

0-735567

На правах рукописи

**ГИЛЬМЕТДИНОВ БУЛАТ МИННЕКАСИМОВИЧ**

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОИЗВОДНЫХ  
ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ**

16.00.04 - ветеринарная фармакология с токсикологией

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук



КАЗАНЬ-2003

Работа выполнена на кафедрах неорганической и аналитической химии, внутренних болезней животных и в учебно-опытном хозяйстве Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э.Баумана.

Научный руководитель: заслуженный деятель науки Республики Татарстан,  
доктор химических наук, профессор  
Кадырова Раиса Григорьевна

Научный консультант: заслуженный деятель науки Республики Татарстан и  
Российской Федерации, доктор ветеринарных наук,  
профессор Папуниди Константин Христофорович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор  
Тремасов Михаил Яковлевич  
доктор химических наук, профессор  
Фаляхов Иниль Фаляхович

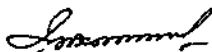
Ведущая организация Чувашская государственная  
сельскохозяйственная академия

Защита диссертации состоится " 27 " мая 2003 г. на заседании диссертационного совета Д-220.012,01 при Всероссийском научно-исследовательском ветеринарном институте (420075, Татарстан, г. Казань, Научный городок-2, ВНИВИ)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института.

Автореферат разослан " 26 " апреля 2003г.

Ученый секретарь  
диссертационного Совета,



Степанов В.И.

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность работы.** В современных условиях важное значение приобретает разработка принципиально новых эффективных профилактических мероприятий, направленных на повышение резистентности и продуктивности сельскохозяйственных животных путем использования экологически безопасных преларатов, естественных метаболитов. Они не создают ксенобиотических эффектов, обладают адаптогенными свойствами, их действие на организм отличается высокой физиологичностью. К таким препаратам относится янтарная кислота, являющаяся метаболитом цикла Кребса (М.Н. Кондрашова, 1996, 1997; А.С. Карандаев, 1999; О.В. Березина, 2000; А.В. Иванов, 2000; Р.Р. Хисамов, 2001). Известно большое количество работ о многостороннем благоприятном воздействии и ее солей-сукцинатов щелочных и щелочно-земельных металлов на организм (М.Н. Кондрашова 1996, 1997; пат. 2051675, 207004, Россия 1996) Однако до сих пор недостаточно изучена биологическая активность солей янтарной кислоты d-металлов, хотя и имеются сообщения о широком спектре их лечебно-профилактического действия. Сочетание в одной молекуле d-металла необходимого микроэлемента, и кислотного остатка биологически активной янтарной кислоты является важной предпосылкой, позволяющей использовать такие соли для восполнения рациона, связанного с недостатком минеральных веществ и витаминов (Пат. 2092047 Россия, 1997). При этом возникает возможность раскрытия биологически активных свойств одновременно микроэлемента и одного из метаболитов (сукцинат-аниона) цикла Кребса (Пат. 1031379 [98313796] Япония, 1998). В последние годы соли янтарной кислоты щелочных и щелочно-земельных металлов начали интенсивно применяться в медицине в качестве лекарственных средств: антидиабетических, активирующих процессы обмена веществ и работоспособность человека (актопротекторов), противоопухолевых противовирусных, антиаллергических и т.д. Известно применение их и в ветеринарии в качестве кормовых добавок в птицеводстве, свиноводстве и т.д. Этот факт объясняется в первую очередь доступностью получения данных соединений, однако, по методам синтеза солей янтарной кислоты d-металлов (сукцинатов d-металлов) в литературе имеются лишь отрывочные сведения, не имеющие общего характера (W. Brzyska, 1985; J.R. Allan, 1990; Л.А. Бадовская, 2000). Отсутствуют данные как по синтезу сукцината железа (II), перспективного биологического вещества, а также сукцинатов других d-металлов высокой степени чистоты. Недостаточно изучены физико-химические свойства, растворимость сукцинатов d-металлов и их фармако-токсикологические свойства. Указанные обстоятельства не позволяют широко исследовать биологическую активность сукцинатов d-металлов, что задерживает их использование в ветеринарии и медицине в качестве биологически активных веществ комплексного действия.

Цель работы. Целью настоящей работы было синтез и изучение фармакотоксикологических свойств сукцинатов d-металлов. Исходя из изложенного и в соответствии с темой „Синтез и фармако-токсикологическая оценка производных дикарбоновых кислот” (государственный номер регистрации №01200002299) перед нами были поставлены следующие задачи:

- 1) Разработка способа получения сукцинатов d-металлов, в том числе и сукцината двухвалентного железа, с использованием доступного сырья;
- 2) Исследование физико-химических свойств и растворимость вновь синтезированных сукцинатов d-металлов в водосодержащих средах;
- 3) Изучение токсикологических свойств сукцинатов d-металлов;
- 4) Установление влияния сукцината железа (II) на гематологические и биохимические показатели крови лабораторных животных и поросят;
- 5) Разработать технические условия на получение сукцината железа (II), наставление по его применению.

**Научная новизна.** Впервые изучены острая и хроническая токсичности, раздражающее действие полученных сукцинатов d-металлов и влияние сукцината железа на гематологические, биохимические показатели лабораторных животных и поросят. Впервые проведено систематическое исследование реакций получения сукцинатов d-металлов и разработан общий доступный способ их получения, в том числе сукцината железа (II) высокой степени чистоты в мягких условиях реакции, что подтверждено патентом №2174508 (RU). Изучена растворимость сукцинатов d-металлов в воде и в растворе соляной кислоты 0,4-% концентрации (в среде моделирующей биологическую) методом ионной хроматографии.

**Практическая значимость работы.** Разработанный способ получения d-металлов высокой степени чистоты расширяет область их использования как биологически активных веществ комплексного действия в фармакологии, ветеринарии, медицине и пищевой промышленности. Реализована лабораторная методика получения сукцината железа (II) в масштабе пилотной модульной установки и приготовлена партия продукта для проведения дальнейших фармакологических испытаний соединений на сельскохозяйственных животных.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

- токсикологическая оценка сукцинатов d-металлов;
- влияние сукцината железа на некоторые биохимические и гематологические показатели крови лабораторных животных;
- исследование возможности применения сукцината железа как средства для профилактики и лечения железодефицитной анемии у поросят;
- результаты синтеза солей d-металлов янтарной кислоты;

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
**ИМ. Н. И. ЛОБАЧЕВСКОГО**  
 КАЗАНСКОГО ГОС. УНИВЕРСИТЕТА

- результаты физико-химических исследований и растворимости полученных соединений методом ионной хроматографии.

