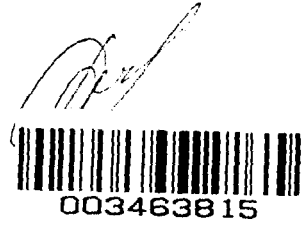


На правах рукописи



РАХИМОВА РЕЗИДА МАНСУРОВНА

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА И ЛЕЧЕБНЫЕ
СВОЙСТВА АРОМАТИЧЕСКИХ АЗОСОЕДИНЕНИЙ ПРИ
ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЯХ КОЖИ**

16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата
ветеринарных наук

1 2 МАР 2009

Казань – 2009

**Работа выполнена на кафедре физиологии и этологии животных
ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной
медицины имени Н.Э. Баумана»**

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, профессор
Гарипов Талгат Валирахманович

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор
Новиков Валерий Александрович

доктор ветеринарных наук, профессор
Мартынов Геннадий Николаевич

Ведущая организация: **ФГОУ ВПО «Башкирский
государственный аграрный
университет»**

Защита состоится 3 апреля 2009 года в 14.00 ч. на заседании диссертационного совета Д-220.034.02 при ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» по адресу 420074, г. Казань, ул. Сибирский тракт, 35, КГАВМ.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана».

Автореферат разослан 27 февраля 2009 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор биологических наук,
доцент



Мухаметгалиев Н.Н.

1. Общая характеристика работы

Актуальность темы. Болезни кожи микотической и саркоптоидной этиологии распространены среди всех видов животных (А. И. Ятусевич, 1999; С.М. Федоров, 2001; В.Н. Шевкопляс, 2006 и др.). Однако, большинство лекарственных соединений, рекомендуемых для их лечения, по ряду причин не удовлетворяют требованиям ветеринарной практики. Так, хлор- и фосфорорганические соединения высокотоксичны, кумулятивны, гонадо- и эмбриотоксичны, выделяются с молоком (Т.Г. Аббасов, 1982; М.А. Ананчиков, 1990; Ю.А. Нахов, 2000; В.Н. Шевкопляс, 2006). Амфотерицин, нистатин часто вызывают аллергию, гризеофульвин, препараты салициловой кислоты (И.В. Сидоров, 2000; E.F. Donovan, 1960; L. Garli, 1988) малоэффективны, обладают побочными действиями.

В связи с этим рекомендованы синтетические пиретроиды, препараты бензилбензоата и макроциклические лактоны (А.Н. Давлетшин, 2000; Е.И. Латкина, 2007). Хорошо зарекомендовали себя как активные инсектоакарициды препараты на основе бензофуруксанов (Т.В. Гарипов, 1988; Р.Г. Каримова, 2003). Среди бензофуруксанов замещенных такими функциональными группами, как окси-, метокси-, хлор- и нитро-, найдены эффективные инсектициды и фунгициды.

Активно ведется поиск новых лекарственных препаратов среди азосоединений (R. Norris Shreve, 1963; З. В. Степанова, 1998). Известно, что азосодержащие гетероциклические соединения обладают выраженной физиологической активностью. Детальное изучение биологической активности, а также фармако-токсикологических свойств азосоединений даст возможность выявить наиболее активные против возбудителей дерматомикозов и акарозов, и рекомендовать их для внедрения в производство. Анализ биологической активности соединения в зависимости от его химической структуры позволит в дальнейшем проводить целенаправленный синтез соединений, проявляющих необходимую биологическую активность. В связи с изложенным, поиск новых лечебных средств для лечения паразитарных болезней животных в целом, и в частности среди азосоединений, актуален и отвечает запросам ветеринарной науки и практики.

Цель и задачи исследований Основная цель исследований - изучение биологической активности, фармако-токсикологических свойств ароматических азосоединений и установление их перспективности как средств для лечения паразитарных болезней кожи животных.

Исходя из цели работы были поставлены следующие задачи:

1. Определить антимикробную, фунгистатическую и акарицидную активность азосоединений в связи с их структурой и выявить наиболее активные.

2. Определить параметры токсичности, кумулятивные и сенсibilизирующие свойства наиболее активных ароматических азосоединений.

3. Изучить влияние наиболее активных ароматических азосоединений на морфологический и биохимический состав крови животных, функциональное состояние центральной нервной системы, на изолированные сердце и кровеносные сосуды животных.

4. Установить наличие и характер гистоморфологических изменений, возникающих в организме лабораторных животных после длительного внутреннего применения препаратов.

5. Установить отдаленные последствия действия ароматических азосоединений на организм животных.

6. Разработать лекарственные формы и рекомендации к применению ароматических азосоединений для лечения псороптоза кроликов, отодектоза и микроспории собак и кошек, изучить их терапевтическую эффективность.

Научная новизна. Впервые в сравнительном аспекте изучена активность 13-ти ароматических азосоединений и установлено, что их биологическая активность зависит от заместителей и положения их в молекуле азосоединения. Выявлены соединения, обладающие выраженными антимикробными, антимикотическими и акарицидными свойствами. Определены параметры токсичности 4-(-м-нитрофенилазо-)м-хлорфенола (Азонол) и 2-(2,4-динитрофенилазо-)м-хлорфенола (Азодин). Доказано отсутствие их отрицательного влияния на общее состояние, морфологический и биохимический состав крови, функциональное состояние центральной нервной системы животных, изолированное сердце и кровеносные сосуды лапок лягушки. Установлено отсутствие отдаленных последствий действия препаратов на организм. Изучена гистоморфология тканей и органов животных, длительное время получавших внутрь азосоединения. Разработаны лекарственные формы, дозы и схемы применения ароматических азосоединений при псороптозе кроликов, отодектозе и микроспории кошек и собак.

Практическая ценность. Результаты исследований могут быть использованы для направленного синтеза новых соединений, обладающих широким спектром антипаразитарного действия и создания эффективных средств для лечения паразитарных болезней кожи животных.

Для внедрения в ветеринарную практику рекомендованы Азонол и Азодин в виде 0,1% спиртового раствора, как эффективное средство при псороптозе кроликов, отодектозе и микроспории собак и кошек.

По результатам исследований разработаны и утверждены в установленном порядке Главным управлением ветеринарии Кабинета Министров Республики Татарстан (13.11.2008 г) «Временное наставление по применению препарата Азонол при акарозах и дерматомикозах животных» и «Временное наставление по применению препарата Азодин при акарозах и дерматомикозах животных».

