.

Испытания проводят на мышах по модифицированной методике Henderson, Forsaith (J.Pharmacol.Exp.Ther. 125, 237, 1959).

Вызывающее боль средство: 0,08% (20 мг) (20 мг, 20 мл) фенилхинона (2-фенил-1,4-бензхинона), суспендированного в кукурузном масле согласно Luo x, Smith, Aslem (Arzneim. Forsch. 28, 1644, 1978).

Группы подопытных животных и введение фенилхинона. Образуют группы из 4 мышей (20-30 г) и каждую мышь метят пикриновой кислотой (насыщенный раствор в спирте). Каждому зверьку перентерально вводят фенилхинон (10 мл/кг для каждого зверька весом выше 25 г и 0,25 мл для каждого зверька весом ниже 25 г), помещают в прозрачную пластиковую клетку (23,5 x 13,7 x 13,1 см) и наблюдают в течение 20 минут после введения фенилхинона.

Подсчет вытягиваний и оценка. Наблюдатель регистрирует число вытягиваний для каждого зверька с помощью счетчика нажимного действия.

Вытягивания классифицируют следующим образом.

- полное - сокращение брюшной полости, периодическое искривление туловища и вытягивание задних лапок;
- половинчатое - сокращение брюшной полости и некоторое искривление туловища.

Каждые два вытягивания наблюдатель регистрирует как одно полное.

Введение лекарства. Продукты вводят перорально (O₉) или подкожно (Sc) при -30 или -20 минутах после введения фенилхинона. Троек животным в каждой группе вводят различные продукты, четвертому животному вводят носитель.

Действие соединения примера 3 и ссылочного лекарства на реакцию мышей в испытаниях с применением фенилхинона и горячей пластинки приведены в нижеприведенной таблице.

Продукт	Дозировка, мг/кг		Фенилхинон		Горячая пластинка	
			Число мышей	% ингибирования конвульсий	Число мышей	% повышения времени латентного состояния
Соедин. примера 3	25	о	14	22	—	—
	50	о	24	23(1)	—	—
	100	о	24	38(2)	—	—
	400	о	—	—	8	0
Ацетил- салици- ловая к-та	30	о	11	0	—	—
	60	о	13	25(1)	—	—
	120	о	11	43(2)	—	—
	240	о	13	56(2)	8	0
Морфин	0,5	о	9	52(2)	8	42(1)
	1	о	10	89(2)	8	94(2)
Бенда- зак	100	о	11	5	—	—
	200	о	—	—	8	0

Статистическая оценка в сравнении с контролем (Стьюдент-тест и метод расходящихся кривых): (1) $p < 0,05$; (2) $p < 0,01$, — не испытывалось.

Упорядник

Техред М. Келемеш

Корректор Л.Пчолинська

Замовлення 536

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101