Апробация работы и публикации. Результаты работы докладывались и обсуждались на II республиканской конференции молодых ученых „ Молодые ученые - сельскому хозяйству " (Казань 2000 г.), Международной конференции „Современные проблемы животноводства", посвященной 70-летию зооинженерного факультета КГАВМ им.Н.Э.Баумана (Казань 2000 г.), международной научно-практической конференции „Перспективные направления научных исследований молодых ученых Сибири и Урала на рубеже веков" (Троицк 2000 г.), международной конференции ветеринарных фармакологов и токсикологов, посвященной 125-летию Н.А.Сочественского (Казань, 2001г.), научно-практической конференции „Новые фармакологические средства для животноводства и ветеринарии", посвященной 55-летию Краснодарской НИВС (Краснодар, 2001 г.), научно-производственной конференции по актуальным проблемам ветеринарии и зоотехнии (Казань, 2001), Всероссийской научно-производственной конференции по актуальным проблемам ветеринарии и зоотехнии (Казань, 2002 г.).

По теме диссертации опубликовано в печати 1 статья, 11 тезисов докладов, одно техническое условие и одно наставление. Получен 1 патент.

**Объем и структура работы.** Диссертация состоит из введения, литературного обзора, материалов, методов и результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, практических предложений и списка использованной литературы. Список литературы состоит из 221 источника, в том числе 98 - на иностранных. Диссертация изложена на 151 странице, содержит 27 таблиц и 7 рисунков.

## 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена на кафедрах неорганической и аналитической химии, внутренних болезней животных и базе учебно-опытного хозяйства Казанской государственной академии ветеринарной имени Н.Э. Баумана.

В опытах по определению токсикологических свойств использовано 210 белых мышей, 80 белых крыс, 55 кроликов.

При проведении экспериментов руководствовались „Методическими указаниями к постановке исследований по изучению раздражающих свойств и обоснованию ПДК избирательно действующих раздражающих веществ в воздухе рабочей зоны", утвержденными Минздравом СССР 11 августа 1980 г.

Острую оральную токсичность изучали на белых мышах массой 18-24 г. Вещество вводили непосредственно в желудок в виде суспензии в подсолнечном масле желудок из расчета, чтобы объем вводимой жидкости не превышал 0,6 мл. Контрольным живот-

ным вводили подсолнечное масло 0,6 мл. Наблюдение за животными вели в течение 14 дней, отмечая характер и время появления клинических признаков отравления, сроки гибели животных. На основании полученных результатов вычисляли среднесмертельную, абсолютно смертельную и максимально переносимую дозы сукцинатов d-металлов. Среднесмертельную дозу сукцинатов высчитывали по методу Кербера (1931).

При изучении кумулятивных свойств использовали метод „субхронической токсичности, предложенный Лиммом.

Полученные величины  $LD_{50}$  классифицировали по 4 классам токсичности в соответствии с классификацией химических веществ по ГОСТ 12.1.007.76.

Оценку местно-раздражающего действия препарата проводили при однократных и повторных (10-12 аппликациях) опытах. В экспериментах использовали 2 вида животных (кролики, белые крысы) Для изучения раздражающего действия препарата животных отбирали со светлой кожей. Время экспозиции составило 4 часа. Препараты наносили в виде суспензии в подсолнечном масле в нативном виде из расчета 20 мг/см<sup>2</sup> площади выстриженного участка. Промеры участка аппликаций для кроликов составляли 7x8 см, для белых крыс 5x5см.

Реакцию кожи регистрировали по окончании экспозиции, через 20 часов и затем в течение 14 дней после воздействия по сравнению с симметричным контрольным участком кожи того же животного. Отмечали функционально-морфологические нарушения кожи (эритема, отек, изъязвления, сухость, шелушение и др.). Классификацию эритемы проводили в баллах, а величину отека определяли путем измерения кожной складки (мм).

Изучение местного действия препаратов на слизистую оболочку проводили однократно на кроликах. В один глаз вносили препарат в количестве 50 мг, другой глаз служил контролем. Регистрацию изменений слизистой оболочки глаза, склеры, роговицы проводили визуально сразу после воздействия, через час и ежедневно в течение 14 дней.

Отмечали выраженность гиперемии и отека слизистой оболочки, инъекцию сосудов склеры, состояние роговицы, количество и качество выделений из глаза.

Исследование противоянემического действия сукцината железа дигидрата на модели, искусственно вызванной анемии у подопытных животных, изучали на 45 белых крысах. Для этого у крыс вызывали постгеморрагическую анемию путем однократного кровопускания, надрезая кончик хвоста, из расчета 2,5 мл на 100 грамм массы животного. Отбор проб крови осуществляли на 1,5, 10 и 25 сутки после начала опыта по методу Педоренко Г.И.

Научно-производственный опыт по возможности использования сукцината железа дигидрата для профилактики алиментарной желездефицитной анемии поросят-сосунув

проводили в условиях учебно-опытного хозяйства КГАВМ им. Н.Э. Баумана. В опыте было использовано 182 животных.

Все животные в начале опыта и соответствующие сроки подвергались клиническому исследованию. Взятие проб крови осуществлялось утром до кормления животных: у крыс - методом Педоренко Г.И. (из сердца), у поросят - из краниальной ушной вены. Для морфологических исследований использовали пробирки системы Microvette» производства фирмы SARSTEDT (Германия), обработанные антикоагулянтным средством этилендиаминтетраацетатом калия, для биохимических исследований - без антикоагулянта в центрифужные пробирки.

Гематологические исследования крови проводили по общепринятым методам у крыс: количество лейкоцитов и эритроцитов подсчитывали в камере Горяева, гемоглобина с помощью набора "Биоконт Гем" (цианметгем.метод, без калибратора) фирмы Агат. У поросят определение морфологических показателей (гемоглобин, эритроциты, лейкоциты) провели на автоматическом гематологическом анализаторе Sysmex фирмы Toa medical.

Концентрацию общего белка определяли на автоматическом биохимическом анализаторе выборочного действия Abbot spectrum фирмы Abbot Laboratories.

Исследование по изучению токсикологических свойств сукцинатов d-металлов и фармакологического действия сукцината железа (II) дигидрата проведены совместно со ст. преподавателем кафедры внутренних заболеваний животных, к.в.н. Гасановым А.С. и аспирантом Маловым Д.В.

Полученные экспериментальные данные обрабатывали статистически с применением критерия Стьюдента.

Инфракрасные спектры снимали на Фурье-ИК-спектрометре Vector-22 фирмы Bruker в вазелиновом масле в диапазоне 400-4000  $\text{см}^{-1}$ .

