

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной
медицины имени Н.Э. Баумана»

На правах рукописи

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

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:

Медетханов Фазил Акберович,

д.биол.н., профессор

Казань – 2024

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1 Мох сфагнум и его применение.....	11
1.2 Общая характеристика базидиомицетов.....	15
1.3 Трутовик и его лекарственные свойства.....	18
1.4 Этиология и патогенез неспецифической бронхопневмонии телят	22
1.5 Лечение, применяемое при неспецифической бронхопневмонии телят	28
2 ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	33
2.1 Материал и методы исследований.....	33
2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	40
2.2.1 Способ получения комплексного средства Сфагносан.....	40
2.2.3 Изучение общей токсикологической безопасности комплексного средства Сфагносан на лабораторных животных.....	46
2.2.3.1 Исследование параметров острой токсичности отдельных компонентов Сфагносана	46
2.2.3.2 Исследование параметров острой токсичности Сфагносана на лабораторных мышах.....	52
2.2.3.3 Исследование параметров острой токсичности Сфагносана при пероральном введении.....	54
2.2.3.4 Исследование параметров острой токсичности Сфагносана при парентеральном введении	57
2.2.3.5 Исследование кумулятивных свойств комплексного средства Сфагносан	61
2.2.3.6 Исследование хронической токсичности Сфагносана.....	70
2.2.4.1 Исследование алергизирующих свойств Сфагносана.....	79

2.2.4.2 Исследование местно-раздражающего действия Сфагносана	82
2.2.4.3 Исследование эмбриотоксических и тератогенных свойств Сфагносана.....	85
2.2.5 Экспериментальное обоснование выбора оптимальной дозы Сфагносана.....	91
2.2.6 Исследование противовоспалительных свойств Сфагносана	96
2.2.7 Производственная апробация комплексного средства Сфагносан при неспецифической бронхопневмонии телят	105
3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ	116
ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ.....	121
СПИСОК СОКРАЩЕННЫХ ТЕРМИНОВ	122
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	124
ПРИЛОЖЕНИЯ	146

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Скотоводство, как отрасль сельского хозяйства, занимает одно из ведущих направлений в Российской Федерации [52; 88]. 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, сенсibilизация, резистентность и др. [71]. 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 [105; 106].

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 [57]. И чтобы снизить риск возникновения устойчивой резистентности условно-патогенной и патогенной микрофлоры необходимы 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 [29]. Одним из таких явлений может

являться антибиотикорезистентность [105; 106]. 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, аллергизирующие, 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 новое средство 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 в 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 Сфагносана 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 (Приложение 1);
2. Результатами доклинических исследований и производственной апробации при неспецифической бронхопневмонии телят (Приложение 2);
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» (Приложение 3,4 и 5).

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, аллергизирующими, 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 непосредственно участвовал 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 программных приложений 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.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Мох сфагнум и его применение

Сфагнум – многолетний двудомный мох, образующий дерновинки светло-желтого, бурого цвета. В почве не укреплен, так как ризоиды отсутствуют. Каждая особь – это тонкий ветвящийся стебелёк, нижняя часть которого постоянно отмирает [6]. Благодаря этому свойству сфагнум является почвообразующим компонентом [54]. Листья состоят из клеток двух разных типов: мелких фотосинтезирующих, с цельной оболочкой, и крупных гиалиновых, полых и бесцветных – с разрушенной цитоплазмой и с сохранившейся пористой оболочкой. Через поры в сухих условиях проникает воздух, а при повышенной влажности – вода.

Свойства мха сфагнума:

1) Гигроскопичность – впитывание воды в огромных количествах благодаря гиалиновым клеткам, даже мельчайших капель тумана. Может поглощать воды примерно в 20 раз больше собственной массы. Отсюда и греческое название мха «сфагнос» – губка.

2) Воздухопроницаемость обусловлена также гиалиновыми клетками, через которые в сухую погоду в них проникает воздух [54].

3) Антисептические свойства обеспечиваются веществами: фенолоподобным веществом сфагнолом, антибиотиками (сфагноловые кислоты), кумаринами, тритерпеновыми соединениями и др. [25; 74].

Виды рода *Sphagnum* L. на протяжении многих веков используются в практической медицине России, Америки, Англии, Шотландии, Ирландии, Китая и других стран, чаще всего сфагнум использовали как перевязочное средство и для лечения фурункулеза. Экстракт из *S. fuscum* перспективен в

комплексной терапии раневых и воспалительных процессов, ожоговых поражений кожи, инфицированных ран [8].

Согласно сведениям научной литературы по тематике истории медицины о применении мха сфагнома в исторической перспективе в области биологии и медицины данный природный компонент широко применялся в качестве удобрения в растениеводстве, а также как гигроскопичный и антисептический материал для изготовления фабричным способом антисептических повязок для лечения ран в годы Великой Отечественной войны на Челябинском химико-фармацевтическом заводе с 1942 года. Это было связано с острым дефицитом медикаментов и перевязочных средств [43].

