

НОВОСЕЛОВ ОЛЕГ НИКОЛАЕВИЧ

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СФАГНОСАНА И
ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТЬ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ
НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ БРОНХОПНЕВМОНИИ ТЕЛЯТ**

4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и
токсикология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»

Научный руководитель: **Медетханов Фазил Акберович,**
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Савинков Алексей Владимирович** – доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой эпизоотологии, патологии и фармакологии ФГБОУ ВО «Самарский государственный аграрный университет»

Киреев Иван Валентинович – доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры терапии и фармакологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии»

Защита диссертации состоится «19» декабря 2024 г. в 14⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета 35.2.016.01 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» по адресу: 420029, г. Казань, Сибирский тракт, 35.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» и на сайте <http://kazanveterinary.ru>

Автореферат разослан «_____» _____ 2024г. и размещен на сайтах: <http://www.vak.ed.gov.ru> и <http://kazanveterinary.ru>

Ученый секретарь
диссертационного совета

Ларина Юлия Вадимовна

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Скотоводство, как отрасль сельского хозяйства, занимает одно из ведущих направлений в Российской Федерации (И.Н. Миколайчик, 2020; Карамеев и др., 2019). Приоритетными задачами скотоводства являются разведение и выращивание крупного рогатого скота с целью получения высокопитательных продуктов (молока, мяса) и сырья для перерабатывающей промышленности.

Скотоводство зависит как от селекционной работы, направленной на совершенствование продуктивных и племенных качеств, а также от технологии выращивания, где главной задачей ветеринарного врача является недопущение развития различных заболеваний, а в случае их возникновения – должное и правильное лечение, нацеленное на сохранение стада.

Оказание лечебной ветеринарной помощи невозможно осуществить без различных лекарственных средств и препаратов, которые могут быть представлены химиотерапевтическими, гормональными, нестероидными противовоспалительными, витаминными, минеральными и другими препаратами. Данные лекарства помимо основного фармакологического действия могут оказывать ряд нежелательных эффектов, называемых побочными реакциями: общетоксическое действие, кумуляция, привыкание, сенсбилизация, резистентность и др. (М.И. Рабинович и др., 2022). Так, например, частое и не всегда подходящее использование антибактериальных препаратов в условиях различных заболеваний животных способно привести к антибиотикорезистентности: продукция бета-лактамазы расширенного спектра и хромосомные бета-лактамазы, аминогликозидмодифицирующие ферменты, инактивирующие ферменты, изменение проницаемости клеточной стенки бактерий, различные биохимические механизмы блокирования антимикробных агентов (С.В. Шабунин, М.З. Магомедов и др., 2009; С.В. Шабунин, А.Г., Шахов и др., 2015).

Особенно это актуально для крупных скотоводческих предприятий, где очень часто встречаются незаразные патологии крупного рогатого. Одной из таких болезней является неспецифическая бронхопневмония телят, требующая применения антибактериальных препаратов (Н.Б. Никулина и др., 2017). И чтобы снизить риск возникновения устойчивой резистентности условно-патогенной и патогенной микрофлоры необходимые новые лекарственные средства, усиливающие действие антибиотиков и снижающие длительность и кратность их применения. Поэтому разработка новых лекарственных препаратов для нужд ветеринарии остается актуальной проблемой и на сегодняшний день.

Данную проблему можно решить с помощью новых лекарственных средств, разработанных на основе сырья природного происхождения.

Новые лекарственные средства благодаря химическим компонентам, входящим в их состав и взаимодействующим между собой, способны оказывать противовоспалительный, антибактериальный и общестимулирующий эффекты.

При этом их действие нацелено на ускорение сроков выздоровления животных в случае применения антибиотиков с наименьшими побочными явлениями.

Степень разработанности темы. При лечении воспалительных патологий респираторного тракта сельскохозяйственных животных чаще всего используют антибактериальные препараты. В настоящее время антибиотикотерапия направлена на ограничительное использование, ввиду того что антибактериальные препараты действуют на организм опосредовано в отличие от других лекарственных средств. Их опосредованное воздействие в первую очередь связано с подавлением метаболизма, роста и размножения микроорганизмов. При бесконтрольном использовании антибактериальных препаратов или при их использовании в завышенных дозах, увеличении курса лечения и кратности применения, особенно без учета видовой и возрастной чувствительности животных, развиваются нежелательные побочные явления, чаще всего носящие тяжелый характер (А.В. Григорьев и др., 2015). Одним из таких явлений может являться антибиотикорезистентность (С.В. Шабунин, М.З. Магомедов и др., 2009; С.В. Шабунин, А.Г., Шахов и др., 2015). Поэтому поиск альтернативных средств лечения или разработка новых лекарственных средств, снижающих длительность, кратность применения антибиотиков послужило основанием для выбранной темы.

Цель и задачи исследований. Целью настоящих исследований явилась разработка, доклиническая оценка фармако-токсикологических свойств комплексного средства Сфагносан и определение его эффективности при включении в схему лечения телят, больных неспецифической бронхопневмонией.

Для достижения указанной цели были определены следующие **задачи**:

1. Разработать средство на основе *Sphagnum* и *Fomitopsis pinicola* и определить его химический состав;
2. Определить безопасность средства Сфагносан для теплокровных животных (острая, хроническая токсичность, кумулятивные, местно-раздражающие, алергизирующие, эмбриотоксические и тератогенные свойства);
3. На этапе доклинических исследований изучить фармакологические свойства комплексного средства Сфагносан с определением оптимальных доз;
4. Определить эффективность применения Сфагносана в комплексной терапии телят, больных неспецифической бронхопневмонией.

Научная новизна. Впервые на основе мха сфагнум и трутовика окаймленного получено новосредство Сфагносан, в жидкой лекарственной форме для внутримышечного введения. С использованием специальных методик изучен химический состав, проведена оценка общей и специфической токсикологической безопасности, определены оптимальные дозы и установлены противовоспалительные свойства Сфагносана. Полученные результаты апробированы в производственных условиях при комплексной терапии неспецифической бронхопневмонии телят.