Рентгенофлуоресцентные измерения проводили на рентгенофлуоресцентном спектрофотометре VRA-20L при режиме: напряжение питания рентгеновской трубки 55 кВ, ток 30 мА, кристалл-анализатор фторид лития 200, каллиметр 2, анод рентгеновской трубки из вольфрама.

Спектрофотометрические измерения проводили на фотоэлектроколориметре КФК-1ХЛ в кюветках толщинах 1=10 мм.

Гравиметрический анализ полученных соединений проводили в стеклянных ампулах в сушильном шкафу.

Хроматографический анализ проводили на ионном хроматографе „Цвет-3006" с разделительной колонкой 1=100 мм, d=4 мм, сорбент ХИКС-1, подавительной колонкой 1-20 мм, d=4 мм, сорбент КРС; элюент 2 мМ раствор  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  при расходе 2мл/мин.



Нами исследовано взаимодействие сукцинат натрия с сульфатами d-металлов. При изучении этой реакции выявлены факторы, влияющие на выхода целевых продуктов. Показано, что при действии на водный раствор сукцината натрия водным раствором (суспензией) сульфата d-металла в оптимальных условиях реакции - 85-90°C в течение 30 минут, выхода сукцинатов d-металлов составляет 75-80%.

Однако, результаты элементного анализа синтезированных соединений не всегда имели хорошую сходимость с расчетными данными. Кроме того, сукцинат железа (II) получался в виде кристаллического продукта бурого цвета, что свидетельствует о протекании в условиях реакции окислительных процессов. Образование в реакционной среде ионов  $Fe^{3+}$  подтверждено качественной реакцией с роданидом калия  $KSCN$ .

Для установления причин, влияющих на окислительные процессы, мы применили pH контроль с помощью pH-метра типа 150 за течением реакции, которую осуществляли по методикам 1 и 2.

**Методика 1.** В качестве субстрата взят сукцинат натрия. К раствору сукцината натрия в воде (pH 7,4) при 85-90°C порциями прибавили водную суспензию сульфата железа (II) (pH раствора сульфата железа 3,0) в соотношении 1:1 в молях и перемешивали 30 минут (pH реакционной смеси 6,1). Реакционную смесь охладили, отфильтровали, промыли водой, высушили и получили сукцинат железа (II) (выход 80%) в виде кристаллов бурого цвета. Качественная реакция с роданидом калия дает присутствие в продукте ионов  $Fe^{3+}$ .

**Методика 2.** В качестве субстрата взята янтарная кислота. К раствору янтарной кислоты в воде прибавили водный раствор гидроксида натрия в соотношении 1:2 в молях, нагрели до температуры 85-90°C (pH реакционной смеси 6,44) и небольшими порциями присыпали сульфат железа (II) в течение 20-30 минут при интенсивном перемешивании (pH реакционной смеси 4,73). Реакционную смесь охладили, отфильтровали, промыли водой, высушили и получили сукцинат железа (II) (выход 90,26%) в виде белых кристаллов с желтым опенком. Качественная реакция с роданидом калия не дает присутствия ионов  $Fe^{3+}$ .

Таким образом, из методик 1 и 2 следует, что при использовании в качестве реагента в реакции водного раствора сульфата железа (II) целевой продукт содержит ионы  $Fe^{3+}$  (Методика 1). Известно, что при растворении неорганической соли  $Fe(II)$  в воде образуется гексаакваион  $[Fe(OH_2)_6]^{2+}$ , который легко окисляется до  $[Fe(OH_2)_6]^{3+}$ . Аквоион  $[Fe(OH_2)_6]^{3+}$  при pH 2-3 подвергается гидролизу до оксикомплексов:  $[Fe(OH_2)_5OH]^{2+}$ ,  $[Fe(OH_2)_4(OH)_2]^{2+}$ . При нагревании реакционных растворов, содержащих оксикомплексы, образуются многоядерные комплексы и в конечном счете выпадает гидратированный оксид железа (III) -  $Fe_2O_3 \cdot nH_2O$  красно-коричневого цвета, который загрязняет целевой продукт. Для органических лигандов-дикарбоновых кислот установле-

но, что при pH среды выше 7 идет образование катиона состава  $\text{FeOH}^+$  и интенсивное окисление в растворе  $\text{Fe}^{2+}$  до  $\text{Fe}^{3+}$ .

Использование в реакции кристаллического сульфата железа (II) при начальной pH реакционной смеси 6,44 (методика 2) исключаются гидролиз и окислительные процессы и сукцинат железа (II) получается высокой степени чистоты с выходом 90,2%.

Сульфаты  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  в водных растворах также как и сульфат  $\text{Fe}^{2+}$  подвергаются гидролизу и целевые продукты могут загрязняться труднорастворимыми гидроксидами или их основными солями.

Возможно, по этой причине сукцинаты d-металлов получались некондиционными при действии на водный раствор сукцината натрия водными растворами сульфатов d-металлов. Учитывая этот факт, для синтеза сукцинатов  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  нами применена методика 2, то есть к реакционной смеси янтарной кислоты и гидроксида натрия при pH 6,44 при температуре 85°C в течение 20-30 минут присыпались сульфаты указанных d-металлов. При этом осуществлялся pH-контроль за течением реакции. Сукцинаты  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  в данных условиях были получены так же высокой степени чистоты, с высокими выходами.

С помощью pH-контроля реакционных смесей при проведении синтезов сукцинатов указанных d-металлов по методике 2 после присыпания кристаллических сульфатов при 85°C получены следующие значения pH реакционных растворов в конце реакций (выдержка, 30 минут): реакционная смесь сукцината  $\text{Co}^{2+}$  имеет pH - 4,42, сукцината  $\text{Cu}^{2+}$  - 3,51, сукцината  $\text{Zn}^{2+}$  - 4,93, сукцината  $\text{Mn}^{2+}$  - 5,08.

Таким образом, нами разработан общий способ получения сукцинатов d-металлов высокой степени чистоты в мягких условиях реакции при 85°C в течение 30 минут, с выходами целевых продуктов 85-94%.

При проведении гравиметрического анализа сукцинатов d-металлов установлено, что они содержат кристаллизационную воду, т.е являются кристаллогидратами. Количество кристаллизационной воды определяли по известной методике. Найдено, что сукцинаты  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  являются дигидратами общей формулы  $\text{MeL} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , а сукцинат марганца  $\text{Mn}^{2+}$  - тетрагидратом  $\text{MeL} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ .

Дегидратация сукцинатов d-металлов происходит при температурах 125-130°C, что совпадает с литературными данными по обезвоживанию кристаллогидратов.

Было реализовано получение сукцината железа (II) дигидрата на пилотной модульной установке и наработана партия продукта для изучения фармакологического действия на животных:

В реактор (емк. 63л) загружают 2,36 кг янтарной кислоты и 16 л воды, перемешивают до полного растворения янтарной кислоты и присыпают 1,6 кг гидроксида натрия.