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

-биологическая активность ароматических азосоединений зависит от заместителей и их положения в молекуле;

-наиболее выраженным антимикробным, антимикотическим и акарицидным действием обладают 4-(*m*-нитрофенилазо-)-*m*-хлорфенол (Азонол) и 2-(2,4-динитрофенилазо)-*m*-хлорфенол (Азодин);

-Азонол и Азодин малотоксичны для теплокровных животных, не обладают кумулятивным и сенсибилизирующим свойствами при длительном применении;

-Азонол и Азодин, в рекомендуемых дозах и концентрациях, не оказывают отрицательного действия на морфологический и биохимический состав крови, функциональное состояние центральной нервной системы, не обладают мутагенным и тератогенным действием;

-Азонол и Азодин в виде 0,1% спиртового раствора эффективны при псороптозе кроликов, отодектозе и микроспории собак и кошек.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и одобрены на конференции молодых ученых Приволжского федерального округа, посвященной роли молодых ученых в реализации национального проекта – Развитие АПК (Саратов, 2007), Всероссийской научно-практической конференции (Казань, 2007), Межрегиональной научно-практической конференции (Воронеж, 2007), Научно-практической конференции «Фармакологические и экотоксикологические аспекты ветеринарной медицины» (Троицк, 2007), Итоговой конференции Республиканского конкурса научных работ среди студентов и аспирантов на соискание премии имени Н.И. Лобачевского (Казань, 2007), Всероссийском конкурсе на лучшую научную работу среди студентов и аспирантов (Казань, 2007).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 10 работ, в том числе 4 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 135 страницах компьютерного набора, иллюстрирована 32 таблицами и 12 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения результатов исследований и выводов. Список использованной литературы включает 285 источников, в том числе 81 зарубежных.

2.1. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены на кафедре физиологии и этологии ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» и в условиях государственной участковой ветеринарной лечебницы Советского района г. Казани и Спасского РГВО РТ в 2006-2008 гг.

Объектами исследований служили 13 ароматических азосоединений, синтезированные на кафедре ХТОСА в ФГОУ ВПО «Казанский государственный технологический университет» (КГТУ).

* Выражаю благодарность за оказанную консультацию и помощь доценту кафедры физиологии, канд.биол.наук Каримовой Р.Г

В качестве растворителя соединений использовали диметилсульфоксид (димексид, Р.75.244.9), спирт этиловый, а для приготовления суспензии - стеарокс-6 (ГОСТ 8980-75).

Экспериментальная часть работы выполнена на 72 белых беспородных мышах, 206 белых беспородных крысах, 72 кроликах, 39 собаках и 71 кошке.

Определение бактериостатической активности препаратов *in vitro* проводили методом серийных разведений в жидкой питательной среде (бульон Хоттингера) с определением минимальной бактериостатической концентрации (МБСК). Бактерицидную активность 2-(2,4-динитрофенилазо)-м-хлорфенола и 4-(4-нитрофенилазо)-м-хлорфенола изучали на *Escherichia coli* (штамм 2592) и *Staphylococcus aureus* (штамм 209 P) при комнатной температуре (19-22 °С) и при t 37 °С и дальнейшим культивированием их на мясопептонном агаре. Наличие или отсутствие роста культуры в пробирках после суточной и пятисуточной инкубации при температуре 37 °С определяли визуально (С.Н. Милованова, 1971).

Антимикотическое действие соединений определяли по отношению к *Tr. mentaglyphus* методом серийных разведений (С.Н. Милованова, 1971; З.Г. Степанищева, 1971).

Акарицидную активность препаратов определяли на клещах *Psoroptes cuniculi* (А.В. Алфимова, 1949). Клещей подвергали воздействию водных суспензий препаратов в концентрациях от 0,000001 до 0,5%, контрольных - 0,5% раствора стеарокса-6. Об акарицидной активности судили по показателю СК₅₀ (среднесмертельная концентрация), которую высчитывали по формуле Кербера (1931).

Острую токсичность препарата изучали на белых беспородных крысах живой массой 180-200 г, белых беспородных мышах живой массой 25-30 г. Соединения вводили однократно в различных дозах в виде 10% водной суспензии внутривентрикулярно. Наблюдение за животными вели ежедневно в течение 10 дней с момента введения препарата, учитывая время развития интоксикации, клиническую картину отравления, срок и процент гибели животных и результаты патологоанатомического вскрытия.

Кумулятивные свойства определяли по методу «субхронической токсичности» (Lim R.K., Rink K.G., Glass H.G., 1961). Контрольным животным вводили раствор эмульгатора. Расчет коэффициента кумуляции проводили по формуле, предложенной Ю.С. Каганом и В.В. Станкевичем (Ю.С. Каган, 1970).

Раздражающие свойства препаратов изучали по методу, описанному в «Методических указаниях по определению токсических свойств препаратов в ветеринарии и животноводстве» (1998).

Сенсибилизирующие свойства Азонола и Азодина изучали на кроликах путем эпикутаных аппликаций («Методических указаний по определению токсических свойств препаратов в ветеринарии и животноводстве», 1998).

Изучение мутагенного действия Азонола и Азодина проводили на примере His⁺ реверсий у ауксотрофного по гистидину штамма Ва 13

Salmonella thyphimurium, имеющего мутацию в гене *hisG46* (А.М.Фонштейн и др., 1985).

Эмбриолетальное и тератогенное действие препаратов оценивали на белых беспородных крысах («Методические указания по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияния их на репродуктивную функцию», 1986).

Для изучения влияния Азонола и Азодина на функциональное состояние центральной нервной системы белых крыс пользовались тест-методом «открытое поле» (Н.М. Ватгос, 1992; А.В. Калуев, 1998).

Влияние Азонола и Азодина на морфологический состав крови изучали по общепринятым методикам. Количество АсАТ и АлАТ определяли спектрофотометрическим методом, альфа-амилазы прямым колориметрическим методом (К. Lorentz, 1998; F.A.Ying, 1998; С.А. Burtis, 2001; D.S. Yong, 2000). Концентрацию щелочной фосфатазы определяли реакцией Р-нитрофосфата, креатинина по методу Яффе (R.L. Henry, 1974; С.А. Burtis, 2001). Триглицериды в сыворотке крови определяли по классической PАР-реакции с 4 аминокантипирином, глюкозы - глюкозооксидазным методом (С.А. Burtis, 2001; N.W. Tietz, 2006), фосфора и кальция - фотометрическим тестом, общего белка - биуретовой реакцией (N.W. Tietz, 2006). Уровень белковых фракций определяли унифицированным методом электрофоретического разделения на пленках из ацетата целлюлозы (N.W. Tietz, 2006).