Сфагнум применяется в качестве лекарственного препарата – биогенного стимулятора при ряде воспалительных заболеваний, используется при производстве современных средств гигиены в качестве гигроскопического материала с антисептическими свойствами. Эти свойства продолжают активно изучаться и в наши дни для создания новых перевязочных материалов [72;74].

Мох сфагнум (*Sphagnum*) — это особый вид мха, который часто встречается в болотах и сырых местах. Химический состав мха сфагнома может варьироваться в зависимости от условий среды, но обычно он содержит примерно 90% воды и 10% сухого вещества.

Мох сфагнум, помимо своего экологического значения и использования в садоводстве, также обладает некоторыми потенциальными фармакологическими свойствами. Однако исследования в этой области остаются ограниченными, и более глубокие исследования могут быть необходимы для полного понимания его потенциальных медицинских применений. Вот несколько известных фармакологических свойств мха сфагнома:

Антимикробные свойства. Некоторые исследования показали, что экстракты из мха сфагнома обладают антимикробной активностью против

различных бактерий и грибков. Это свойство может быть полезным в разработке новых антимикробных препаратов.

Противовоспалительные свойства. Имеются данные о том, что некоторые компоненты мха сфагнома обладают противовоспалительным действием. Это может быть полезным в лечении воспалительных заболеваний.

Противоаллергические свойства. Некоторые исследования указывают на потенциал мха сфагнома в снижении симптомов аллергии благодаря его антигистаминным свойствам.

Ранозаживляющие свойства. Исследования также показали, что мох сфагнум может способствовать заживлению ран и ускорению процесса регенерации тканей.

Антиоксидантные свойства. Некоторые компоненты мха сфагнома обладают антиоксидантной активностью, что может быть полезным для борьбы с окислительным стрессом и предотвращения связанных с ним заболеваний.

Мох сфагнум содержит ряд компонентов, которые могут обеспечивать противовоспалительные, антимикробные, антиоксидантные свойства. Вот некоторые из них [9]:

Флавоноиды. Это класс растительных соединений, которые обладают антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. Некоторые виды мха сфагнум могут содержать различные флавоноиды, такие как кверцетин, рутиносид и кемферол, которые могут помочь снизить воспаление, подавить рост микробов и грибков.

Фенольные соединения. Фенольные соединения, такие как эллаговая и галловая кислоты, диоксанлигнин, тараксерол являются еще одним классом биологически активных веществ, которые могут обладать противовоспалительными свойствами, проявлять антимикробную активность.

Гуминовые кислоты. Гуминовые кислоты, присутствующие в мхе сфагнома, могут также иметь противовоспалительные свойства. Эти кислоты

известны своей способностью улучшать заживление ран и обладать антиоксидантными свойствами, а также уничтожать или ингибировать рост микроорганизмов

Полифенолы. Мхи, включая сфагнум, могут содержать различные полифенольные соединения, такие как катехины и танины, которые обладают противовоспалительными и антиоксидантными свойствами.

Лигнин и целлюлоза. Некоторые исследования показывают, что компоненты клеточных стенок мха, такие как лигнин и целлюлоза, также могут иметь антимикробные свойства.

Кислоты. Кроме того, другие органические соединения, такие как органические кислоты, могут также способствовать антимикробной активности мха сфагнума.

Ферменты: аскорбиноксидаза, полифенолоксидаза, пероксидоксидаза, каталаза, лакказы, инвертаза, нитроредуктаза.

Высшие жирные кислоты: миристиновая, пальмитиновая, стеариновая, олеиновая, линолевая, арахидоновая, тимнодоновая.

Карбоновые кислоты: щавелевая, янтарная, яблочная, сфагновая и т.д.

Ароматические альдегиды: параоксибензальдегид, ванилин, сиреневый альдегид и т.д.

Эти компоненты в разной степени могут способствовать снижению воспаления, подавлению роста микроорганизмов. Так, например, в работе ученых [38] с помощью экспресс-метода была получена положительная антимикробная реакция в отношении 4-х культур: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Candida albicans*. При этом в работе авторов [77] наибольшей чувствительностью к экстракту мха сфагнума обладают *S.aureus* и *C.albicans*.

Помимо этого, химические компоненты сфагнового мха способны проявлять антиоксидантную активность, а также усиливать действие друг

друга, однако точные механизмы их действия и взаимодействия требуют дальнейших исследований.

1.2 Общая характеристика базидиомицетов

Базидиомицеты, одним из представителей которых является трутовик окаймленный (*Fomitopsis pinicola*), представлены высшими грибами с многоклеточным эпителием. На сегодняшний день в области прикладных наук к данным грибам испытывается большой интерес, поскольку на основании их плодовых тел и культуральной жидкости создаются новые лекарственные препараты, имеющие высокие перспективы применения в различных областях науки, в том числе и ветеринарной медицине. Подтверждением этого служат научные эксперименты по высшим грибам [14].