Реакционный раствор перемешивают. К гомогенному раствору присыпают небольшими порциями 5,56 кг сульфата железа (II)  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  в течение 30 минут при температуре 80-85°C и интенсивно перемешивают. Затем реакцию смесь охлаждают до комнатной температуры, выпавший кристаллический продукт отделяют фильтрованием на нутч-филтре, промывают дистиллированной водой ( $t=20-23^\circ$ ) от сульфатов (качественный контроль) и сушат в вакуумном сушильном шкафу при 35-40°C и давлении 20 мм.рт.ст. Получают 2,98 кг сукцината железа дигидрата (Выход 68,35%) в виде жёлтых кристаллов с  $T_{\text{разл.}}=389-394^\circ\text{C}$ .

### 3.2. Определение растворимости сукцинатов d-металлов в воде и 0,4% растворе соляной кислоты

Готовили насыщенные растворы сукцинатов так, чтобы часть кристаллов не растворилась. Разбавляли насыщенные растворы в 5-500 раз до концентрации не выше 0,0093 моль/л. В качестве стандарта был выбран сукцинат калия дигидрат, обладающий лучшей растворимостью. Результаты представлены в таблице 1.

Данная концентрация соляной кислоты была взята не случайно, так как по литературным данным в желудочном соке она составляет 0,35-0,45%. Время выхода сукцинат-иона составляло 9-10 минуты, а хлорид-иона 3-4 минуты. Данные по растворимости в 0,4-% растворе соляной кислоты приведены в таблице 1.

При изучении растворимости в воде установлено, что растворимость а ряду сукцинатов Mn Zn Co Fe Cu снижается. Данный ряд растворимости практически совпадает с экспериментально установленным рядом по устойчивости комплексов d-металлов с лигандами-дикарбоновыми кислотами Эрвинга-Вильямса.

Таблица 1. Данные растворимости солей янтарной кислоты в воде и 0,4-% растворе соляной кислоты.

Формула	Хроматографические данные С (моль/л) по стандарту (в воде)	ПР <sub>хромат.</sub>	Хроматографические данные С (моль/л) по стандарту (в 0,4-% растворе соляной кислоты)
$\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4\text{K}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,304	-	1,556

Продолжение таблицы 1

$C_4H_4Na_2 \cdot 5H_2O$	1,206	-	1,2853
$C_4H_4O_4Mn \cdot 4H_2O$	$7,9 \cdot 10^{-2}$	$6,2 \cdot 10^{-3}$	$8,45 \cdot 10^{-2}$
$C_4H_4O_4Zn \cdot 2H_2O$	$2,43 \cdot 10^{-2}$	$5,9 \cdot 10^{-4}$	$5,67 \cdot 10^{-2}$
$C_4H_4O_4Zn \cdot 2H_2O$	$1,83 \cdot 10^{-3}$	$3,4 \cdot 10^{-6}$	$2,65 \cdot 10^{-2}$
$C_4H_4O_4Cu \cdot 2H_2O$	$1,81 \cdot 10^{-2}$	$3,2 \cdot 10^{-4}$	$4,44 \cdot 10^{-2}$
$C_4H_4O_4Fe \cdot 2H_2O$	$1,74 \cdot 10^{-2}$	$3,0 \cdot 10^{-4}$	$1,85 \cdot 10^{-2}$

Из полученных данных следует, что растворимость сукцинатрв d-металлов в 0,4-% растворе соляной кислоты выше, чем в воде. При этом растворимость сукцинатов марганца (II) и железа (II) меняется незначительно и составляет  $8,45 \cdot 10^{-2}$  и  $1,85 \cdot 10^{-2}$  моль/л соответственно. Растворимость сукцинатов цинка ( $5,67 \cdot 10^{-2}$ ) и кобальта (II) ( $4,44 \cdot 10^{-2}$ ) возрастает в 2-3 раза, сукцината меди ( $2,65 \cdot 10^{-2}$ ) в 15 раз, что связано с разрушением димерной структуры сукцината меди.

При изучении растворимости в 0,4-% растворе соляной кислоты воде установлено, что растворимость в ряду сукцинатов Mn Zn Co Cu Fe снижается.

### 3.3. Определение токсикологических свойств сукцинатов d-металлов

Проведенными токсикологическими исследованиями установлено, что сукцинаты марганца (II) тетрагидрат, сукцинаты железа, меди (II), цинка, кобальта (II) дигидраты по классификации химических веществ по ГОСТ 12.1.007.76. относятся к 3 классу - опасным веществ (Таблица 2).

Установлено, что после орального введения сукцинаты легко всасываются и быстро проявляют свое действие на мышей. Картина интоксикации сукцинатами меди (II), марганца (II), железа (II) цинка, примерно одинакова. От малых доз (200-2000 мг/кг) препарата у мышей наблюдали угнетение двигательной активности и общего состояния (взъерошенность волосяного покрова). На внешние раздражения (толчок палочкой, запах корма) они отвечают слабым поворотом головы, отходят с места на 5-6 см и вновь становятся апатичными. Через 40-60 минут клинические признаки угнетения исчезали, а через 5-7 часов животные начинали принимать корм. Спустя 24 часа после введения препарата общее состояние опытных животных внешне не отличалось от контрольных. При введении средних доз препарата (400-2500 мг/кг) токсическое действие отмечали через 20-40 минут. При этом наблюдали угнетение двигательной активности, сокращение скелетной мускулатуры, судорожные движения конечностей. Во время судорог животные принимали боковое положение, и часть из них погибала через 0,5-120 часов после введения препарата. В случае сукцината меди (II) дигидрата отмечено появление рвотного реф-

лекса у животных. Остальные мышцы приходили в нормальное состояние спустя 120-168 часов. При введении больших доз (700-3000 мг/кг) токсическое действие проявлялось через 15-40 минут: угнетение двигательной активности, апатия и в течение суток наблюдалась их гибель.

Картина интоксикации сукцинатом кобальта (II) отличалась от остальных сукцинатов: при введении препарата в дозах 600-700 мг/кг токсическое действие отмечалось через 20-30 минут. Вскоре поза у мышей становилась напряженной, хвост поднимается кверху и наблюдались кратковременные судорожные движения конечностей. Затем возбуждение сменялось угнетением, наблюдались временами судороги. Во время кратковременных судорог животные принимали боковое положение, и часть из них погибало через 0,5-30 часов после введения препарата. Остальные мыши приходили в нормальное состояние спустя 48-60 часов. При введении сукцината кобальта (II) в дозах 850-1000 мг/кг токсическое действие проявлялось через 1540 минут: часть мышей начинала усиленно двигаться по клетке, часто вставать на задние конечности, совершать резкие прыжки, порою настолько сильные, что вылетали из клетки. Наблюдался симптом Штрауба (мышь держит хвост вертикально, "трубой"). Это говорит о том, что возбуждение распространяется на нижележащие области центральной нервной системы, в частности на спинной мозг], животные метались по клетке, вскоре наступали судорожные явления. Судороги появлялись периодами и во время очередных судорог мыши погибали от остановки дыхания в течение 12-48 часов.