Теоретическая и практическая значимость работы. Представленные в диссертационной работе материалы дополняют знания по получению и

использованию средств из природного сырья в области ветеринарии. Показана перспективность получения инъекционных препаратов из мха сфагнум и полипоровых грибов. Многочисленными доклиническими исследованиями показана безвредность и терапевтическая эффективность Сфагносан при воспалительной патологии.

Теоретическая значимость работы включает в себя в первую очередь расширение области использования мха сфагнума и трутовика окаймленного в ветеринарной медицине. Разработка и получение готового лекарственного средства на основе данных природных компонентов, определение основных групп биологически активных веществ, содержащихся в средстве, дальнейшее его применение в комплексной терапии неспецифической бронхопневмонии телят составляют практическую значимость работы.

Практическая значимость подтверждена:

1. Временными ветеринарными правилами лекарственного средства Сфагносан на основе мха сфагнума и трутовика окаймленного;
2. Результатами доклинических исследований и производственной апробации при неспецифической бронхопневмонии телят;
3. Полученные результаты рекомендованы к использованию в учебном процессе высших учебных заведений ветеринарного профиля по дисциплинам: «Ветеринарная фармакология», «Ветеринарная токсикология», «Ветеринарная фармация» и «Внутренние незаразные болезни животных».

Методология и методы исследования. При разработке данного средства использовали физические и химические методы.

При изучении фармако-токсикологических свойств использовались адекватные методологические приемы и современные методы исследований, позволяющие дать объективную оценку свойств и основных характеристик разработанного средства. В частности, применялись токсикологические, фармакологические, клинические, гематологические, биохимические и статистические методы.

Объектом исследований является комплексное средство из *Sphagnum* и *Fomitopsis pinicola*.

Предметом исследований служат белые мыши и крысы, кролики. Результаты доклинических фармакологических исследований подтверждены в производственных условиях на телятах, больных неспецифической бронхопневмонией.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Сфагносан – новое комплексное средство на основе *Sphagnum* и *Fomitopsis pinicola* для внутримышечного введения;
2. Средство не обладает острой, хронической токсичностью, кумулятивными свойствами, местно-раздражающим действием, алергизирующими, эмбриотоксическими и тератогенными свойствами;
3. При дополнительном включении в основную схему лечения телят, больных неспецифической бронхопневмонией, способствует выздоровлению.

Степень достоверности и апробации результатов. Достоверность полученных результатов, основных положений и выводов обоснована проведением серийных доклинических исследований и производственной апробацией с использованием широкого спектра методологических приемов и сертифицированного оборудования, а также статистической обработкой цифрового материала.

Материалы диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на заседаниях научно-технического и ученого совета ФГБОУ ВО КГАВМ (2021-2024, Казань); во II Международном учебно-исследовательском конкурсе «Студент года 2021» в номинации «Ветеринарные науки» (2021 г.), в Международном учебно-исследовательском конкурсе «Студент года 2022» в номинации «Ветеринарные науки» (2022 г.), в конкурсе научно-исследовательских и научно-практических работ на соискание именных стипендий Мэра г. Казани среди студентов и аспирантов (2022 г., Казань), в XVI Международной научно-практической конференции «Научные основы повышения продуктивности, здоровья животных и продовольственной безопасности», посвященной 95-летию со дня рождения профессора А.Н. Ульянова (2022 г.), в III Национальной премии «Серебряный микроскоп» (2023 г.), в «Студенческом Стартапе III очередь (2023 г.), в конкурсе на соискание премии за достижения в развитии Российской органической продукции в номинации «Лучший молодежный проект по популяризации органической продукции» (2023 г.), в I и во II этапах Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых аграрных образовательных и научных организаций России в номинации «Ветеринария» для аспирантов и молодых ученых (2023 г., Казань), в III этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых аграрных образовательных и научных организаций России в номинации «Ветеринария» для аспирантов и молодых ученых (2023 г., Москва), в IV Национальной премии «Серебряный микроскоп» (2024 г.), в I этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых аграрных образовательных и научных организаций России в номинации «Ветеринария» для аспирантов и молодых ученых (2024 г., Казань), в конференции «Молодёжные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК», посвящённая 90-летию профессора И.Н. Никитина (2024 г., Казань)

Личный вклад автора. Автор принимал непосредственное участие в определении темы, разработке комплексного средства Сфагносан на основе *Sphagnum* и *Fomitopsis pinicola* и получении его готовой лекарственной формы для внутримышечного введения. Проводил доклинические исследования по изучению общей и специфической токсической безопасности, фармакологическим свойствам с определением оптимальных доз введения, а также участвовал в производственной апробации разработанного средства при неспецифической бронхопневмонии телят. Произвел статистическую обработку с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel 2005 и Statistica 7.0,

проанализировал полученные результаты и сформулировал научные выводы. Занимался непосредственным оформлением материалов публикаций.

Публикации результатов исследований. По теме диссертации опубликованы 9 научных работ, 3 из которых напечатаны в изданиях, рекомендованных ВАК Российской Федерации, и 6, включенных в РИНЦ.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 154 страницах компьютерного текста и включает в себя введение, обзор литературы, материал и методы исследований, результаты собственных исследований, заключение, практические предложения, список сокращений, список литературы и приложения. В научной работе отражены 36 таблиц и 35 рисунков. Библиографический список состоит из 162 источников, 52 из которых относятся к иностранной литературе.

2 ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Материалы и методы исследований

Научно-квалификационная работа была выполнена в 2021-2024 годах в условиях кафедры фармакологии, токсикологии и радиобиологии и вивария ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», ее научно-производственная апробация была осуществлена в условиях хозяйства ООО «Борнак» Балтасинского района Республики Татарстан.

Экспериментальная часть работы по изучению общетоксических и фармакологических свойств нового комплексного средства Сфагносан выполнялась в стандартных условиях вивария ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на 221 нелинейных белых крысах, а также на 132 белых мышах и 8 кроликах. Изучение терапевтической активности Сфагносана, включенного в основную схему лечения неспецифической бронхопневмонии, было проведено на 24 телятах 3-х месячного возраста черно-пестрой породы.

Оценка фармако-токсикологических свойств разработанного средства Сфагносан производилась с помощью токсикологических, фармакологических, клинических, гематологических и биохимических методов.

Все эксперименты проводились в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая» (А.Н. Миронов, 2012) и Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 708н от 23.08.2010). Эксперименты на животных проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей.