Для морфологических исследований патматериал фиксировали в 10% формалине. Окраску срезов проводили гематоксилин-эозином.

Клинические испытания препаратов проводили в условиях ветеринарных клиник г. Казани и Спасского района Республики Татарстан.

Статистическую обработку цифрового материала проводили на компьютере с использованием программы Microsoft Excel.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Физико-химические свойства азосоединений

Азосоединения представляют собой порошки красного или коричневого цвета, нерастворимые в воде, хорошо растворимые в органических растворителях (диметилсульфоксид, этиловый спирт, хлороформ и другие). С водой в присутствии ПАВ образуют суспензии.

3.2. Биологическая активность азосоединений

3.2.1. Антибактериальная активность

Из изученных 13-ти соединений наиболее выраженной бактериостатической активностью обладает 2-(2,4-динитрофенилазо)-м-хлорфенол. Его МБСК в отношении золотистого стафилококка составила

0,00039%, что объясняется присутствием в молекуле атома хлора (табл. 1). Замена хлорного радикала на гидроксильную группу в молекуле 2,4-динитрофенилазорезорцина снизило МБСК в 160 раз - 0,0625%. Такая же активность наблюдается и у 4-(*m*-нитрофенилазо-)-*m*-хлорфенола, что объясняется уже отсутствием одной нитрогруппы. Меньшей активностью обладают 3-(2,4-динитрофенилазо)-2,6-диаминопиридин и 3-(*p*-нитрофенилазо)-2,6-диаминопиридин с МБСК 0,125%. Снижение антибактериальной активности можно объяснить наличием в молекуле двух аминогрупп.

У 2-(2,4-динитрофенилазо)-*m*-хлорфенола и 4-(*m*-нитрофенилазо-)-*m*-хлорфенола была изучена бактерицидная активность. Установлено, что 4-(*m*-нитрофенилазо-)-*m*-хлорфенол и 2-(2,4-динитрофенилазо)-*m*-хлорфенол *in vitro* при двухчасовой экспозиции при температуре 37 °С проявляют стойкую бактерицидную активность по отношению к *St. aureus* в 0,03125 %, а к *E. coli* в 0,0625% концентрации. При комнатной температуре соединения активны в концентрации 0,03125 % как для *St. aureus*, так и для *E. coli*.

3.2.2. Антимикотическая активность азо-соединений

Установлено, что выраженной фунгистатической активностью из изученных нами азосоединений, обладают хлорфенолы с содержанием нитро-группы в мета-положении к азо-группе 4-(*m*-нитрофенилазо-)-*m*-хлорфенол (МФСК - 0,0625%) или с содержанием двух нитро-групп 2-(2,4-динитрофенилазо)-*m*-хлорфенол (МФСК - 0,125%) (табл. 1).

Изменение положения нитрогруппы из мета- в пара-(4-(*p*-нитрофенилазо-)-*m*-хлорфенол) или орто- положение (4-(*o*-нитрофенилазо-)-*m*-хлорфенол) - приводило к резкому снижению фунгистатической активности (МФСК >0,5%). У 2,4-динитрофенилазорезорцина МФСК по отношению к *Tr. mentagrophytes* равна 0,25%, что свидетельствует о меньшей его активности по отношению к грибам.

Следовательно, азофенолы проявляют более высокую фунгистатическую активность.

3.2.3. Акарицидная активность азосоединений

Выраженную акарицидную активность проявили только два соединения. Это 4-(*m*-нитрофенилазо-)-*m*-хлорфенол и 2-(2,4-динитрофенилазо)-*m*-хлорфенол (табл. 1). Следовательно, акарицидная активность выше у соединений с одной нитрогруппой в мета- положении (4-(*m*-нитрофенилазо-)-*m*-хлорфенол, соединение № 10, СК₅₀-0,0004%). Введение второй нитрогруппы снизило активность в 9 раз, а изменение положения заместителей в орто- или пара- резко снизило акарицидную активность (СК₁₀₀>1%). СК₅₀ у 2-(2,4-динитрофенилазо)-*m*-хлорфенола составляет 0,0035%. Установлено, что после контакта в первую очередь у

клепей теряется подвижность 3-4 пары конечностей. Гибель их наступает в течение 20 часов.

По результатам исследования биологической активности 13-ти азосоединений мы выделили два соединения, которые обладают выраженным бактериостатическим, фунгистатическим и акарицидным действием.

1. Биологическая активность азосоединений

№	Химическое название	МБСК, %		МФСК, %	СК ₅₀
		St. Aureus	E. coli	Tr. mentagraphytes	Psoroptes cuniculi
1	2-(2,4-динитрофенилазо)-м-хлорфенол	0,00039	0,025	0,125	0,0035
2	3-(2,4-динитрофенилазо)-2,6-диаминопиридин	0,125	>0,5	0,5	-
3	3-(п-нитрофенилазо)-2,6-диаминопиридин	0,125	>0,5	0,5	-
4	2,4-динитрофенилазо-резорцин	0,0625	>0,5	0,25	-
5	4-(м-нитрофенилазо)-м-хлорфенол	0,0625	0,0625	0,0625	0,0004
6	4-(п-нитрофенилазо)-м-хлорфенол	0,25	>0,5	>0,5	-

Это 2-(2,4-динитрофенилазо)-м-хлорфенол (Азодин) и 4-(м-нитрофенилазо)-м-хлорфенол (Азонол). Их фармако-токсикологические свойства изучены более подробно.

3.3. Изучение параметров острой токсичности Азонола и Азодина

Острую токсичность Азонола и Азодина изучали на белых мышах обоего пола живой массой 25-30 г (n=72) и белых крысах обоего пола живой массой 180-200 г (n=42).

Белым мышам Азонол вводили однократно в желудок в дозах 100-3500 мг/кг, Азодин - 400-5000 мг/кг, контрольным животным 4 мл 1% раствора эмульгатора.