При вскрытии погибших мышей наблюдали следующую картину: гиперемия и незначительный отек легких, полнокровие печени, почек и селезенки с незначительным их увеличением, слизистые желудочно-кишечного тракта были гиперемированы, сердце асфиксичное.

## 2. Острая токсичность сукцината при оральном введении (мг на 1 кг животного).

Препарат	ЛД <sub>50</sub>	ЛД <sub>50</sub>	ЛД <sub>100</sub>
Сукцинат марганца (II) тетрагидрат	2000	2487,5±83,46	3000
Сукцинат железа (II) дигидрат	500	1666,66±190,08	3000
Сукцинат кобальта (II) дигидрат	400	687,5±44,86	1000
Сукцинат меди (II) дигидрат	200	558,33±57,36	900
Сукцинат цинка дигидрат	300	591,66±54,86	1000

В ряду Mn Fe Co Zn Cu токсичность препарата возрастает.

Картина хронической интоксикации различными сукцинатами отличалась между собой. Так, клиническая картина отравления сукцинатами цинка и железа (II) патолога-

анатомические изменения при хроническом опыте были аналогичны тем, которые описаны в опыте по определению острой токсичности.

Первые клинические признаки отравления сукцинатом железа (II) в виде угнетения наблюдались на 16-20 день непосредственно после введения препарата. Спустя 1-1,5 часа отмеченные признаки исчезали, а через 2-5 часов внешне не отличались от интактных.

На 20-й день введения препарата у животных отмечали угнетение, взерошенность шерсти, отказ от корма. Эти признаки проходили через 8-10 часов после введения препарата.

Начиная с 22-го дня и до конца опыта (36сут.), у крыс отмечали повышенную рефлекторную возбудимость, судорожные движения конечностями, гибель части крыс наступала через 1-12 часов после введения препарата, после 22-го применения сукцината железа погибла одна крыса, которая получила суммарно 11322,42 мг/кг, что в 6,8 раза превышает  $LD_{50}$  при однократном введении. Остальные крысы приходили в норму через 5-18 часов, при этом отмечали снижение массы животных. Смертность крыс повышалась в зависимости от кратности дозы препарата. При чем доза, вызывавшая смерть крыс превышала  $LD_{50}$  сукцината железа (II) при однократном применении более чем в 7,55-19,7 раза. На 36-й день от начала опыта пала последняя крыса от дозы, превышающей  $LD_{50}$  в 29,95 раза.

Первые признаки токсического действия сукцината цинка появились через 21-25 дней после введения препарата. Некоторые крысы усиленно двигались по клетке, другие оставались малоактивными, отказывались от корма. После 26-кратного введения препарата погибла одна крыса, получившая суммарную дозу 4918,8 мг/кг, при этом отмечалась повышенная рефлекторная возбудимость, сокращение скелетной мускулатуры, судорожные движения конечностями. Во время судорог животные принимали боковое положение и погибали после 0,5-20 часов после введения препарата. Смерть наступала в период судорог от остановки дыхания. На 27-ой день от начала опыта погибло 2 крысы, получивших сукцинат в дозе 5592,72 мг/кг, что в 10 раз превышает  $LD_{50}$  при однократном введении. Смертность крыс повышалась в зависимости от кратности дозы препарата. При чем доза, вызывавшая смерть крыс, превышала  $LD_{50}$  при однократном применении более, чем в 11-19 раз. Последние 2 крысы погибли через 32 и 33 дня после начала опыта от дозы в 19,74; 22,27 раза превышающих  $LD_{50}$  однократного введения.

При вскрытии погибших крыс наблюдали выраженную гиперемию легких, полнокровие печени, селезенки и почек, асфиксическое сердце.

Клиническая картина отравления сукцинатом кобальта (II) развивалась быстрее. Первые признаки токсического действия сукцината кобальта (II) появились через 2-3 дней после введения препарата. Некоторые крысы усиленно двигались по клетке, дру-

гие оставались малоактивными, отказывались от корма. После 6-кратного введения погибла одна крыса, получившая суммарную дозу 481,25 мг/кг. В течении 8-10 дней погибло 2 крысы, получившие сукцинат кобальта (II) в дозах от 687,5 до 996,875 мг/кг, что соответствует и превышает в 1,45 раза  $LD_{50}$  при однократном введении. На 12 день у опытных крыс отмечали потерю ориентации, плавательные движения и паралич конечностей, дрожь. У крыс отмечали симптом Штрауба. На внешние раздражители животные реагируют агрессивно. Последние 2 крысы погибли через 14 и 15 дней после начала опыта от дозы в 2,57 и 2,91 раза превышающей  $LD_{50}$  при однократном введении.

При вскрытии павших животных кроме характерных для токсикоза сукцинатами признаков отмечены полосчатые кровоизлияния в желудке.

Клиническая картина интоксикации сукцинатами меди (II) и марганца (II) резко отличалась от описанных выше: первые клинические признаки в виде незначительного угнетения и взъерошенности шерсти наблюдали на 3 день введения сукцината марганца (II) и на 17 день - сукцината меди (II). В случае сукцината меди отмечено появление рвотного рефлекса у животных. Спустя 1,5-2 часа общее состояние животных было удовлетворительным, они охотно поедали корм.

На 20 день введения суспензии сукцината марганца (II) у крыс отмечали угнетение, чрезмерное выделение слюнных желез, кратковременный отказ от корма. Эти признаки проходили через 3-4 часа после введения препарата.

Начиная с 23-го дня и до конца дачи препарата (32 сут) у крыс после введения сукцинатов меди (II) и марганца (II) наблюдали отказ от корма, они были угнетены, забивались в угол клетки. В таком состоянии животные находились в течение 5-8 часов. За весь период опыта гибели животных не отмечали, что свидетельствует об отсутствии кумулятивного действия сукцинатов.

Согласно классификации (Л.И.Медведь, Ю.С.Каган, Е.И.Спину, 1986) коэффициент кумуляции  $K_{сум}$  1-3 показывает на выраженную кумуляцию препарата, а больше 5 - о слабой кумуляции веществ. По результатам наших опытов можно сделать вывод, что сукцинаты марганца (II), меди (II) железа (II) и цинка обладают слабой кумуляцией, сукцинат кобальта (II) - выраженной кумуляцией.