Комплексное средство Сфагносан, основными компонентами которого являются гриб трутовик окаймленный и мох сфагнум, было получено на кафедре фармакологии, токсикологии и радиобиологии ФГБОУ ВО Казанской

ГАВМ. Для этого гриб трутовик окаймленный собирали с крон деревьев в Высокогорском районе Республики Татарстан, мох сфагнум - на болотистой местности Звениговского района Республики Марий Эл. Для получения готовой лекарственной формы Сфагносана использовали физические и химические методы.

Изучение химического состава, а именно проведение качественных реакций на содержание БАВ, комплексного средства Сфагносан проходило согласно учебным (Н.В. Кудашкина, 2019; Г.И. Калинин и др., 2008) и учебно-методическим пособиям (А.Ю. Петров и др., 2016), практикуму (О.В. Чернышенко, 2015).

Доклиническое изучение нового лекарственного средства включало в себя исследования параметров острой и хронической токсичности, коэффициента кумуляции, а также параметров специфической токсичности (местно-раздражающие, алергизирующие, эмбриотоксические и тератогенные свойства). Для оценки фармакологических свойств использовали лабораторные животные с воспроизведением у них патологических процессов различного характера посредством химических соединений (Р.У. Хабриев, 2005). Далее были проведены клинические исследования на телятах, больных неспецифической бронхопневмонией.

Острую токсичность определяли в соответствии «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (А.Н. Миронов, 2012). Для отнесения Сфагносана к классу опасности использовали ГОСТ 12.1.007 – 76.

Определяли параметры острой токсичности, как разработанного комплексного средства, так и отдельных компонентов, входящих в его состав. Данный общетоксический показатель исследовали при различных путях введения на лабораторных крысах. Средство вводили внутривентриально с помощью атравматического зонда с учетом 12-часовой голодной диеты лабораторных животных и внутримышечно с помощью одноразовых инъекционных шприцов разного объема. Максимально допустимая доза введения для крыс составила 5,0 мл. При проведении опытов вели клиническое наблюдение за лабораторными животными на протяжении 14 суток, оценивали динамику, абсолютный и среднесуточный прирост массы тела, морфологический состав крови. По завершении эксперимента проводили вскрытие животных для оценки состояния внутренних органов с определением их массы.

Для определения коэффициента кумуляции Сфагносана использовали лабораторных белых крыс. Средство вводили внутримышечно в условно-терапевтической дозе, которую каждые четверо суток увеличивали в 1,5 раза. Длительность эксперимента составила 28 дней. Опыт был завершен с расчетом коэффициента кумуляции, установлением динамики массы тела, изучением влияния комплексного средства на внутренние органы путем оценки их макроструктуры и определения органно-весовых коэффициентов.

При изучении хронической токсичности разработанного средства были сформированы 3 опытные группы лабораторных животных, каждой из которых внутримышечно вводили средство в разных дозах. Лабораторным крысам первой опытной группе вводилась условно-терапевтическая доза, второй опытной – в 5 раз ее больше, третьей опытной – в 5 раз меньше условно-терапевтической. В процессе эксперимента, который длился непрерывно 30 дней, проводили клинический осмотр животных с целью выявления признаков интоксикации, оценивали динамику массы тела. В конце опыта с учетом 12-часовой голодной диеты у лабораторных крыс проводили отбор крови на гематологические показатели. Морфологический состав крови изучали согласно общепринятым методикам (О.Н. Полозюк, 2019) в лаборатории кафедры фармакологии, токсикологии и радиобиологии, а показатели биохимического состава крови определяли на биохимическом анализаторе Seamaty SMT-120VP. После эвтаназии проведено изучение топографии и макроструктуры внутренних органов. Дана оценка возможных изменений в макроструктуре внутренних органов при длительном воздействии Сфагносана на организм лабораторных крыс.

После изучения общетоксических свойств Сфагносана была дана оценка его специфической токсичности. Для оценки местно-раздражающих свойств использовали метод кожных аппликаций на крысах белой масти и конъюнктивальную пробу – на кроликах-альбиносах. Метод конъюнктивальной пробы включал в себя нанесение 1 капли разработанного средства в конъюнктивальный мешок. При проведении кожных аппликаций на заранее выстриженный участок кожи размером 2 см² прикладывали ватно-марлевый тампон, смоченный Сфагносаном в объеме 1 мл, экспозиция которого составляла 4 часа. Для изучения местно-раздражающего действия оценивали состояние кожного покрова, конъюнктивы век и глазного яблока непрерывно на протяжении первых 4-х часов эксперимента, а затем при регулярном клиническом осмотре в течение 14 дней.

Аллергизирующие свойства изучали, руководствуясь методическими указаниями (Р.У. Хабриев, 2005), используя реакции общей и активной кожной анафилаксии на беспородных лабораторных мышах. Тестирование средства Сфагносан на самцах и самках проводили отдельно. Для сенсibilизации животных в реакции общей анафилаксии за исходную дозу была принята 1/50 от максимально использованной в остром опыте в перерасчете на массу мыши (0,01 мл). Разрешающая доза была в 10 раз выше исходной. Сенсibilизацию проводили путем трехкратных парентеральных введений. На 21 сутки после последней инъекции средства мышам первой опытной группы внутривенно вводили суммарно сенсibilизирующую дозу Сфагносана (0,03 мл), а второй опытной – аналогично суммарно разрешающую (0,3 мл). Для оценки картины анафилаксии использовали индексы Weigle (W.O. Weigle, 1960). В контрольной группе животных использовали воду для инъекций.

При исследовании кожной анафилаксии сенсibilизирующая доза введения также составила 1/50 от максимально использованной в остром опыте

с учетом массы тела – 0,01 мл. Методика сенсibilизация лабораторных мышей аналогична методике, используемой в опыте по общей анафилаксии. На 21 сутки проводимого эксперимента в области выстриженного участка кожи вводили суммарную сенсibilизирующую дозу в объеме 0,03 мл, после чего через 20-30 минут в боковую вену хвоста вводили 0,1 мл раствора трипанового синего. После умерщвления мышей с использованием диэтилового эфира измеряли величину синего пятна на внутренней поверхности кожи, куда вводилось разработанное средство в суммарной сенсibilизирующей дозе.