Терапевтическая эффективность лекарственных препаратов на основе базидиомицетов и их метаболитов может быть обеспечена за счет терпеноидов, полисахаридов и иммуномодулирующих протеинов [10; 11; 13; 16]. В научных трудах ученых [11; 17; 148] установлено, что полисахариды базидиомицетов обладают антимикробной, противовоспалительной, антиоксидантной, гипогликемической активностью, а также гепатопротективным и ранозаживляющим действием.

Наиболее изучено биологическое действие трех полисахаридных препаратов на основе базидиомицетов и их метаболитов, обладающих противоопухолевой активностью: лентинана, крестина и шизофиллана. Так, например, лентинан в сочетании с другими фармацевтическими препаратами назначают при лечении злокачественных новообразований кишечника, желудка, печени и легких. Экспериментально установлено, что лентинан подавляет химически вызванный онкогенез и предотвращает метастазирование [85]. В свою очередь шизофиллан, выделенный из гриба *Sch. Commune*,

индуцирует разрушение опухолевых клеток за счет повышенного синтеза клеток иммунной системы, а также за счет блокировки кровеносной системы опухоли, что обуславливает цитостатический эффект [131; 138; 154].

Полисахариды, экстрагированные из *Pleurotus citrinopileatus*, избирательно действуют на ДНК раковых клеток, связываясь с цитоскелетом белком тубулином, результатом чего является повреждение микротубулярного аппарата и угнетение метафазы митоза опухолевой клетки [134].

В научной литературе имеются сведения и о других полисахаридных препаратах, полученных из базидиомицетов, обладающих противоопухолевой активностью. Из *Pleurotus ostreatus* получены полисахариды, стимулирующие функциональную активность мононуклеаров, ингибирующих рост различных злокачественных новообразований [128; 134; 159]. А полисахариды, изолированные из мицелия *Ganoderma lucidum*, стимулирует иммунную систему за счет уникального сочетания в них арабиноглюканов, β -глюканов и эргостеринов [20; 125].

Благодаря глюкан-протеиновому комплексу, выделенному из плодовых тел *Flammulina velutipes*, обеспечивается противоопухолевое действие путем активации клеток иммунной системы [161].

Установлено, что гепатопротекторная эффективность лекарственных препаратов на основании базидиомицетов обеспечивается за счет полисахаридов, активирующих биотрансформацию токсичных продуктов, а также стимулирующих процессы биосинтеза в тканях печени [27; 33].

У бета-глюкозав, экстрагированных из *Ganoderma lucidum* [14], *Grifola frondosa* и *Trametes versicolor* [134], отмечается гипогликемическое и антидиабетическое свойство. Механизм такого действия обеспечивается за счет формирования в тонком отделе кишечника желатинообразного слоя, препятствующего адсорбции углеводов энтероцитами, а также за счет образования в толстом отделе кишечника короткоцепочечных кислот

(масляной, пропионовой и уксусной), которые усиливают экспрессию инсулинозависимого белка-переносчика GLUT-4 в жировой и мышечной ткани. В результате распада таких бета-глюканов снижается поступление глюкозы в клетки и поддержания ее уровня в них [27].

В химический состав базидиомицетов также входят хитин и хитаноза, являющиеся структурными элементами их клеточных стенок. Они представляют собой матрикс, который способствуют росту фибробластов, что влечет за собой грануляцию тканей и активное отложение коллагена. За счет такого механизма действия обеспечиваются ранозаживляющие свойства высших грибов [33; 113].

Благодаря содержанию фенольных соединений, полиацетиленов, кориолина, муцидина и клитоцидина базидиальные грибы обладает антибиотической активностью в отношении различных микроорганизмов. Так например, при дерматомикозах применяются препараты на основании муцидина [10; 31]. Однако во многих случаях биохимические механизмы этой терапевтической активности все еще остаются в значительной степени неизвестными [3; 131]. Многие лекарственные препараты, полученные из грибов и их метаболитов, все еще находятся на стадии разработки [10; 117; 134].

Одним из перспективных направлений прикладного использования высших грибов является их применение в перерабатывающей промышленности. Установлено, что базидиомицеты способны выступать в качестве биологических агентов при утилизации промышленных отходов [114; 115; 116]. Они способны продуцировать экстрацеллюлярные ферменты, полифункциональные пероксидазы, Mn-пероксидазы, лигнинпероксидазы и лакказы, имеющие широкую субстратную специфичность [18; 83]. Механизмы разложения различных ксенобиотиков базидиомицетами изучены на достаточном уровне, а применение этих грибов в качестве биологических

агентов для переработки и утилизации техногенных образований и отходов имеет отражение в научных обзорах [143; 156].

Помимо этого базидиальные грибы являются источником протеолитических ферментов, например, молокоствертывающих протеиназ. Преимуществом здесь выступает отсутствие контаминации бактериальными культурами грибных ферментных препаратов [83].