Данные по кумуляции представлены в таблице 3.

### 3. Данные по хронической токсичности сукцинатов d-металлов.

Название вещества	Брутто-формула	$LD_{50}$ хрон. (МГ/КГ)	$K_{сум}$
Сукцинат марганца (II) тетрагидрат	$C_4H_{12}O_8Mn$	-	>20
Сукцинат меди (II) дигидрат	$C_4H_8O_6Cu$	-	>20

Продолжение таблицы 3.

Сукцинат цинка дигидрат	$C_4H_8O_6Zn$	8819,33	14,9
Сукцинат кобальта (II) дигидрат	$C_4H_8O_6Co$	1126,2	1,88
Сукцинат железа дигидрат	$C_4H_8O_6Fe$	23556,69	14,14

Все исследованные сукциаты d-металлов не обладает раздражающим действием на кожу.

Сукциаты марганца, железа и цинка не оказывает раздражающего действия на слизистые оболочки глаза. Сукциаты кобальта, меди (II) оказывают раздражающее действие на слизистые оболочки глаз, что согласуется с литературными данными для солей этих металлов.

### 3.4. Сравнительное исследование антианемических свойств сукциата железадигидрата („Форси“) и ферроглюкина-75

#### 3.4.1. Изучение антианемических свойств сукциата железадигидрата („Фарси“) и ферроглюкина-75 на крысах

В опыте использовали 45 крыс, разделенных на 3 группы. Животные первой группы служили контролем. Крысам второй группы подкожно двухкратно с интервалом 10 дней вводили раствор ферроглюкина-75 объемом 0,5 мл. Животным третьей группы вводили препарат сукцинат железа с кормом в дозе 83 мг/кг (1/20 от ЛД<sub>50</sub>, данная доза оптимальна по соотношению „стоимость-эффективность“ и была определена ранее).

Для исследования изменения гематологических и биохимических показателей часть животных каждой группы забивали на 1, 5, 10 и 25 день (после вызывания постгемморагической анемии) и отбирали кровь для анализа (метод Г.И. Педоренко с соавт.). Результаты наших исследований представлены в таблице 4.

#### 4. Гематологические показатели белых крыс при постгемморагической анемии.

Группа	Гемоглобин (г/л)	Эритроциты $10^{12}/л$	Лейкоциты $10^9/л$	Общий белок (г/л)
1 (контроль)				
<b>фон</b>	135,0±0,5	6,20±0,07	7,60±0,40	72,40±0,89
1-й день	83,6±2,1	3,33±0,06	5,20±0,10	54,40±1,14
5-й день	88,4±1,1	3,54±0,11	5,60±0,12	54,80±0,83
10-й день	99,4±1,67	3,88±0,08	6,30±0,07	57,60±0,55
25-й день	134,2±0,8	5,82±0,08	7,40±0,07	67,20±1,64

Продолжение таблицы 4.

2 (сукцинат железа)				
фон	135,0±0,5	6,20±0,07	7,60±0,40	72,40±0,89
1-й день	83,6±2,1	3,33±0,06	5,20±0,10	54,40±1,14
5-й день	101,0±3,8	4,40±0,12	7,28±0,08	58,80±0,83
10-й день	117,4±1,51	4,85±0,06	7,94±0,09	67,8±0,84
25-й день	147,4±1,14	6,46±0,05	8,32±0,04	76,2±0,83
3 (ферроглюкин-75)				
фон	135,0±0,5	6,20±0,07	7,60±0,40	72,40±0,89
1-й день	83,6±2,1	3,33±0,06	5,20±0,10	54,40±1,14
5-й день	93,8±1,6	4,12±0,08	6,66±0,11	55,80±0,45
10-й день	107,0±2,1	4,38±0,08	7,20±0,10	61,80±1,09
25-й день	141,6±1,1	6,18±0,13	7,84±0,05	70,40±1,14

Как видно из таблицы 4, первоначальные значения таких гематологических показателей, как содержание эритроцитов и уровень гемоглобина были ниже границ физиологической нормы: соответственно  $6,20 \pm 0,07 \cdot 10^{12}$  и  $135 \pm 0,5$  г/л. Содержание лейкоцитов и общего белка были на уровне нормы. После искусственного вызывания анемии уровень гемоглобина, эритроцитов, железа в сыворотке крови крыс снизился на 38,1, 46,3, 36,8 % соответственно и был ниже границ физиологической нормы.

Введение в рацион подопытных животных сукцината железа в дозе 83,33 мг/кг и парентеральное введение ферроглюкина-75 вызывало нормализацию данных параметров крови. Под влиянием сукцината железа данный процесс имел более положительную динамику и протекал быстрее по сравнению со стандартным препаратом для лечения анемии - ферроглюкином-75.

### 3.4.2. Изучение действия сукцината железа на гематологические показатели крови поросят-сосунков

Для решения поставленной задачи был проведен научно-производственный опыт в условиях учебно-опытного хозяйства КГАВМ им. Н.Э.Баумана.

Объектом исследования послужили поросята, поделенные на 5 групп. Поросята, полученные от свиноматок, которым вводили в корм сукцинат железа, составляли 3 опытные группы в зависимости от доз препарата. Поросята, полученные от контрольных свиноматок, были разделены на 2 подгруппы: 4 опытную (30 поросят) и 5 контрольную (15 поросят - 2 гнезда от двух свиноматок контрольной группы). Поросятам 4 группы на:

3-5 дни однократно вводили внутримышечно препарат „Ферроглюкин-75" (в дозе 1,5 мл на животное). Животные 5 группы были контрольными.

Сукцинат железа в ходе исследования от рождения и до отъема поросят в опытных и контрольных группах в рацион не вводился, препарат вводили свиноматкам.

Свиноматки были разделены с учетом аналогов на 4 группы по 5 голов в каждой (свиноматки крупной белой породы, возраст 1-2 опороса, живая масса 160-180 кг; глубокосупоросные: срок супоросности 75-85 дней), Три группы были опытными - в рацион вводили сукцинат железа из расчета: 1-й группе - 0,25 г препарата на голову в сутки; 0,5 и 0,75 г соответственно 2-й и 3-й группам. Сразу после опороса доза препарата была увеличена втрое: 0,75 г - для первой группы; 1,5 г - для второй; 2,25 г - для третьей. Четвертая группа была контролем. Применение препарата осуществляли в последние 30-35 дней супорости и в период лактации до отъема поросят. Поросята получали препарат с материнским молоком.