С целью изучения эмбриотоксических свойств оплодотворенным самкам на протяжении 19 суток после установления наличия сперматозоидов в их вагинальных мазках внутримышечно инъецировалось разработанное средство в дозировке 1/50 от максимально использованной в остром опыте (0,1 мл). На 20-е сутки проводимого опыта после эвтаназии диэтиловым эфиром у самок белых крыс извлекали плоды с целью установления их жизнеспособности, подсчитывали количество плодов и желтых тел, число мест имплантации на одну самку, определяли предимплантационную и постимплантационную смертность, а также общую эмбриональную смертность (А.Н. Миронов, 2012; И.М. Трахтенберг, 1991; Р.У. Хабриев, 2005). У извлеченных плодов для определения гендерной принадлежности измеряли аногенитальные размеры, устанавливали массу и длину плода, диаметр и массу плаценты, а также возможные пороки развития.

Во второй группе самок вели наблюдения до наступления естественных родов с учетом количества дней беременности, числа крысят на одну самку и установлением физиологических и морфологических показателей (сроков отлипания ушной раковины, прорезывания резцов, опушения, открывания глаз). Также учитывали возможную гибель крысят в постнатальном периоде развития.

По завершению изучения общетоксических и специфических токсических свойств нового комплексного средства были проведены исследования его фармакологической активности. В частности, были изучены противовоспалительные свойства Сфагносана на лабораторных крысах, у которых был смоделирован «формалиновый отек» левой тазовой конечности путем субплантарного введения 2% водного раствора формалина в дозе 0,3 мл. Изучены показатели прироста объема отека и торможения воспаления, дана сравнительная оценка противовоспалительных свойств Сфагносана относительно группы сравнения, где в качестве противовоспалительного препарата парентерально использовался кетопрофен в форме лекарственного препарата «Флекспрофен 2,5% в дозе 2 мг/кг.

До введения 2% водного раствора формалина, а также на 7 и 12 сутки осуществляли забор крови из боковой хвостовой вены лабораторных крыс с целью подсчета общего числа лейкоцитов и выведения лейкоцитарной формулы. По полученным результатам оценивали влияние комплексного средства Сфагносан на процесс альтерации.

Одним из важных аспектов проводимых исследований являлось определение оптимальной дозы введения комплексного средства Сфагносан. С этой целью в опытах использовался молодняк лабораторных крыс, из которых были сформированы 3 опытные и 1 контрольная группа, получавшие соответственно 0,1 мл (кратную терапевтической дозе), 0,25 мл (промежуточную дозу) и 0,5 мл (терапевтическую дозу) разработанного средства. Основными показателями, по которым оценивался результат проводимого эксперимента, являлись масса тела в динамике, органо-весовой коэффициент и результаты общего анализа крови. Помимо этого, при подсчете органо-весовых коэффициентов также оценивалась макроструктура внутренних органов.

Завершающим этапом всех проводимых исследований являлось производственная апробация комплексного средства Сфагносан на телятах 3-х месячного возраста с диагнозом неспецифическая бронхопневмония. С этой целью была сформирована первая группа телят, для которых в схеме лечения использовался антибиотик Флоридокс и витаминный комплекс Элеовит, и вторая группа, где дополнительно парентерально вводилось разработанное средство Сфагносан в дозе 0,2 мл на кг 1 раз в 24 часа на протяжении 5-и суток. За животными в течение проводимого опыта вели клиническое наблюдение, проводили термометрию, оценивали функциональную активность работы сердца и органов дыхания. В конце опыта осуществляли взятие крови из вены хвоста для определения морфологического состава и биохимических показателей сыворотки крови с целью оценки влияния комплексного средства Сфагносан на организм телят и подтверждения терапевтического эффекта.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программных приложений Microsoft Excel 2005 и Statistica 7.0.

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 Способ получения и химический состав комплексного средства Сфагносан

При получении комплексного средства Сфагносан использовались мох *Sphagnum* и гриб-трутовик *Fomitopsis pinicola*, собранные в летне-осенний период. Для этого из мха сфагнума выжимали излишнюю влагу и проводили его измельчение на мелкие частицы размером 1,5 – 2,0 см. В свою очередь трутовик очищали от механических загрязнений и также измельчали на небольшие кусочки размером 1 на 1 см. Измельченное природное сырье переносили в термостойкую плоскодонную колбу, к горловине которой присоединяли шариковый холодильник, подключенный к системе водоснабжения. Колбу с сырьем размещали над нагревательным прибором при температуре 110 градусов с одновременным охлаждением для получения конденсата. Полученный в процессе сухой возгонки конденсат собирали в отдельную емкость, из чего с использованием разработанных на кафедре методик (Патент № 2487721 С1 Российская Федерация, Ф.А. Медетханов и др.,

2012) получали жидкую лекарственную форму для парентерального введения. Для приготовления конечного продукта компоненты смешивали 1 к 1, доводили рН до 4,5 и фильтровали трижды, затем разливали в стерильные флаконы с дальнейшей стерилизацией методом тиндализации.

2.2.2 Качественные реакции на определение основных групп биологически активных веществ Сфагносана

При проведении качественных реакции с комплексным средством Сфагносан были выделены следующие группы биологически активных веществ: флаваноиды и их производные (флаваноны, флавоны), фенольные соединения, дубильные вещества, тритерпеновые сапонины.

2.2.3 Исследование параметров острой токсичности отдельных компонентов и комплекса Сфагносана на лабораторных животных

Исследования токсикологической безопасности разработанного средства было начато с определения параметров острой токсичности, как отдельных компонентов, так и их комплекса при пероральном и парентеральном способах введения лабораторным мышам и крысам в максимально допустимых дозах, согласно методическим указаниям (А.Н. Миронов, 2012). Установлено, что Сфагносан не приводит к гибели лабораторных животных, не сопровождается снижением показателей массы тела. При вскрытии лабораторных животных в макроструктуре их внутренних органов отсутствуют патологические изменения. Ввиду этого комплексное средство Сфагносан согласно ГОСТ 12.1.007 – 76 отнесено к IV классу опасности (к веществам малоопасным).