Обнаружено, что *Fomitopsis pinicola* также могут быть источником протеаз [30; 94; 136]. Предположительно, перспективными грибами являются *Antrodia mollis* и *Flammulina velutipes* [32]. Молокоствертывающий препарат, полученный из *Coprinus lagopides*, был предложен к применению в сыроделии [124], из экстрактов плодовых тел *Pleurotus ostreatus* - при производстве сыров с плесенью [34; 44; 85; 140, 145; 150].

1.3 Трутовик и его лекарственные свойства

Трутовик берёзовый (*Piptoporus betulinus*) — это гриб, известный с древних времён благодаря своим целебным свойствам, которые широко использовались в народной медицине. Его применение восходит к более чем 5000 лет назад. В разных культурах этот гриб находил своё место в лечении множества недугов. Например, в Чехии его применяли для борьбы с раком прямой кишки и болезнями желудка, а в Сибири и Северной Америке трутовик был известен как антисептик и обезболивающее средство. Также он использовался как противопаразитарное, противомикробное и кровоостанавливающее средство [111; 132].

Плодовые тела трутовика содержат разнообразные биологически активные вещества, включая стероиды (эргостерол, перекись эргостерола, холекальциферол), тритерпеновые кислоты (полипореновые кислоты Аи С, (25S)-(+)-12 α -гидрокси-3 α -малонилокси-24-метилланоста-8,24(31)-диен-26-овая

кислота), тритерпеноиды (бетулиновая кислота, бетулин), полисахариды, фенольные кислоты (сирингиновая, 3,4-дигидрофенилуксусная), индольные соединения (L-триптофан, 5-гидрокси-L-триптофан, 5-метилтриптамин), жирные кислоты (насыщенные: каприновая кислота, лауриновая кислота, миристиновая кислота, пентадекановая кислота, пальмитиновая кислота, стеариновая кислота; ненасыщенные: миристолеиновая кислота, пальмитолеиновая кислота, олеиновая кислота, линолевая кислота), а также антибиотики, такие как пиптамин. Эти вещества наделяют гриб мощными лечебными свойствами [111].

Современные научные исследования подтвердили его широкий фармакологический потенциал, включая антибактериальные, противопаразитарные, противовирусные, противовоспалительные, противоопухолевые и иммуномодулирующие эффекты.

Трутовик окаймленный

Трутовые грибы представляют большой интерес, поскольку из них получают экстракты, обладающие высокой терапевтической значимостью при сердечно-сосудистых, желудочно-кишечных, онкологических заболеваниях [41; 118; 146]. Терапевтический эффект трутовых грибов определяется благодаря содержанию в них различных органических соединений, обеспечивающих антиокислительные, иммуномодулирующие, радио- и фотопротекторные и др. свойства [132].

В области ветеринарной и гуманной медицины перспективным направлением исследований являются разработки лекарственных препаратов на основании трутовика окаймленного (*Fomitopsis pinicola*). Эффективность таких препаратов может быть обеспечена с помощью хромогенных комплексов (меланинов), окрашенных в темно-коричневый цвет [70].

Состав плодового тела *F. pinicola* детально проанализирован в работах [123, 160]. В плодовом теле гриба больше всего содержится клетчатки – 43,3%,

количество остальных углеводов – 26,3%, белка – 12,8%, влаги – 12,6%, жиров – 3,3%; обнаружено 18 аминокислот, среди них наибольшее содержание глутамата 457 мг/100 г (сухой массы), затем следовали аргинин, глицин, валин, аспарат и изолейцин. Среди витаминов и витаминоподобных веществ обнаружены витамины группы В биотин (витамин Н) и витамин Е в количестве 276 мг/100 г (сухой массы). Содержание минералов: калия – 165.06 мг, фосфора – 77.57 мг, магния – 46.11 мг, железа – 21.56 мг, кальция – 16.90 мг на 100 г сухой массы грибов [123]. При этом научный и практический интерес представляют вторичные метаболиты трутовика окаймлённого обладающие биологической активностью, к ним в первую очередь относят терпеноиды [158], цереброзиды [153] и пигменты [95], которые относят к меланинам. Современные исследования грибов рода *Fomitopsis* выявили в составе вторичных метаболитов хлорированные кумарины, стероиды, фенолы, поликетиды [162].

Фенольные соединения, согласно мнению большинства ученых, играют ключевую роль в формировании антиоксидантных свойств как плодовых тел грибов, так и их экстрактов, поскольку они являются важными компонентами пигментов меланинов. В исследовании [142] представлена актуальная информация о физических и химических характеристиках наиболее распространенного типа меланина — эумеланина. Современные данные указывают на то, что этот пигмент является гетерогенной макромолекулой, состоящей из мономеров 5,6-дигидроксииндола и его производной — 5,6-дигидроксииндол-2-карбоновой кислоты. В более недавних работах меланин описывается как многослойный олигомер [142].