Анализ крови осуществляли на 5-7, 10-12, 30-35 день возраста поросят. Учитывался вес, заболеваемость, рост, сохранность животных.

Результаты исследования подопытных поросят, после начала подкормки сукцинатом свиноматок, свидетельствовали об их положительном влиянии на общее состояние организма: активность и подвижность, хорошее развитие и хороший аппетит. Это показывает, что препарат не оказывает отрицательного действия на поросят.

В контрольной группе на 9-14 день установлено проявление признаков железодефицитной анемии. Поросята много лежат, аппетит ослаблен, наблюдается вялость, сонливость. При осмотре видимых слизистых оболочек и кожи заметна выраженная анемичность. У таких животных наблюдалась диарея, что свидетельствовало о нарушении процессов пищеварения.

При вскрытии павших поросят наблюдалась выраженная анемичность кожи и слизистых оболочек, печень и селезенка увеличены в размерах.

Результаты гематологических исследований крови подопытных поросят представлены в таблице 5.

5. Гематологические показатели подопытных поросят.

Группа(сроки исследования)	Гемоглобин (г/л)	Эритроциты $10^{12}/л$	Лейкоциты $10^9/л$	Общий белок (г/л)
1 группа				
5-7 день	92,3±2,2	5,79±0,09	12,7±0,1	57,3±1,2
10-12 день	102,2±1,8	5,82±0,37	12,2±0,2	62,5±0,8
30-35 день	104,9±3,5	5,93±0,22	12,0±0,3	68,2±1,1

Продолжение таблицы 5.

2 группа				
5-7 день	99,4±3,4	5,90±0,17	13,8±0,4	61,4±0,6
10-12 день	104,6±2,7	6,35±0,39	13,4±0,2	64,0±0,6
30-35 день	108,0±2,3	6,62±0,25	12,8±0,2	70,3±0,9
3 группа				
5-7 день	100,7±3,3	6,04±0,11	13,3±0,2	62,6±0,9
10-12 день	104,1±3,1	6,38±0,18	13,3±0,4	67,2±0,5
30-35 день	109,7±1,5	6,71±0,22	13,0±0,5	71,9±1,1
4 группа				
5-7 день	72,2±2,5	4,91±0,23	10,9±0,1	42,7±0,9
10-12 день	97,9±3,7	5,16±0,20	11,1±0,3	55,5±2,5
30-35 день	99,7±3,3	5,81±0,13	8,6±0,2	60,6±1,5
5 группа (контроль)				
5-7 день	62,6±2,6	4,28±0,19	9,4±0,3	40,8±1,8
10-12 день	43,6±3,8	3,66±0,28	6,3±0,8	45,7±1,
30-35 день	60,2±5,7	4,98±0,33	6,2±0,1	50,7±2,3

Как видно из данных таблицы 5 у животных контрольной группы наблюдается анемичное состояние. В течение опыта уровень гемоглобина в этой группе продолжал снижаться к 10-12 дню (43,613,8 г/л) и к сроку отъема вырос до уровня физиологической нормы (60,215,7 г/л). Результаты анализа крови подопытных животных после применения сукцината железа указывают на его положительное влияние на гемопоз. Наибольший положительный эффект отмечался во 2 и 3 группах: он превосходил аналогичные показатели в среднем по гемоглобину на 4,8%, по уровню эритроцитов - на 8,2%. В 4-й группе, получившим инъекцию ферроглюкина-75, уровни гемоглобина, лейкоцитов, эритроцитов соответствовали физиологической норме, но все же уступали значениям 2-3 группам.

В 1-4 группах наблюдалась тенденция увеличения концентрации общего белка и сывороточного железа по сравнению с контрольной. Наиболее выражено она проявлялась во 2-3 группах, получавших сукцинат железа.

Применение сукцината железа оказывало положительное влияние на скорость роста животных. Поросята, полученные от опытных свиноматок, которым в рацион вводили сукцинат, имели больший прирост живой массы по сравнению с контролем и с поросятами, обработанными ферроглюкином-75. Превышение среднесуточных приростов

поросят 1-3 опытных групп составляло по сравнению с контрольной 37,5, 43,8 и 44,2% соответственно.

Живая масса поросят опытных групп при отъеме была выше в среднем на 38,5% по сравнению с контрольными и на 7,1%, чем у животных 4 группы.

Эффективность применения сукцината железа дигидрата "Ферси" в кормлении свиной подтверждалась также и более высокой сохранностью их непосредственно с момента рождения до отсадки от свиноматок. В контрольной группе сохранность поросят составила 70%, тогда как во 2 и 3 группах, получавших сукцинат железа 91 и 92% соответственно, а в 4 группе (ферроглюкин-75) данный показатель составил 88%.

Итак, наиболее сильным фармакологическим эффектом обладали дозы 0,5 г и 0,75 г на голову сукцината железа для глубокосупоросных свиноматок, 1,5 и 2,25 г для подсосных свиноматок. Согласно критерию "стоимость-эффективность" оптимальными дозами будут 0,5 и 1,5 г для супоросных и подсосных свиноматок соответственно.

Таким образом, применение сукцината железа глубокосупоросным и подсосным свиноматкам оказывает положительное действие на обменные процессы, энергию роста и сохранность поросят.

#### 4. ВЫВОДЫ

1. По классификации химических веществ по степени опасности ГОСТ 12.1.007.76 вновь синтезированные сукцинаты марганца (II), железа (II), цинка, кобальта (II), меди (II) относятся к III классу - опасных веществ. Среднесмертельная доза ( $LD_{50}$ ) составляет для сукцината марганца (II) 2487,5 мг/кг, для сукцинатов железа (II), кобальта (II), меди (II), цинка: 1666,66, 687,5, 558,33, 591,66 мг/кг соответственно. Коэффициент кумуляции сукцинатов меди (II) и марганца (II) больше 20, для сукцинатов цинка и железа (II) 14,9 и 14,14 соответственно, что свидетельствует о слабом кумулятивном действии. Для сукцината кобальта (II) коэффициент кумуляции составляет 1,88, что указывает на выраженную кумуляцию соединения.
2. Сукцинаты марганца (II), железа (II) и цинка не оказывают раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки; сукцинаты кобальта (II) и меди (II) обладают раздражающим действием на слизистые оболочки.
3. Сукцинат железа дигидрат оказывает стимулирующее влияние на картину крови, повышая содержание гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов на 9,8, 11 и 11,24% соответственно.
4. Введение в рацион глубокосупоросным и подсосным свиноматкам сукцината железа дигидрата "Ферси" в дозах 0,5 и 1,5 г оказывает профилактирующее действие на развитие железодефицитной алиментарной анемии у подсосных поросят.