Азонол и Азодин в дозах до 2500 мг/кг не вызывали у мышей внешних признаков отравления. При применении доз 3000, 4000 и 5000 мг/кг гибель мышей наступала в пределах 30-240 минут. Клиника отравления проявлялась судорогами, сменяющимися угнетением и коматозным состоянием. После установления числа животных, павших за время наблюдения (10 дней), рассчитывали LD₅₀ по методу Миллера и Тейнтера. Установлено, что максимально переносимая доза Азонола для белых мышей равна 3000 мг/кг, LD₅₀ - 3400 мг/кг, LD₁₆ - 3200 мг/кг, LD₈₄ - 3700 мг/кг, а Азодина

соответственно - 2000 мг/кг, 3200 мг/кг, 2400 мг/кг, 4200 мг/кг. Животные, оставшиеся в живых, через 4-5 часов становились подвижными, охотно принимали корм и не отличались от контрольных.

При патологоанатомическом вскрытии отмечалась гиперемия внутренних органов, катаральное воспаление желудочно-кишечного тракта, дистрофия паренхиматозных органов, расширение сердца, застойная гиперемия и отек легких.

Вариабельность смертельных доз, определенная отношением LD_{16} к LD_{84} , по отношению к белым мышам у Азодина составила 0,57, а у Азонола - 0,86.

Азонол и Азодин в дозах 500-5000 мг/кг не вызывали каких либо изменений в поведении и общем состоянии крыс.

Согласно ГОСТ 12.1.007-76(1996), Азонол и Азодин относятся к IV классу опасных веществ. Учитывая, что коэффициент вариабельности летальных доз у Азодина (0,57) ниже, чем у Азонола (0,86), можно сделать вывод, что Азодин менее токсичен для животных.

3.4. Изучение кумулятивного действия Азонола и Азодина

Кумулятивные свойства Азонола и Азодина изучали на 23 белых беспородных крысах обоего пола массой тела 170-180 г по методу «субхронической токсичности».

В результате ежедневного (25 дней) внутрижелудочного введения препаратов каждое животное получило суммарно 6434 мг/кг соединений. Первые клинические признаки отравления наблюдались на 24 день после введения Азонола или Азодина в дозе 379,65 мг/кг (суммарная доза каждого соединения составила 4156,1 мг/кг). Симптомы отравления характеризовались небольшим угнетением общего состояния животных. Крысы забивались в угол, зарывались в подстилку. Спустя 2-3 часа состояние крыс нормализовалось, они начинали принимать корм и пить воду. Ни одно животное за период эксперимента не погибло.

К концу эксперимента масса тела крыс которым вводили Азонол увеличилась на 25%, Азодин – на 26%, у крыс контрольной группы – 24%. Следовательно, Азонол и Азодин при внутрижелудочном введении не кумулируются в организме и не оказывают отрицательного воздействия на прирост массы тела.

3.5. Определение раздражающего действия Азонола и Азодина на слизистые оболочки и кожу

Раздражающее действие Азонола и Азодина в концентрациях 0,1% и 0,5% изучали на 15 кроликах обоего пола живой массой 2,5-3 кг, разделенных на 5 групп (n=3), путем 10-дневного нанесения на слизистую оболочку глаза, а другой глаз служил контролем. Кроликам контрольной

группы на конъюнктиву правого глаза закапывали по две капли раствора стеарокса-6, а левого столько же водопроводной воды комнатной температуры (18-20°C). Состояние животных оценивали через 5, 30, 60 минут после нанесения препарата и ежедневно в течение 10 дней. Учитывали общее состояние животных, пищевую возбудимость, состояние слизистой оболочки глаза, время появления и выраженность гиперемии, отечность, инъекцию сосудов склеры и роговицы, измеряли диаметр зрачка, наблюдали за состоянием век.

Азодин в виде 0,1% и 0,5% суспензии вызвал гиперемию кровеносных сосудов и сужение зрачка. Азонол в виде 0,1% суспензии вызывал незначительное покраснение конъюнктивы, а 0,5% раствор вызвал еще и сужение зрачка на 2 мм. Эффекты вызванные Азонолом и Азодином полностью исчезали в течение 90-120 минут.

У животных контрольной группы, которым вводили раствор стеарокса, наблюдалось слезотечение, незначительная гиперемия, исчезающая в течение 30 – 40 минут.

Местное действие Азонола и Азодина на кожу изучали на 36 белых беспородных крысах живой массой 180-200 г, которых разделили на 6 групп по 3 крысы в каждой, и 36 кроликах, живой массой 2,5-3 кг. Крысам и кроликам на предварительно выстриженные участки кожи наносили ежедневно в течение 25 дней по 1 мл 0,1; 1; 2; 5 и 10% суспензии препарата на стеароксе. На выстриженный участок кожи, служивший контролем, наносили такое же количество растворителя.

В результате проведенных исследований установлено, что Азонол и Азодин в концентрации не выше 10% не оказывают выраженного отрицательного действия на кожу и слизистые оболочки животных.

3.6. Выявление аллергизирующего действия Азонола и Азодина

Сенсибилизирующие свойства Азонола и Азодина изучали на 9 кроликах, массой 2 кг. Предварительно определили первично-раздражающее действие препаратов путем однократных накожных аппликаций различных их разведений для выявления концентрации, которая не вызывает реакцию кожи животных. Такой оказалась 10% концентрация.

За день до опыта у кроликов выстригали волосы на участке спины размером 2х3 см. На поверхность кожи наносили 10% раствор Азонола или Азодина, выдерживали 4 часа и смывали дистиллированной водой. На 10-й день нанесения препаратов у кроликов наблюдалось утолщение кожной складки, болезненность и гиперемия кожи. Затем нанесение их было прекращено. Через 21 день после последней аппликации, на кожу свежеевстриженного участка спины вновь нанесли разрешающую дозу 1 мл препаратов в той же концентрации. Учет реакции проводили через 24 часа. Признаков аллергической реакции у опытных животных не обнаружили.

3.7. Изучение влияния Азонола и Азодина на морфологический состав крови

Азонол (1 группа) и Азодин (2 группа) вводили внутривенно в виде 10% суспензии в течение 25 дней в дозах по 50 мг/кг. Контрольным животным (3 группа) вводили раствор стеарокса. Кровь для анализа брали утром натощак из хвостовой артерии до введения препаратов, затем на 5-, 15- и 25-й дни исследования.