Молекулы меланина обладают значительным количеством полярных функциональных групп, таких как карбонильные (в среднем 6,50%), метоксильные (5,81%) и карбоксильные (4,5%) [70; 108]. Эти группы, благодаря своим свойствам комплексообразования и наличию неспаренных электронов,

могут связывать различные минеральные элементы, включая ионы металлов. В ряде исследований [112; 120] приводятся данные о способности трутовых грибов накапливать тяжелые металлы в своих плодовых телах. При мягких условиях экстракции водных растворов были обнаружены органические кислоты, такие как щавелевая и уксусная, а также некоторые фенольные соединения [91]. Более жесткие условия гидролиза с использованием щелочей способствуют выделению значительного количества меланинов, которые демонстрируют высокую антиоксидантную активность. Согласно данным работы [92], увеличение концентрации меланинов в образцах, а также возрастание аморфной фазы пигмента коррелируют с усилением антиоксидантных свойств экстрактов. Таким образом, структура и плотность "упаковки" меланинов непосредственно влияют на выраженность их антиокислительных характеристик.

Для получения биологически активных веществ из трутовых грибов чаще всего используется метод экстракции, который сопровождается разнообразными методическими подходами для повышения выхода ценных компонентов. Например, в литературе описан способ выделения терпеноидов из гриба *F. pinicola* с помощью экстракции этанолом [155], тогда как для извлечения стероидных соединений применялись н-гексан и метанол [149], а также проводилась повторная экстракция органическими растворителями после водной экстракции [91].

Обычно органические растворители оказываются более эффективными для извлечения биологически активных веществ, чем вода. Экстракты, полученные с их помощью, демонстрируют более выраженные антиокислительные свойства. Так, в эксперименте с раковыми клетками [120] этанольный экстракт *F. pinicola* оказался втрое эффективнее, чем экстракты, полученные с использованием горячей воды. Однако в исследовании [112] было выявлено исключение: водный экстракт содержал на 20,06% больше

фенольных соединений по сравнению с метанольным, хотя авторы отмечают, что их результаты отличаются от большинства существующих данных

Более высокие антиокислительные свойства органических экстрактов по сравнению с водными объясняются низкой растворимостью фенольных и терпеновых соединений в воде и их лучшей растворимостью в органических растворителях с низкой полярностью. Широкое использование водных экстрактов в научных исследованиях обусловлено безопасностью воды как растворителя для человека, что позволяет рассматривать такие экстракты в качестве потенциальных компонентов для производства биологически активных добавок (БАД) [24].

1.4 Этиология и патогенез неспецифической бронхопневмонии телят

Неспецифическая бронхопневмония – болезнь, проявляющаяся воспалением бронхов и альвеол с дальнейшим образованием катарального экссудата, заполняющего данные структуры. Неспецифическая бронхопневмония в основном затрагивает молодняк крупного рогатого скота. Патологические изменения носят очаговый характер, поражая в первую очередь бронхи и дольки легкого. В дальнейшем воспаление может распространиться на несколько долек, сегментов и даже доли легких, что классифицирует болезнь как мелкоочаговую, крупноочаговую или сливную пневмонию.

Неспецифическая бронхопневмония широко распространена среди животных различных видов и в разных климатических зонах, особенно среди молодняка в периодах отъема, доращивания и откорма. В крупных животноводческих хозяйствах и промышленных комплексах, особенно при нарушении ветеринарно-санитарных правил, заболевание может приобретать

массовый характер, уровень заболеваемости при этом может достигать 30–50% [22].

Основным предрасполагающим фактором возникновения неспецифической бронхопневмонии является снижение устойчивости организма к неблагоприятным условиям внешней среды, вызванное нарушением технологий содержания и кормления животных [61; 63; 96]. Молодняк более выражено реагирует на изменения качества и количества воздуха, а также на другие микроклиматические условия, что связано с незрелостью его защитных механизмов. При нарушении условий содержания, таких как понижение температуры, увеличение относительной влажности воздуха и концентрации вредных газов, наблюдается изменение иммуноглобулинового профиля у клинически здоровых телят [26; 64].

Формирование бронхопневмонии тесно связано с функциональным состоянием защитных механизмов бронхиального дерева и легочной ткани, что обусловлено воздействием бактериальных или вирусных патогенов в сочетании с факторами, ослабляющими иммунный ответ организма [79; 125; 127; 151; 152].

Основной путь проникновения микроорганизмов в легкие — микроаспирация секрета ротоглотки, которая происходит физиологически у всех здоровых организмов во время сна. Однако, благодаря защитным механизмам, таким как кашлевой рефлекс, мукоцилиарный клиренс, фагоцитарная активность альвеолярных макрофагов и секреция иммуноглобулинов, инфицированный секрет быстро элиминируется из нижних дыхательных путей, поддерживая их стерильность. Реже встречается ингаляция аэрозолей, содержащих патогены, что преимущественно происходит при инфицировании "атипичными" микроорганизмами, такими как *Legionella pneumophila*, *Chlamydophila pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae* [121].