5. У опытных поросят повышается прирост живой массы на 43%, а их сохранность на 30%.
6. Разработан общий доступный способ получения сукцинатов d-металлов: марганца (II), железа (II), кобальта (II), меди (II), цинка высокой степени чистоты с выходами целевых продуктов 85-94%. Выявлено, что гидролиз водных растворов сульфатов d-металлов (реагентов) является основной причиной загрязнения целевых продуктов; определены оптимальные условия реакции: субстрат-реагент, порядок их смешения, температура, время, pH начала и конца реакции.
7. Методами гравиметрического, элементного и физико-химического анализов установлено, что сукцинаты железа (II), кобальта (II), меди (II) и цинка являются дигидратами общей формуле  $MeL \cdot 2H_2O$ , а сукцинат марганца (II) - тетрагидратом -  $MnL \cdot 4H_2O$  ( $L^2 = -OOC-(CH_2)_2-COO-$ ).
8. Сукцинаты d-металлов являются малорастворимыми соединениями в воде и в ряду сукцинатов Mn Zn Co Fe Cu снижается их растворимость; растворимость сукцинатов d-металлов в 0,4-% растворе соляной кислоты выше, чем в воде и в ряду сукцинатов Mn Zn Co Cu Fe снижается.

## **5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

1. Для профилактики железодефицитной анемии у подсосных поросят предлагается введение в рацион препарата сукцината железа (II) дигидрата „Форси” дозах 0,5 г и 1,5 г на голову глубокосупоросным и подсосным свиноматкам соответственно.
2. Результаты наших исследований вошли во „Временное наставление по применению „Сукцината железа (II) дигидрата „Ферси” в животноводстве и ветеринарии” (Утвержденное Главным управлением ветеринарии Кабинета министров Республики Татарстан 23 ноября 2002 г.).
3. Разработанная методика получения сукцината железа (II) дигидрата вошла в технические условия на препарат „Ферси” сукцинат железа (II) дигидрат ТУ 26349216600100102 (Утвержденное Главным управлением ветеринарии Кабинета министров Республики Татарстан 23 ноября 2002 г.);

## **6. ПЕРЕЧЕНЬ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Гильметдинов Б.М. Соли янтарной кислоты - биологически активные добавки // Материалы II республиканской конференции молодых ученых „Молодые ученые - агропромышленному комплексу”, 28-29 марта 2000 г., Казань. - 2000. - С.95-96.

2. Кадырова Р.Г., Папуниди К.Х., Гильметдинов Б.М., Юсупов Р.А. Определение содержания металлов в сукцинатах d-элементов // Материалы международ.научн.конф. „Современные проблемы животноводства”, посвященной 70-летию зооинженерного факультета, 30-31 мая 2000 г., Казань. - 2000. - С.57.
  3. Кадырова Р.Г., Папуниди К.Х., Гильметдинов Б.М. Применение и синтез сукцинатов // Материалы международ.научн.конф.„Современные проблемы животноводства”, посвященной 70-летию зооинженерного факультета, 30-31 мая 2000 г., Казань. - 2000. -С.55-56.
  4. Гасанов А.С., Малов Д.В., Гильметдинов Б.М. Острая токсичность янтарнокислого железа // Материалы международ.научн.конф.„Современные проблемы животноводства”, посвященной 70-летию зооинженерного факультета, 30-31 мая 2000 г., Казань. -2000.-С.262-263.
  5. Гильметдинов Б.М., Малов Д.В., Гасанов А.С. Острая токсичность сукцината цинка // Материалы международной конференции научно-практической конференции „Перспективные направления научных исследований молодых ученых Урала и Сибири на рубеже веков”, 17 мая 2000 г., Троицк. - 2000. - С.24-25.
  6. Пат. 2174508 (Россия), МПК<sup>6</sup> C07C51/41, 55/10. Способ получения сукцинатов D-металлов / Кадырова Р.Г., Папуниди К.Х., Гильметдинов Б.М. (Россия); Заявл. 29.02.2000; Опубл. 10.10.2001.
  7. Папуниди К.Х., Кадырова Р.Г., Малов Д.В., Гильметдинов Б.М., Гасанов А.С. Изучение кумулятивного, кожно-резорбтивного и раздражающего действия сукцинатов железа и цинка // Научно-практическая конференция „ Новые фармакологические средства для животноводства и ветеринарии”, посвященной 55-летию Краснодарской НИВС, 13-15 июня 2001 г., Краснодар. - 2001.- В 2Т. -Т.1. - С.125-126.
  8. Кадырова Р.Г., Папуниди К.Х., Гильметдинов Б.М., Мавлеев Р.А., Рахманкулов Ш.М. Изучение физико-химических свойств солей янтарной кислоты // Матер.научно-производств.конф по актуальным проблем.ветеринар. и зоотехн., 31 мая - 1 июня 2001г., Казань. - 2001. - 4.2. - С.150-151.
  9. Папуниди К.Х., Кадырова Р.Г., Малов Д.В., Гильметдинов Б.М., Гасанов А.С. Острая токсичность сукцината кобальта (II) // Матер.научно-производств.конф по актуальным пробл.ветер.и зоотехн., 31 мая -1 июня 2001г., Казань. - 2001. - Ч.2. - С.150-151.
  10. Малов Д.В., Гильметдинов Б.М., Кадырова Р.Г. Острая токсичность сукцината меди (II) // Материалы международной конференции ветеринарных фармакологов и токсикологов, посвященной 125-летию Н.А.Сошественского, 27-28 сентября 2001 г., Казань. - 2001.-С.27-28.
- И.Зиятдинов Р.Н., Серпокрылов А.А., Мукменева Н.А., Кадырова Р.Г., Гильметдинов Б.М. Разработка технологического процесса получения сукцината железа // Ма-

тер.Всеросс.научно-производств.конф.по актуальным проблемам ветеринарии и зоотехнии, Казань, 30-31 мая 2002 г., Ч.1.- С.52-53.

12. Кадырова Р.Г., Папуниди К.Х., Гильметдинов Б.М., Рахманкулов Ш.М. Изучение растворимости солей янтарной кислоты в среде, моделирующей биологическую // Матер.Всеросс.научно-производств.конф.по актуальным проблемам ветеринарии и зоотехнии, Казань, 30-31 мая 2002 г., Ч.1,- С.66-67.
13. Кадырова Р.Г., Папуниди К.Х., Мавлеев Р.А., Гильметдинов Б.М., Рахманкулов Ш.М. Изучение, растворимости сукцинатов d-элементов методом ионной хроматографии // Ученые записки КГАВМ им.Н.Э.Баумана. - 2002. - Т.173. - С.97-101.