2.2.4 Исследование кумулятивных свойств комплексного средства Сфагносан

При проведении серии опытов, в которых комплексное средство Сфагносан на протяжении 28 суток вводили внутримышечно в возрастающих дозах лабораторным крысам установлено, что коэффициент кумуляции составил 12,76, что превосходит коэффициент кумуляции 5, следовательно, испытуемое средство не обладает кумулятивными свойствами (Л.И. Медведь, 1968). При анализе полученных результатов морфологического состава крови у крыс опытной группы отмечается достоверное снижение эритроцитов на 17,6%, гемоглобина - на 14,2%, повышение СОЭ - на 31,3% по отношению к контролю ($p \leq 0,05$). При этом гибель лабораторных животных не регистрировалась, после проведенного вскрытия масса и макроструктура внутренних органов крыс опытной группы не отличалась от контроля, что свидетельствует об отсутствии повреждающего действия Сфагносана.

2.2.5 Исследование хронической токсичности Сфагносана

При внутримышечном введении разработанного средства в различных установленных дозах на протяжении одного месяца гибель лабораторных крыс не установлена ни в одной опытной группе, однако был получен разнонаправленный характер результатов взвешивания, морфологического состава крови и биохимических показателей сыворотки крови, а также результатов вскрытия. Длительное введение Сфагносана в дозе пять раз превышающей условно-терапевтическую (2,5 мл на одну крысу), приводит к снижению массы тела (-0,9%), к изменениям в морфологическом составе крови (эритропения, снижение концентрации гемоглобина, и ускорение СОЭ), в показателях отражающих работу печени завышение трансаминаз, общего билирубина, холестерина, снижение общего белка и альбуминов. При вскрытии лабораторных животных первой (0,5 мл) и третьей (0,1 мл) опытных групп, а также в контроле (вода для инъекций) не установлены повреждающие изменения в макроструктуре внутренних органов. Стоит отметить, что в опытной группе крыс, длительно получавших разработанное средство в максимальной дозе (2,5 мл), есть структурные изменения в печени: крупные локальные очаги повреждения в виде затемнения.

2.2.6 Исследование алергизирующих свойств Сфагносана

При проведении серии опытов установлено, что при предварительной сенсибилизации лабораторных мышей Сфагносан не вызывает проявление у них анафилактикогенных реакций как в сенсибилизирующей, так и в 10 раз ее превышающей дозе. Опыты по изучению активной кожной анафилаксии разработанного средства также устанавливают отсутствие отрицательных реакций у подопытных мышей.

2.2.7 Исследование местно-раздражающего действия Сфагносана

Опытным путем доказано, что при местном нанесении комплексного средства Сфагносан на заранее выстриженный участок кожи лабораторных крыс методом накожной аппликации раздражающий эффект не выявлен, поскольку отсутствовали какие-либо структурные изменения. В то же время при нанесении разработанного средства на конъюнктиву глаза кроликов-альбиносов изменения со стороны слизистой оболочки глаза не регистрировались.

2.2.8 Исследование эмбриотоксических и тератогенных свойств Сфагносана

При проведении данных опытов установлено, что при длительном внутримышечном введении комплексного средства Сфагносан основные показатели беременных самок опытной группы не имели достоверной разницы по отношению к контролю. При этом число мест имплантации в опытной группе составило $12,1 \pm 0,27$ и отличалось от контроля на $0,9 \pm 0,02$, что также имело равнозначный характер. Число желтых тел на одну опытную самку равнялось $12,65 \pm 0,79$, в то время как в контроле данный показатель был равен $10,11 \pm 0,36$. Достоверная разница в количестве живых плодов на одну самку в опытной и контрольной группах не выявлена. Показатель предимплантационной смертности крыс опытной группы в среднем составил $12,31 \pm 4,9$, в контроле – $12,01 \pm 3,84$, при этом достоверной разницы между ними не установлено. Показатель, характеризующий постимплантационную смертность, в опытной группе был выше на 4,6% по отношению к контролю. Процентное значение общей эмбриональной смертности в опытной и контрольной группах имели равнозначный характер.

Масса плодов и краниокаудальный размер в опытной и контрольной группах имели равнозначный характер, но отличались между самками и самцами в каждой группе. В опытной группе масса самцов превосходила массу самок на 11,7%, в контрольной группе – на 10,3%. Краниокаудальный размер самцов опытной группы составил $29,36 \pm 0,05$ мм, что было выше данного показателя у самок на 3,7%, в то время как в контроле соответствующая разница составила 1,7%.

В опытной группе установлены такие единичные пороки развития, как кровоизлияния в брюшную полость, полнокровие сосудов тела и предсердий, что допустимо в период антенатального развития.

Средняя продолжительность беременности самок в контрольной и опытной группах примерно длилась 22 дня. Такие морфофизиологические показатели, как масса телят крысят, сроки опушения, отлипания ушной раковины, открывания глаз, прорезывания резцов, были равнозначными в обеих группах. Показатели постнатальной смертности не превышали контрольные значения.

2.3 Экспериментальное обоснование выбора оптимальной дозы Сфагносана

По результатам среднесуточного и относительного прироста массы тела (рисунок 1) на 21-е сутки в первой (доза введения 0,1 мл) и во второй (доза введения 0,25 мл) опытных группах установлены наибольшие значения относительного прироста живой массы по отношению к контролю и к третьей опытной группе. При этом данный показатель выше у второй опытной группы по отношению к первой на 1,5%.

В конце проводимого эксперимента наибольшие значения живой массы крысят, среднесуточного и относительного прироста были выявлены также у первой и второй опытных групп. Разница относительного прироста живой массы крыс между второй и первой опытными группами составила 6,6%.

Согласно полученным результатам взвешивания, морфологического состава крови (табл. 1) и органо-весовому коэффициенту белых лабораторных крысят со средней массой тела 50-55 грамм установлено, что наиболее оптимальными дозами внутримышечного введения являются 1/20 (0,25 мл) и 1/50 (0,1 мл) дозы от максимально использованной в остром опыте.