Гематогенный путь распространения инфекционных агентов из внелегочных очагов, а также прямое проникновение бактерий из соседних поврежденных тканей встречаются редко. В этих случаях в роли этиологических агентов могут выступать *Staphylococcus spp.*, грамотрицательные бактерии и анаэробные микроорганизмы [130].

Причинами возникновения аспирационной пневмонии также могут служить попадание инородных частиц или кормовых масс в альвеолярные пространства, что зачастую ведёт к развитию специфического катарального воспаления лёгких, именуемого аспирационной пневмонией. Данное заболевание может развиваться и как осложнение воспалительных процессов органов дыхания животных, например, при ларинготрахеите [57].

Преодолевая защитные барьеры лёгочной ткани, патогены достигают непосредственно альвеол или оседают в терминальных отделах бронхов, где начинают активно размножаться, инициируя локализованный воспалительный ответ [1].

Влияние микроорганизмов приводит к воспалению бронхов, бронхиол и связанных с ними альвеол, сопровождающемуся накоплением экссудата и других компонентов патологического процесса. Это вызывает как локальные нарушения в функции лёгких, так и значительные изменения в работе нервной и сердечно-сосудистой систем, а также других органов, характер которых определяется стадией воспаления и его тяжестью [35; 45; 119; 133].

На ранних стадиях острого воспаления легочной ткани фиксируется повышение концентрации биологически активных веществ, таких как катехоламинов, гистамина, серотонина, ацетилхолина и кининов, в тканях поражённого органа. Это сопровождается усилением активности катаболических ферментов и развитием диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови в системе лёгочной циркуляции. Нарушение крово- и лимфотока в поражённом участке легких приводит к

кислородному голоданию и дыхательной недостаточности. Альвеолоциты II типа, реагируя на гипоксию, увеличивают поглощение кислорода. В митохондриях наблюдается снижение активности цитохромоксидазы, что коррелирует с уровнем гликозного окисления. Активируются процессы гликолиза и гликогенолиза, что приводит к двукратному увеличению концентрации молочной кислоты и глюкозы, при этом уровень гликогена снижается в шесть раз [57].

Увеличение продукции лактата в легочной ткани при условиях гипоксии обусловлено не только усилением окисления глюкозы, но и ускоренным катаболизмом аминокислот. Кроме того, при гипоксических условиях снижается утилизация свободных жирных кислот и их превращение в триглицериды, фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин. В результате жирные кислоты накапливаются в легочной ткани, однако их окисление уменьшается, что приводит к снижению поверхностной активности сурфактанта [94].

В патогенезе многих заболеваний бронхолегочной системы нарушение мукоцилиарного клиренса бронхов играет ключевую роль, затрагивая их секреторные, очистительные и защитные функции. Эффективность мукоцилиарного транспорта, критически важного для нормального функционирования воздухоносных путей, зависит от координированной работы реснитчатого эпителия и характеристик бронхиального секрета. Под воздействием различных факторов риска происходит нарушение движения ресничек вплоть до их полной остановки, метаплазия эпителия с утратой реснитчатых клеток и увеличение числа бокаловидных клеток. Состав бронхиального секрета изменяется: фаза золя уменьшается, заменяясь фазой геля, что затрудняет движение ресничек и приводит к блокаде мелких воздухоносных путей. Вдобавок, снижается уровень секреторного иммуноглобулина А и неспецифических компонентов местного иммунитета,

таких как интерферон, лактоферин и лизоцим, что способствует колонизации микроорганизмов [57; 104; 133].

Далее экссудат заполняет альвеолярные пространства, вызывая накопление фибрина и воспалительных клеток в легочной ткани. Воспаление распространяется от одной альвеолы к другой через межальвеолярные щели, охватывая весь ацинус. Это приводит к образованию волокнистой соединительной ткани, разрушению кровеносных капилляров и их замещению, что создает гипоксические условия в пораженных участках легких. В результате усиливается пролиферация фибробластов, выработка коллагена, неколлагеновых белков и гликозаминогликанов, формируются фибриллы, что ведет к дальнейшему нарушению структуры альвеолярной стенки. Просветы альвеол либо сужаются, либо находятся в спавшемся состоянии [92].

Современные исследования указывают на активацию свободнорадикального окисления (СРО) как основной патологический фактор в ряде заболеваний, сопровождающихся нарушением биологических барьеров клеточных мембран [21; 89; 135].

Процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) представляет собой цепную реакцию свободных радикалов, в ходе которой образуются активные формы кислорода (АФК), такие как синглетный кислород, супероксид-анион, пероксид водорода и гидроксидный радикал. В нормальных условиях свободнорадикальные реакции контролируются и поддерживают метаболические процессы, включая управление проницаемостью клеточных мембран, синтез простагландинов, биоэнергетические процессы, окисление ксенобиотиков, защиту от бактерий, клеточное размножение и апоптоз [21].