В крови у крыс всех трех групп в течение эксперимента повышалось количественное содержание эритроцитов и лейкоцитов, соответственно у первой группы с $7,2 \pm 0,18 \times 10^{12}/л$ и $8,5 \pm 0,36 \times 10^9/л$ до $8,0 \pm 0,33 \times 10^{12}/л$ и $8,9 \pm 0,26 \times 10^9/л$, у второй группы с $7,3 \pm 0,21 \times 10^{12}/л$ и $8,4 \pm 0,32 \times 10^9/л$ до $7,8 \pm 0,43 \times 10^{12}/л$ и $8,7 \pm 0,40 \times 10^9/л$, третьей группы с $7,3 \pm 0,27 \times 10^{12}/л$ и $8,4 \pm 0,29 \times 10^9/л$ до $8,1 \pm 0,29 \times 10^{12}/л$ и $9,0 \pm 0,24 \times 10^9/л$. Содержание гемоглобина и СОЭ у животных опытной группы менялись незначительно. Количество гемоглобина не изменялось к концу эксперимента и тем самым можно сделать вывод, что насыщенность гемоглобином одного эритроцита снижается. Это явление, по-видимому, не связано со специфическим действием препаратов, а является лишь ответной реакцией организма крыс на стресс-факторы: манипуляции с введением зонда и препарата в желудок.

В лейкоформуле к пятнадцатому дню количество эозинофилов под влиянием Азонола и Азодина достоверно повышается на 45 и 56% соответственно, а к двадцать пятому дню количество эозинофилов восстанавливается, причем снижение отмечается во всех трех группах, что мы объясняем ответной реакцией организма на поступление ксенобиотиков сопровождающейся выработкой факторов абсорбирующих их – эозинофилов.

Количество моноцитов, у крыс получавших Азонол, увеличилось в 3 раза, а у получавших Азодин – в 2,5 раза. Повышение количества моноцитов мы можем объяснить необходимостью повышения активности противосвертывающей системы крови при эозинофилии.

В лейкоцитарной формуле высчитывали лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ), индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК) и лимфоцитарный индекс (ЛИ), которые отражают состояние системы естественной резистентности. Отсутствие достоверных изменений этих показателей позволяют сделать вывод о том, что препараты не оказывают влияние на состояние естественной резистентности.

Существенных изменений содержания холестерина, мочевины, фосфора и кальция не наблюдалось.

Десятидневное поступление Азонола в организм привело к достоверному уменьшению креатинина на 38%, увеличению триглицеридов на 37,7%, АсАТ на 30%, АлАТ на 41,6%, щелочной фосфатазы на 7,5%, а Азодина - к достоверному увеличению содержания триглицеридов на 22,5%, АсАТ на 10,6%, щелочной фосфатазы на 4,2% и уменьшению количества креатинина на 35%. К тридцатому дню применения соединений все величины были на исходном уровне.

Уровень амилазы в крови к десятому дню достоверно снизился в первой группе на 26,9%, во второй - на 12,5%, в контрольной - на 16,6%. К тридцатому дню содержание амилазы в крови опытных групп вернулось на исходный уровень, тогда как в контрольной группе данный показатель повысился на 21%.

Несколько иначе влияют препараты на содержание общего белка и его фракций в крови. Содержание общего белка в сыворотке крови животных первой и второй групп было соответственно 70,1 и 75,5 г/л. В ходе эксперимента, его уровень в крови животных опытных групп снизился незначительно, а в контроле на 2,6%. Содержание альбуминов в крови животных контрольной группы к тридцатому дню опыта возросло на 8,7%, в группе, получавшей Азонол - на 2,8%, а в группе получавшей Азодин их концентрация не изменилась.

У животных, получавших Азонол, содержание γ -глобулинов на двадцатый день эксперимента снизилось на 19,8%, α_1 -глобулинов повысилось на 13,5%, а на тридцатый день их содержание было на уровне исходного. У животных, получавших Азодин, в ходе эксперимента, существенных изменений в глобулиновых фракциях не наблюдалось.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что во время эксперимента крысы неизбежно испытывают стресс, а Азодин в виду успокаивающего действия на организм снижает стрессовую реакцию и тем самым обеспечивает стабильность фракций белков крови.

При патологоанатомическом исследовании установлено, что при длительном внутреннем поступлении (30 дней), Азонол и Азодин вызывают обратимые деструктивные изменения в слизистой оболочке желудка и кишечника, с наличием в печени зернистой, местами гиалиново-капельной дистрофии.

3.8. Влияние Азонола и Азодина на изолированные сердце и сосуды лапок лягушек

Для опытов использованы лягушки осеннего улова массой 60-80 г. Препараты применяли в виде 0,01, 0,001, и 0,0001% суспензий, приготовленных на жидкости Рингера для холоднокровных.

Установлено, что Азонол в виде 0,0001% суспензии вызывает уменьшение амплитуды и частоты сердечных сокращений. На первой минуте амплитуда и частота сердечных сокращений составляют 7 мм и 60 в мин, на шестой минуте соответственно - 3 мм и 42 в мин. Остановка сердца происходит на шестнадцатой минуте эксперимента. После промывания раствором Рингера амплитуда и частота сердечных сокращений восстанавливаются до первоначальных значений.

Если частота сердечных сокращений в норме составляла 36-40 в мин и высота амплитуды 13-15 мм, то при воздействии 0,0001% суспензии Азодина они составляли на тридцатой минуте 28-30 в мин и 7 мм, а на сорок пятой минуте - 26 в мин и 6 мм соответственно.

Азонол и Азодин в виде 0,001% суспензии на изолированное сердце оказывают более выраженное угнетающее действие. Сердечные сокращения под влиянием Азонола уменьшаются с 44 до 30 в мин, а амплитуда с 15 до 3 мм. На четырнадцатой минуте наступает остановка сердца.

Азонол и Азодин в 0,01% концентрации сильнее угнетают частоту и амплитуду сердечных сокращений. Остановка сердца происходит через 11 минут, и при отмывании раствором Рингера лишь частично восстанавливается его сократительная деятельность.

В опытах на модели кровеносных сосудов изолированных лапок лягушки, установлено, что в норме скорость оттока жидкости через сосуды за одну минуту составляет 42 капли. Азонол в концентрации в 0,0001% вызывает сужение просвета кровеносных сосудов в два раза. Высокие концентрации соединений (0,001-0,01%) вызывают более выраженный сосудосуживающий эффект. Отмывание сосудов раствором Рингера несколько восстанавливает просвет сосудов, но полного восстановления не происходит.