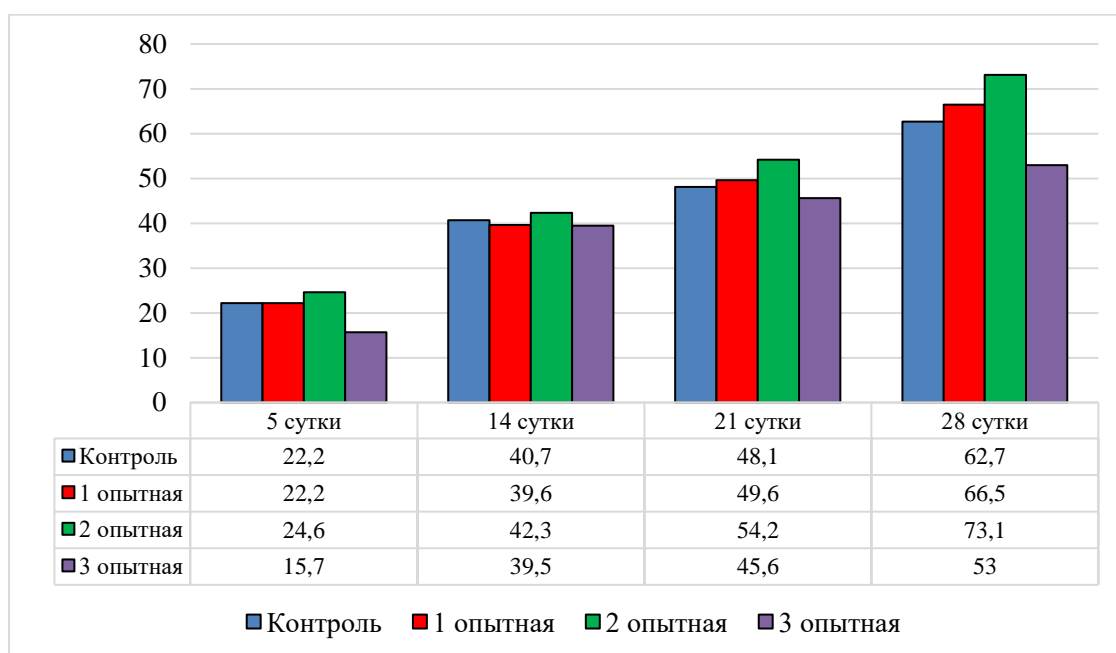


Рисунок 1 – Диаграмма относительного прироста массы тела лабораторных крысят в зависимости от введенной дозы Сфагносана, %

Таблица 1 – Морфологические показатели крови белых нелинейных крыс при различных дозах Сфагносана

Показатель	Группа			
	Контроль	1 опытная	2 опытная	3 опытная
	28 сутки			
Эритроциты, $10^{12}/л$	8,64±0,45	8,43±0,44	8,22±0,52	8,06±0,32
Лейкоциты, $10^9/л$	9,94±1,72	9,06±1,41	9,11±1,72	10,13±2,11
Гемоглобин, г/л	144,1±2,21	139,2±2,47	147,2±2,43	138,2±2,17
Гематокрит, %	40,3±1,26	41,9±2,31	44,2±2,15	39,8±2,86

2.4 Исследование противовоспалительных свойств Сфагносан

Фармакологическая активность, а именно противовоспалительные свойства, комплексного средства Сфагносан изучалась на модели «формалинового отека» мягких тканей дистальной части левой тазовой конечности лабораторных крыс.

В опытной группе, где использовали комплексное средство Сфагносан, на 12-е сутки проводимого эксперимента прирост объема конечности составил 5,9% по сравнению с данными интактной группы, а торможение воспаления – 81,8% по сравнению с контролем. Торможение воспаления первой опытной группы было ниже на 10%, чем во второй, где применялся кетопрофен (табл. 2).

Таблица 2 – Показатели прироста объема конечностей и торможения воспаления в динамике (n=8)

	Прирост объема, %			Торможение воспаления, %		
	72 часа	7 сутки	12 сутки	72 часа	7 сутки	12 сутки
Интактная	-	-	-	-	-	-
Контроль	64,7 %	61,8 %	32,4 %	-	-	-
1 Опытная	52,9 %	41,2 %	5,9 %	18,2 %	33,3 %	81,8 %
2 Опытная	50,0 %	35,3 %	2,9 %	22,7 %	42,8 %	91,8 %

На 12-е сутки после введения 2% водного раствора формалина количество лейкоцитов в опытных группах снизилось до значений, близких к показателям интактных крыс. В отличие от этого, у животных контрольной группы оставался лейкоцитоз с превышением количества белых клеток крови в 1,3 раза, чем в сравниваемой группе.

Установлены выраженные противовоспалительные свойства разработанного средства при его внутримышечном введении в дозе 0,3 мл с интервалом 48 часов. А также снижение воспалительного отека, восстановление тканевых элементов и показателей белых телец крови лабораторных крыс были установлены в группе лабораторных животных, где применялся Сфагносан.

2.5 Производственная апробация комплексного средства Сфагносан при неспецифической бронхопневмонии телят

Производственная апробация заключалась в определении терапевтической эффективности комплексного средства Сфагносан, включенного в основную схему лечения телят, больных неспецифической бронхопневмонией. При одновременном введении антибиотика широкого

спектра действия Флоридокса, витаминного комплекса Элеовит и разработанного средства клиническое выздоровление телят наступало на 1,7 суток раньше, чем при использовании только данного антибиотика и витаминов, что было подтверждено результатами клинического осмотра. Помимо этого, было изучено влияние комплексного средства Сфагносан на организм телят.