Однако длительная активация ПОЛ может привести к нарушению ресинтеза аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ), повышению проницаемости мембран для протонов и воды, ингибированию активности мембраносвязанных ферментов, образованию «пор» в клеточных структурах и, в конечном итоге, к

гибели клеток [21; 92; 141]. Антиоксидантная защита (АОЗ) играет ключевую роль в поддержании безопасного уровня свободных радикалов. Эта система включает антиоксидантные ферменты, такие как супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, а также внеклеточные антиоксиданты, такие как аскорбат, α -токоферол, витамин К, метионин, цистеин, β -каротин, ферритин и церулоплазмин. Эти компоненты препятствуют накоплению избытка АФК и блокируют цепные реакции [122; 147].

Легкие, являясь крупнейшей биологической мембраной, постоянно контактируют с кислородом, что создает условия для активных окислительных процессов. Здесь высокая концентрация ненасыщенных жирных кислот, катализаторы окисления (Fe^{2+} в гемоглобине) и альвеолярные макрофаги, которые производят АФК в процессе фагоцитоза. Эти процессы и формирование аэрогематического барьера легких зависят от структуры фосфолипидов и липопротеидов [21; 92; 139].

В литературе существует ограниченное количество данных о ПОЛ и АОЗ при бронхопневмонии у животных. Например, у телят с острой бронхопневмонией наблюдается повышение уровня оснований Шиффа и диеновых конъюгатов в плазме, а также снижение общей антиоксидантной активности. В сыворотке крови увеличивается активность каталазы и пероксидазы, но наблюдается значительное снижение активности глутатионпероксидазы. Разбалансировка окислительных и антиокислительных процессов способствует патогенезу бронхопневмонии [59].

Микроорганизмы выделяют токсины, которые, вместе с продуктами тканевого распада и избыточными продуктами ПОЛ, нарушают гомеостаз и вызывают эндогенную интоксикацию. Уровень эндогенной интоксикации можно оценить по спектрам поглощения плазмы крови в УФ-области и видимой части спектра [57].

Также важным патогенетическим фактором является усиление нитросидермических процессов. Оксид азота, вырабатываемый NO-синтазой в макрофагах и лейкоцитах, образует токсичные продукты при гидролизе в присутствии кислорода и воды. Содержание метаболитов оксида азота в сыворотке крови и моче телят зависит от степени тяжести и формы бронхопневмонии [86; 99].

Среднемолекулярные пептиды (СМП), которые образуются при неконтролируемом протеолизе, также играют значительную роль. Эти пептиды обладают высокой биологической активностью, могут ингибировать важные метаболические процессы, такие как гликолиз и эритропоэз, нарушать тканевое дыхание, мембранный транспорт и микроциркуляцию, а также проявлять иммунодепрессивные и цитотоксические свойства. Даже небольшое увеличение содержания СМП может серьезно повлиять на состояние организма и его клиническое состояние [5; 40; 89]. Информация о содержании СМП в крови телят с бронхопневмонией в литературе недостаточно освещена.

Таким образом, при бронхопневмонии у животных наблюдаются кислородная недостаточность, нарушение обмена веществ и накопление продуктов перекисного окисления, что ведет к функциональным расстройствам и дезорганизации работы жизненно важных органов. Характеристика функционального состояния эритроцитов, уровень ПОЛ и АОЗ, а также содержание СМП в эритроцитах и плазме телят имеют важное значение для оценки состояния животного и прогнозирования исхода заболевания [57].

1.5 Лечение, применяемое при неспецифической бронхопневмонии телят

В Российской Федерации ввиду широкой распространенности неспецифической бронхопневмонии на животноводческих фермах, чаще всего

поражающей молодняк крупного рогатого скота, большое внимание уделяется совершенствованию терапии данной патологии.

В основную схему лечения неспецифической бронхопневмонии телят входят антибиотики различных групп: пенициллинового [4; 12], цефалоспоринового [109], тетрациклинового ряда [50], аминогликозиды, фторхинолоны [49], макролиды [75] и группы фениколов [86], – главная задача которых подавить рост и репродукцию грамположительных и грамотрицательных бактерий, в том числе *Pasteurella Mycoplasma*. Но подход к применению антибактериальных препаратов должен быть пересмотрен ввиду явно выраженных побочных явлений. При несоблюдении фармакологических принципов их дозирования, нерациональном применении, неучете тяжести заболевания возрастает устойчивость патогенов к ним, что может привести к возникновению микроба-лидера, селекцией и размножением полирезистентной микрофлоры и прогрессированию воспалительных процессов с захватом новых очагов в легких [2]. Помимо этого, применение антибиотиков или их комбинации сопровождается развитием токсических реакций на органы и ткани (гепатотоксические, нейротоксические и др.) [106], угнетением гуморального и клеточного иммунитета: например, исследованиями А.В. Мифтахутдинова (2007) доказано, что ципрофлоксацин оказывает угнетающее влияние на клеточные и гуморальные факторы неспецифической резистентности животных. Длительное применение антибиотиков приводит к угнетению деятельности микрофлоры желудочно-кишечного тракта, синтезирующей витамины группы В [23].