Азодин в 0,0001-0,01% концентрациях в течение первых 10 минут вызывает расширение кровеносных сосудов лапок лягушки. Если в норме скорость оттока жидкости через кровеносные сосуды была равна 42 каплям в минуту, то при пропускании 0,0001% Азодина через одну минуту объем вытекающей жидкости увеличился на 57,2%. С увеличением концентрации (0,001-0,01%) сосудорасширяющий эффект становится более выраженным.

3.9. Влияние Азонола и Азодина на функциональное состояние центральной нервной системы

Влияние Азонола и Азодина на функциональное состояние центральной нервной системы изучали на 9 белых беспородных крысах обоего пола, массой 180-200 г, разделенных на три равные группы.

Первой группе животных каждый день внутрижелудочно вводили Азонол в дозе 50 мг/кг, второй - Азодин в той же дозе, третья группа состояла из интактных животных. Наблюдение за крысами вели до опыта, через два часа после введения препарата, на 2-й, 3-й, 5-й, и 7-й день исследования.

Изучая поведенческие реакции крыс, определяли горизонтальную исследовательскую активность (количество пересеченных квадратов по зонам и исследованных отверстий), вертикальную исследовательскую активность (количество вертикальных стоек с опорой и без) и уровень тревожности (количество актов мочеиспускания, дефекации, груминга).

Установлено, что интактные крысы при первом тестировании обследовали в среднем $28,00 \pm 0,71$ квадратов, к концу эксперимента их количество достоверно увеличилось на 14%, а среднее количество исследованных отверстий увеличилось на 4%.

После внутрижелудочного введения Азонола на первый день эксперимента наблюдалось понижение горизонтальной исследовательской

активности, которое к концу опыта вернулось к первоначальному показателю. Так, среднее количество исследованных квадратов на первый день снизилось на 10%, а к концу эксперимента достоверно повысилось на 19%. Число исследованных отверстий по сравнению с исходной на первый день эксперимента было меньше на 27%, но в течение опыта вернулись к исходному показателю.

Азодин повышал исследовательскую активность крыс. Среднее число исследованных квадратов и отверстий достоверно увеличивалось на 26% и 50% соответственно к седьмому дню исследования.

Вертикальная исследовательская активность крыс всех трех групп также повысилась, но достоверно только у крыс, получавших Азодин. У них количество выполненных стоек с опорой возросло в 2,2 раза, а без опоры - 1,7 раз.

Уровень тревожности у интактных крыс менялся незначительно. Максимальная продолжительность актов груминга - $7,67 \pm 1,39$ с отмечалась на пятый день помещения крыс на «открытое поле». Общая продолжительность актов замирания в течение эксперимента уменьшилась в 2,3 раза.

Частота актов груминга у крыс, получавших Азонол, было выше, чем в контроле, в 3 раза. Продолжительность актов груминга и актов замирания на первый день введения Азонола были равны $11,67 \pm 1,78$ с и $39,67 \pm 2,18$ с, а к седьмому дню понизились до $4,67 \pm 1,72$ с и $10,00 \pm 0,41$ с.

Показатели тревожности крыс, которым ввели Азодин, при первом помещении на «открытое поле» были изменены незначительно. Исключение составляет общая продолжительность актов замирания, которая на первый день введения препарата достоверно повысилась с $11,67 \pm 0,2$ с до $48,3 \pm 9,42$ с, а к седьмому дню снизилась до $8,33 \pm 1,36$ с.

Установлено, что исследовательская активность как опытных, так и интактных крыс, повышается в течение эксперимента в зависимости от частоты помещения их на «открытое поле». У контрольной группы и у крыс, получавших Азонол в дозе 50 мг/кг в виде 10% суспензии, отмечается кратковременное повышение уровня тревожности, общей продолжительности актов замирания, частоты и общей продолжительности актов груминга. Азодин у белых крыс вызывает достоверное увеличение количества исследованных отверстий, что говорит о значительном повышении исследовательской активности.

3.10. Определение эмбриотоксического действия Азонола и Азодина

Эмбриотоксическое и тератогенное действие исследуемых препаратов в дозах 10 и 50 мг/кг изучали на 60 беременных самках белых беспородных крыс, разделенных на 5 групп по 12 животных в каждой. Первой и второй группе вводили Азонол, третьей и четвертой - Азодин. Пятая группа состояла

из интактных беременных самок. Соединения вводили с 1 по 19 дни беременности.

Из каждой группы по 6 животных умерщвляли на 20-й день беременности и оценивали эмбриотоксическое действие соединений (1 этап). При этом вели подсчет количества желтых тел в яичниках, мест имплантации в матке, количество живых, мертвых и резорбтированных плодов. У плодов определяли кранио-каудальные размеры, массу тела, наличие анатомических аномалий и кровоизлияний. Показателем эмбриолетальности служили пред- и постимплантационная смертность, показателем тератогенности — анатомические пороки развития и общая задержка развития плодов.

Установлено, что Азонол и Азодин в дозе 10 мг/кг не оказывают эмбриотоксического и тератогенного действия, а в дозе 50 мг/кг вызывают достоверное снижение количества плодов, у самок получавших Азонол — в среднем на 3,5, Азодин — на 1,3. Однако, масса и кранио-каудальные размеры плодов у самок, получавших Азонол, выше, чем у контрольной, в 1,2 раза. Анатомические пороки развития плодов в опытных и контрольных группах не обнаружены. Это позволяет сделать вывод, что Азонол и Азодин не обладают тератогенным действием.

Остальных животных содержали до родов для выявления наличия или отсутствия нарушений эмбрионального развития, проявляющихся в постнатальном периоде жизни их потомства (2 этап).

В течение беременности клиническое состояние животных опытных групп не отличалось от контрольной группы. Животные хорошо поедали корм и адекватно реагировали на раздражители. Продолжительность беременности крыс составила 21 - 23 дня. Роды прошли без осложнений. Установлено, что у самок, получавших Азонол в дозе 50 мг/кг, достоверно снижено количество приплода. Так, если у контрольной группы численность приплода на одну самку составила $7,8 \pm 0,28$, то у самок, под влиянием Азонола этот показатель составил $4,80 \pm 0,89$. Наблюдалось достоверное увеличение массы крысят. У самок, которым вводили Азонол, масса крысят составила $7,03 \pm 0,17$, Азодин — $6,94 \pm 0,08$, тогда как у контрольной группы $5,96 \pm 0,04$ г.

Скорость созревания сенсорно-двигательных рефлексов у крысят (переворачивание на плоскости, отрицательный геотаксис, избегание обрыва, поднимание головы, ползание), родившихся от матерей, получавших препараты в период их антенатального онтогенеза, не отличается от таковых контрольной группы.