Таблица 3 – Общий анализ крови телят в динамике (M±m; n=8)

Показатель	Группа		
	Интактная	Контрольная	Опытная
	Исходные данные		
Эритроциты, $10^{12}/л$	7,64±0,32	5,58±0,26*	5,42±0,41*
Гемоглобин, г/л	119,3±2,51	98,2±3,85*	96,2±3,01*
Гематокрит, %	36,1±2,42	33,2±2,34	33,6±2,17
СОЭ, мм/ч	0,92±0,33	2,5±0,61*	2,3±0,44*
Лейкоциты, $10^9/л$	7,2±1,34	9,2±1,52*	9,6±1,41*
Тромбоциты, $10^9/л$	540±4,51	361±13,24*	386±12,32*
	12-е сутки опыта		
Эритроциты, $10^{12}/л$	7,4±0,23	6,42±0,21	6,68 ±0,34
Гемоглобин, г/л	125,0±3,26	114,1±6,73	118,3±4,27
Гематокрит, %	38,2±4,21	35,5±5,32	35,2±3,73
СОЭ, мм/ч	0,98±0,42	1,06±0,71	0,95±0,52
Лейкоциты, $10^9/л$	7,3±1,31	7,9±1,33	7,1±2,13
Тромбоциты, $10^9/л$	525,0±5,33	412,0±8,22*	422,0±6,31*

Примечание: * $p \leq 0,05$ – по отношению к значениям интактной группы

В начале проводимого эксперимента установлены снижения общего количества эритроцитов, гемоглобина и гематокрита у телят, больных острой бронхопневмонией, по сравнению со значениями здоровых животных (табл.3). При этом отмечается умеренный лейкоцитоз с повышением СОЭ по сравнению с интактной группой. Так, количество эритроцитов телят контрольной и опытной групп были достоверно ниже показателей здоровых животных на 26,9 и 29 % соответственно, значения гемоглобина здоровых телят было выше на 21,4% и 24,0 % по отношению к аналогичным показателям телят контрольной и опытной групп соответственно при $p \leq 0,05$. Содержание лейкоцитов телят в контроле достоверно превышало интактные значения на 27,8 %, а у молодняка опытной группы на 33,3 % ($p \leq 0,05$). Гематокрит был ниже в среднем на 3,0%.

Анализ морфологического состава крови после окончания опыта показал, что содержание красных кровяных телец и концентрация гемоглобина в сравниваемых подопытных группах имели несущественные различия между собой, но были близки к показателям референсной группы ($p \geq 0,05$). Гематокрит в обеих группах, где проводилось лечение, имел одинаковые значения и находился на прежнем уровне по отношению к интактной группе. Показатели СОЭ и число лейкоцитов приблизились к аналогичным значениям молодняка интактной группы и не имели достоверной разницы.

Биохимический анализ крови отражает функциональную способность организма. В таблице 4 отражены биохимические показатели сыворотки крови телят с целью изучения влияния комплексного средства Сфагносан на их организм при лечении неспецифической бронхопневмонии.

Таблица 4 – Биохимические показатели сыворотки крови телят по завершении опыта ($M \pm m$; $n=8$)

Показатель	Группа		
	Интактная	Контрольная	Опытная
	12-е сутки опыта		
Общий белок, г/л	64,1±1,14	57,4±2,86*	61,2±2,54
Альбумины, г/л	38,4±1,31	35,3±0,72	37,5±0,35
Билирубин общий, мкмоль/л	7,21±1,37	9,2±2,35	9,66±2,41
АСТ, ед/л	75,2±2,58	112,1±3,43*	118,3±4,69*
АЛТ, ед/л	41,5±1,36	56,9±2,24*	54,5±2,87*
ЩФ, ед/л	153,2±5,21	118,6±5,22*	112,4±4,88*
Мочевина, ммоль/л	3,56±0,32	3,14±0,15	3,81±0,16
Креатинин, ммоль/л	78,8±3,22	86,2±3,22	84,4±4,12
Са, ммоль/л	2,92±0,31	2,21±0,21	2,58±0,14
Р, ммоль/л	1,52±0,17	1,28±0,15	1,45±0,12

Примечание: * $p \leq 0,05$ – по отношению к значениям интактной группы

Значение общего белка, как показателя обменных процессов и контроля проводимого лечения, достоверно различался только в контрольной группе: его количественное содержание было ниже на 10,4 % по сравнению с интактной группой. В то время как в опытной группе достоверная разница не установлена.

При оценке состава белков отмечены несколько низкое содержание альбуминов по отношению к значениям телят интактной группы, при этом достоверной разницы не установлено.

Количественное содержание общего билирубина в контроле и опыте также не имели достоверной разницы по отношению к интактной группе.

Количество ферментов из группы трансфераз (АСТ и АЛТ) в группах телят с терапевтическим вмешательством было достоверно выше, чем у здоровых. В контрольной группе их количество по показателям АСТ находилось на уровне 112,1 ед/л, по значениям АЛТ – 56,9 ед/л, что достоверно выше, чем у телят интактной группы на 49,1 % и 37,1 % соответственно. В опытной группе значение АСТ было выше на 57,3% и АЛТ – на 31,3 % соответственно.

Значения щелочной фосфатазы телят, подвергшихся лечению, на 22,5 % и 26,6% соответственно меньше по отношению к здоровым, при $p \leq 0,05$.

Количественные различия альбуминов, общего билирубина, аминотрансфераз переболевших животных связаны с нарушением метаболических процессов в печени и во всем организме в целом.

Количественное изменение содержания мочевины в контроле ($3,14 \pm 0,15$) и опыте ($3,81 \pm 0,16$) достоверно не различались по отношению к значениям интактной группы ($3,81 \pm 0,16$). Содержание креатинина в группе, где использовались Флоридокс и Элеовит, был выше здоровых животных на 9,4%, а в опытной группе с дополнительным применением Сфагносана – на 7,1 %. При этом достоверная разница между здоровыми телятами и телятами подопытных групп не установлена.

Содержание кальция у телят опытной группы превышало данный показатель телят контрольной на 16,7%, но было ниже значения интактной группы на 11,6%. В отношении содержания фосфора отмечается схожая тенденция: 13,3% и 4,6% соответственно.

Таким образом, средняя продолжительность терапии неспецифической бронхопневмонии телят в контрольной группе составила 11 суток, в опытной – 9,3. Клиническое выздоровление телят при дополнительном внутримышечном введении Сфагносана в дозе 0,2 мл/кг произошло на 1,7 суток раньше, чем у аналогов. Полученные результаты подтверждаются и гематологическими исследованиями.

На основании данных биохимического анализа сыворотки крови телят подвергнутых лечению с дополнительным включением в схему лечения комплексного средства Сфагносан, не установлено отрицательное воздействие на организм молодняка в виде токсических реакций.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одной из приоритетных задач ветеринарного врача является лечение животных, которое не может производиться без применения ветеринарных лекарственных препаратов и средств. Поэтому разработка новых лекарственных средств для нужд ветеринарной медицины остается актуальной проблемой. Новые лекарственные средства могут разрабатываться из природного сырья, обладающего высокой фармакологической активностью благодаря своему химическому составу. Природное сырье, выступающее основными компонентами новых лекарственных средств, может быть представлено растительным материалом, мхами, грибами, продуктами животного происхождения, агроминералами и др.