3.11. Определение мутагенного действия Азонола и Азодина

Установлено, что оба соединения обладают бактерицидными свойствами по отношению к *S. typhimurium*, однако, оба соединения существенно различались по величине минимальной ингибирующей концентрации (МИК). МИК Азонола составила 30 мкг/мл, тогда как для Азодина — 500 мкг/мл.

Оценку генотоксических свойств данных соединений осуществляли на примере His⁺ мутаций в локусе hisG46 штамма BA13 *S. thyphimurium* (тест Эймса). Оба соединения в диапазоне субвитаальных концентраций (для Азонола в диапазоне 1-6 мкг/мл, для Азодина — 10-40 мкг/мл) мутагенного эффекта на бактериальные организмы не оказывали.

Было также установлено, что в популяции *S. thyphimurium* спонтанно с частотой $5,35 \times 10^{-7}$ - $4,37 \times 10^{-8}$ возникают клетки устойчивые к Азонолу в диапазоне концентраций от 30 мкг/мл до 240 мкг/мл. Вокруг мутантов на среде образуется светлое пятно (вещество придает среде красный оттенок), указывающее на способность устойчивых клеток разлагать данное соединение. При посеве культуры чувствительных бактерий на среду, где концентрация Азонола составляла более 240 мкг/мл, устойчивые клетки выявлены не были.

Следовательно, Азонол и Азодин мутагенными свойствами не обладают, так как количество мутаций в опытных и контрольных чашках не различается более чем в 2,5 раза.

4. Разработка лекарственных форм Азонола и Азодина

Разработаны ушные капли — 0,1% растворы Азонола и Азодина в 70% спирте этиловом. Спиртовые растворы обладают стабильностью, не выпадают в осадок и хранятся длительное время.

На клинические испытания как лечебные средства при псороптозе кроликов, отодектозе и микроспории собак и кошек были предложены 0,1%-ные растворы Азонола и Азодина в 70% спирте.

4.1. Терапевтическая эффективность Азонола при псороптозе кроликов

Диагноз на псороптоз ставили на основании клинических признаков и результатов исследования соскобов, взятых с места поражения.

Лечебная эффективность Азонола изучена в виде 0,5; 0,25; 0,1; 0,05% концентрации на 70° этиловом спирте, путем 4-5 кратного нанесения на очаги поражения.

Лечение проводили после предварительной очистки ушной раковины от чешуек, корок и экссудата. Кратность применения раствора Азонола зависела от степени поражения (4-5 раз с интервалом в один день).

После однократного применения 0,5; 0,25 и 0,1% спиртовых растворов Азонола животные успокаивались, охотно принимали корм и воду. Пораженные участки кожи начинали освобождаться от корочек, кожа становилась чистой, розового цвета.

В соскобах, взятых на 4 и 5 день лечения, отсутствовали живые клещи, на пораженных участках начинался рост волос. Полное выздоровление

кроликов наступало на 5-7 день, а в случаях осложненного течения заболевания отитом – на 7-9 день.

При применении 0,05% раствора лечебный эффект был менее выраженным. В соскобах, взятых после 3- и 4-го применения обнаруживались клещи. Стабильный эффект был получен только на 20 день лечения.

Исходя из этого, считаем, что 0,1% спиртовой раствор Азонола является эффективным средством для лечения псороптоза кроликов. Он не оказывает отрицательного влияния на общее состояние кроликов и не обладает местно-раздражающим действием. Полное выздоровление животных при трехкратной обработке наступает в течение 6-7 дней.

4.2.Терапевтическая эффективность Азонола и Азодина при отодектозе и микроспории плотоядных

Азонол и Азодин применяли кошкам и собакам на ушную раковину в виде 0,1% спиртового раствора ежедневно, после предварительного очищения внутренней поверхности ушной раковины.

Установлено, что препараты обладают выраженной терапевтической эффективностью. Отторжение некротических корочек начинается на 1-2 сутки после нанесения препарата. Внутренняя поверхность ушных раковин становится розовой и безболезненной, исчезает отечность, кожа становится эластичной. У животных уменьшается беспокойство. Выздоровление наступает в течение 6-8 дней после последнего применения препаратов.

Из 17 кошек, которых лечили Азодином, у 9-ти отмечали полное выздоровление после 6-7 кратной обработки, у 8 – после 7-8 кратной обработки.

Таким образом, 0,1% спиртовые растворы Азонола и Азодина при 6-8 кратном применении обеспечивают полное выздоровление плотоядных от отодектоза.

При микроспории 9-ти собакам и 14-ти кошкам применяли 0,1% спиртовой раствор Азодина. В зависимости от степени поражения кратность применения препарата варьировала от 4 до 5.

Перед нанесением препарата выстригали шерсть на месте поражения и на 1-2 см вокруг, чешуйки и корочки удаляли.

После применения Азодина у животных наблюдается отторжение корочек, восстанавливается эластичность кожи. Животные меньше беспокоятся, охотнее принимают корм. На 9-10 день от начала лечения начинается рост волос, в соскобах отсутствует возбудитель болезни.

Таким образом, при отодектозе кошек и собак Азонол, по сравнению с Азодином, обладает более выраженной терапевтической эффективностью, как при обычном, так и при осложненном отитом отодектозе. У контрольных животных после применения ушных капель Анандин выздоровление отмечалось на 21 день.

Проведенные исследования показали, что Азонол и Азодин являются высокоэффективными лекарственными препаратами для лечения акарозных и дерматомикозных заболеваний кожи животных. Так, Азонол рекомендуется применять при псороптозе кроликов, в виде 0,1% спиртового раствора 2-3кратно с интервалом в один день и при отодектозе кошек и собак – ежедневно в течение 6-8 дней. Азодин рекомендуется применять при отодектозе кошек и собак 7-8 дней ежедневно и при микроспории кошек 4-5 раз с интервалом в один день.