Основанием к использованию вновь разработанных средств профилактики и лечения болезней животных служит не только оценка их фармакологических эффектов, но и отсутствие угрозы здоровью самого реципиента и конечного потребителя данного продукта.

На основании полученных результатов нами сформулированы следующие выводы:

1. Разработана технология получения жидкой лекарственной формы из *Sphagnum* и *Fomitopsis pinicola* для внутримышечного введения. Комплексное средство Сфагносан получено из пиролизатов мха сфагнума и трутовика окаймленного с последующим кислотно-ферментативным гидролизом. Сфагносан в своем химическом составе содержит флаваноиды, фенолы и фенольные соединения, терпеноиды, дубильные вещества, органические кислоты, макро- и микроэлементы.

2. Комплексное средство Сфагносан не вызывает гибель животных при его пероральном и парентеральном способах введения в разрешенной дозе 25 мл/кг. При доклинических исследованиях ЛД₁₀₀ и ЛД₅₀ не установлены, и в соответствии с классификацией химических соединений по ГОСТу 12.1.007-76 относится к IV классу опасности – вещества малотоксичные. Разработанное средство Сфагносан не обладает кумулятивными свойствами, хронической токсичностью, местно-раздражающим, аллергизирующим, эмбриотоксическим и тератогенным действием.

3. В опытах по изучению фармакологической активности на лабораторных животных установлено, что комплексное средство Сфагносан обладает выраженным противовоспалительным действием при внутримышечном введении дозе 1 мл/кг трехкратно с интервалом 48 часов. Показатель торможения воспаления по сравнению с контролем превосходил на 81,8%.

4. В комплексной терапии неспецифической бронхопневмонии телят средство Сфагносан при внутримышечном введении в дозе 0,2 мл/кг 1 раз в сутки на протяжении 5 дней сокращает сроки выздоровления телят на 1,7 суток раньше, чем при использовании только антибактериального препарата и витаминного комплекса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. На основании полученных результатов сформированы временные ветеринарные правила лекарственного средства Сфагносан при комплексной терапии неспецифической бронхопневмонии телят, утвержденные на научно-техническом совете ФГБОУ ВО КГАВМ и КМ Республики Татарстан;

2. Лекарственное средство Сфагносан рекомендовано использовать в комплексной терапии неспецифической бронхопневмонии телят внутримышечно в дозе 0,2 мл/кг живой массы 1 раз в 24 часа на протяжении 5 дней.

3. Полученные результаты рекомендуется использовать при чтении лекций и проведении практических занятий по ветеринарной фармакологии и токсикологии, по внутренним незаразным болезням сельскохозяйственных животных, а также на курсах повышения квалификации ветеринарных специалистов профильных ВУЗов.

РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

В перспективе раскрываются широкие возможности для исследователя в поиске эффективных и безопасных лекарственных средств ветеринарного назначения из природного сырья. Приведенные в работе методики позволяют получить препараты из растительного сырья и некоторых базидиомицетовых грибов в жидкой лекарственной форме для дозированного использования животным в виде инъекций. В зависимости от намеченной исследователем цели могут быть получены фармакологические средства, как для лечения, так и для профилактики внутренних незаразных болезней.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Новоселов, О.Н. Доклиническая оценка комплексного средства «N-98» на белых мышах / О.Н. Новоселов, Ф.А. Медетханов, И.А. Конакова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2022. – Т. 250. – № 2. – С. 182-185.*

2. Новоселов, О.Н. Изучение параметров хронической токсичности комплексного средства N-98 / О.Н. Новоселов, Ф.А. Медетханов, И.А. Конакова, К.А. Пигузова, А.Н. Халикова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2023. – Т. 255. – № 3. – С. 248-251.*

3. Новоселов, О.Н. Эффективность лечения телят, больных неспецифической бронхопневмонией при использовании комплексного средства Сфагносан / О.Н. Новоселов // Ученые записки Казанской

государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2024. – Т. 259. – № 3. – С.185 -189.*

4. Новоселов, О.Н. Изучение противовоспалительных свойств комплексного средства N-98 на лабораторных животных / О.Н. Новоселов // Сборник научных работ победителей и призеров Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Минсельхоза России. – М.: ФГБНУ «Росинформагротех». – 2023. – С. 75-80.

5. Новоселов, О.Н. Определение параметров острой токсичности и кумулятивных свойств комплексного средства «N-98» на лабораторных животных / О.Н. Новоселов, Ф.А. Медетханов, И.А. Конакова // Сборник статей Международного учебно-исследовательского конкурса (16 мая 2022 г.). В 4-х частях. – Петрозаводск: МЦНП «Новая наука». – 2022. – Ч.2. – С. 151-158.

6. Новоселов, О.Н. Определение параметров острой токсичности отдельных субстратов комплексного средства «N-98» / О.Н. Новоселов, А.С. Мещерякова // Молодежные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК: Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и учащейся молодежи, посвященной памяти академиков М.П. Тушнова и А.З. Равилова. – Казань. – 2022. – Т.1. – С. 96-98.

7. Конакова, И.А. Оценка безопасности комплексного средства «KN-73» на этапе доклинических исследований / И.А. Конакова, Ф.А. Медетханов, О.Н. Новоселов // Сборник научных трудов КНЦЗВ. – 2022 – Т. 11 –№ 1. – С. 229-233.

8. Новоселов, О.Н. Устойчивое развитие ветеринарной фармакологии с токсикологией / О.Н. Новоселов, И.А. Конакова // Сборник статей Международного научно-исследовательского конкурса (9 марта 2022 г.) – Петрозаводск: МЦНП «Новая наука». – 2022. – С. 184-189.

9. Новоселов, О.Н. Комплексное средство «З-88» и его использование в современном животноводстве / О.Н. Новоселов // Сборник статей II Международного учебно-исследовательского конкурса (15 декабря 2021 г.). В 6-ти частях. Часть 4. –Петрозаводск: МЦНП «Новая наука». – 2021. – Ч.4. – С. 330-340.

*– статьи, опубликованные в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.