2. Терапевтическая эффективность Азонола и Азодина

Болезни	Кол-во животных	Препарат	Кратность применения	Сроки выздоровления, дни
Псороптоз кроликов	12	Азонол	3-4 раза с интервалом в один день	6-7
Отодектоз кошек	40	Азонол	ежедневно	6-8
	17	Азодин	ежедневно	7-8
Отодектоз собак	22	Азонол	ежедневно	6-8
	8	Азодин	ежедневно	7-8
контроль	3	ушные капли «Анандин»	1 раз в три дня, 5-7кратно	21
Микроспория кошек	14	Азодин	4-5 раз с интервалом в один день	9-10
Микроспория собак	9	Азодин	4-5 раз с интервалом в один день	9-10
контроль	3	Линимент «Фунгин»	ежедневно, в течение 10-15 дней	25

По итогам исследования разработаны и утверждены в установленном порядке «Временное наставление по применению препарата Азонол при акарозах и дерматомикозах животных» и «Временное наставление по применению препарата Азодин при акарозах и дерматомикозах животных».

4. ВЫВОДЫ

1. Из изученных 13-ти ароматических азосоединений выраженным антимикробным, антимикотическим и акарицидным свойствами обладают 2-(2,4-динитрофенилазо)-м-хлорфенол (Азонол) и 4-(-м-нитрофенилазо)-м-хлорфенол (Азодин).

2. Максимально переносимая доза Азонола для белых мышей равна 3000 мг/кг, а Азодина - 2000 мг/кг. LD₅₀ Азонола составила 3400 мг/кг, LD₁₆ - 3200 мг/кг, LD₈₄ - 3700 мг/кг, а Азодина соответственно - 3200 мг/кг,

2400 мг/кг, 4200 мг/кг. Согласно ГОСТ 12.1.007-76 препараты относятся к классу малотоксичных веществ. Максимально переносимая доза для крыс составляет 5000 мг/кг. Азонол и Азодин при внутривентриальном введении в дозе 50 мг/кг в течение 30 дней вызывают обратимые деструктивные изменения в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта и клетках печени.

3. Азонол и Азодин в дозе 50 мг/кг при внутривентриальном введении не обладают кумулятивным и сенсибилизирующим действием, мутагенными, эмбриотоксическими и тератогенными свойствами.

4. Ежедневное внутривентриальное применение Азонола и Азодина в течение 30 дней в дозе 50 мг/кг не оказывает существенного отрицательного влияния на морфологический и биохимический состав крови.

5. Азонол и Азодин в 0,0001% концентрации замедляют ритм и уменьшают амплитуду сердечных сокращений изолированного сердца лягушек. С увеличением концентрации угнетающее действие препаратов на сердце усиливается вплоть до его остановки. На периферические сосуды изолированных лапок лягушек Азонол оказывает сосудосуживающее, а Азодин - сосудорасширяющее действие обратимого характера.

6. Азонол и Азодин при применении в течение 7 дней в дозах 50 мг/кг не оказывают отрицательного действия на центральную нервную систему, понижают уровень тревожности и повышают исследовательскую активность белых крыс.

7. Азонол в форме 0,1% спиртового раствора при применении по предложенной схеме обеспечивает стабильный лечебный эффект при псороптозе кроликов, отодектозе кошек и собак, а Азодин - при отодектозе и микроспории кошек и собак.

5. Практические предложения

1. Результаты исследования следует учитывать при направленном синтезе азосоединений как противопаразитарных средств. Присутствие хлорного радикала обеспечивает высокую противопаразитарную и антимикотическую активность соединений.
2. Для лечения болезней кожи паразитарной и микотической этиологии предложены новые высокоэффективные средства - Азонол и Азодин. Дальнейшее изучение соединений позволит установить другие положительные для организма животных эффекты.
3. Разработаны и утверждены в установленном порядке (13.11.2008 г) «Временное наставление по применению препарата Азонол при акарозах и дерматомикозах животных» и «Временное наставление по применению препарата Азодин при акарозах и дерматомикозах животных».
4. Результаты исследования внедрены в учебный процесс, при чтении лекций и проведении лабораторных занятий по фармакологии, токсикологии, паразитологии и эпизоотологии на факультете

ветеринарной медицины ФГОУ ВПО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», ФГОУ ВПО «Чувашская государственная сельскохозяйственная академия».

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Рахимова Р.М., Каримова Р.Г. Антибактериальная, антимикотическая и акарицидная активность азосоединений. // Материалы научно-практической конференции молодых ученых Приволжского федерального округа «Роль молодых ученых в реализации национального проекта - Развитие АПК». – Саратов, 2007. – С. 90-92.
2. Рахимова Р.М., Каримова Р.Г. Изучение кумулятивного действия 4-(*m*-нитро-фенилазо)-*m*-хлорфенола. // Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Казань, 2007. – С. 84-86.
3. Рахимова Р.М., Каримова Р.Г. Поиск новых лекарственных средств для лечения акарозов животных. // Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Казань, 2007. – С. 86-88.
4. Рахимова Р.М., Каримова Р.Г. Влияние нитропроизводных азосоединений на слизистые оболочки и кожу. // Материалы межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых «Достижения молодых ученых – будущее в развитии АПК». – Воронеж, 2007. – С. 224-225.
5. Рахимова Р.М., Гарипов Т.В., Каримова Р.Г. Биологическая активность азо-соединений *in vitro*.// Фармакологические и экотоксикологические аспекты ветеринарной медицины. Сборник научных трудов. – Троицк, 2007. – С. 135-140.
6. Рахимова Р.М., Каримова Р.Г. Биологическая активность и токсикологические свойства азосоединений. // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – 2008. – Т. 192. – С. 323-327.
7. Рахимова Р.М., Каримова Р.Г., Бабынин Э.В. Исследование генотоксичности Азонола и Азодина. // Сборник тезисов международной научно-практической конференции «Достижения супрамолекулярной химии и биохимии в ветеринарии и зоотехнии». – Москва, 2008. – С.41.
8. Рахимова Р.М., Каримова Р.Г. Поведенческие реакции белых крыс под влиянием Азонола и Азодина. // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – 2008. – Т. 191. – С. 132-138.
9. Рахимова Р.М., Гарипов Т.В., Каримова Р.Г. Влияние Азонола и Азодина на изолированное сердце и сосуды лягушек. // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – 2008. – Т. 191. – С. 221-227.
10. Рахимова Р.М. Становление сенсорно-двигательных рефлексов у крыс в ранний постнатальный период онтогенеза под влиянием Азонола и Азодина. // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – 2009. – Т. 195. С.-141-145.

Подписано к печати 27.02.09.
Заказ 74 Тираж 100 экз.
Бумага офсетная

Формат 60x84/16
Усл.-печ. л. 1.0
Печать RISO

Центр информационных технологий КГАВМ
420074, Казань, Сибирский тракт, 35.