Поскольку при неспецифической бронхопневмонии телят без применения антибактериальных препаратов невозможно подавить патогенную и условно-патогенную микрофлору, основной путь решения проблем, возникающих при антибиотикотерапии, – это разработка и внедрение новых лекарственных средств на основе природного сырья, обладающего антибактериальной

активностью, способных преодолеть механизмы резистентности микроорганизмов. А также совершенствование режимов дозирования и комбинации уже существующих антибиотиков.

Для достижения высокой терапевтической эффективности при лечении неспецифической бронхопневмонии исключительно антибиотикотерапии оказывается недостаточно. Это связано с необходимостью комплексного воздействия на организм, направленного на стимуляцию его защитных и адаптационных механизмов. Важным аспектом является нормализация нарушенных метаболических процессов и активация неспецифических факторов иммунной защиты, что способствует более успешной борьбе с инфекцией. Кроме того, важным фактором в терапии являются зоогигиенические условия и обеспечение полнорационного кормления. Согласно исследованиям [96], комбинированное использование антибактериальных препаратов с витаминами и микроэлементами (например, тривитамин, тетравит, эндовит, витамины группы В) значительно увеличивает эффективность лечения.

Применение нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) оказывает важное значение в снятии болевого синдрома, уменьшении воспалительных процессов, таких как отек и инфильтрация тканей, что связано с активацией эффекторных Т-клеток, секретирующих противовоспалительные цитокины [57].

Этиопатогенез неспецифической бронхопневмонии часто обусловлен недостаточной зрелостью или нарушениями функционирования иммунной системы [60; 61]. В связи с этим, интерес к использованию иммуномодулирующих препаратов в ветеринарной практике постоянно растет. Исследования показали, что применение ронколейкина, эндогенного иммуномодулятора из группы цитокинов, способствует значительному повышению активности факторов неспецифической резистентности в

сыворотке крови, увеличивая этот показатель в 1,5–2 раза, а также стимулирует выработку иммуноглобулинов [107]. Иммуномодулирующий эффект также наблюдается при использовании экстрактов лекарственных растений (например, элеутерококка, мать-и-мачехи, женьшеня, эхинацеи), а также фосфорилированных полипренолов хвой (фоспренила) и гуминовых кислот растительного происхождения (биостим, лигастим, лигфол) [57]. Среди этих препаратов, фоспренил и биостим нашли широкое применение в лечении бронхопневмонии у животных [65; 129].

Ввиду активной разработки лекарственных средств на основе растительного и другого природного сырья их все больше включают в основную схему лечения телят, у которых клинически зарегистрирована неспецифическая бронхопневмония. Так в работе российских ученых морфологическими, биохимическими и иммунологическими исследованиями крови установлено, что применение антибактериальных и витаминных препаратов в сочетании с бентонитовой глиной в качестве минеральной подкормки иммуномодулятором «Азоксивет» при острой катаральной бронхопневмонии способствует повышению неспецифической резистентности организма теляти ускоряет сроки их выздоровление на 3 суток [97]. В трудах авторов [102] показана высокая антимикробная активность отвара из солодки, полевого хвоща и медуницы в отношении возбудителей легочной инфекции *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis* и *Pneumococci* методом диффузии с бумажного диска на мясо-пептонном агаре.

Патологии органов дыхания часто встречаются у телят-гипотрофиков. В работе ученых показано, что лекарственный препарат «Нормотрафин» на основе растительных компонентов способствует нормализации показателей клинико-гематологического и биохимического статуса организма телят с сопутствующей патологией органов дыхания, предотвращает разрушение

эритроцитов [47], обеспечивает выздоровление, а также увеличивает темпы роста молодняка [76].

Экспериментально установлено, что лекарственное средство, разработанное на основе тысячелистника обыкновенного, тополя черного и раствора Бефунгина, имеет выраженную эффективность при комплексном лечении воспалительной патологии нижних дыхательных путей у телят [48; 110].

Таким образом, в лечении неспецифической бронхопневмонии все чаще используются новые лекарственные средства на основе продуктов природного происхождения. Это в свою очередь определяет перспективность их дальнейшего применения в ветеринарной медицине.

2 ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Материал 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.

Фармако-токсикологические свойства комплексного средства Сфагносан оценивались по общепринятым методикам (фармакологическим, токсикологическим, клиническим, гематологическим, патолого-анатомическим).

Экспериментальная часть научно-исследовательской работы выполнена в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая» (2012) [53] и Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 708н от 23.08.2010) [81]. Опыты на животных в

научных целях были осуществлены согласно правилам Европейской Конвенции по защите позвоночных животных [126].

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 согласно методическим работам ученых по получению лекарственных средств [78]. 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 [42; 51] и учебно-методическим пособиям [7], практикуму [102].

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 [100]. Далее были проведены клинические исследования на телятах, больных неспецифической бронхопневмонией.

Острую токсичность определяли в соответствии «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [53]. Для отнесения Сфагносана к классу опасности использовали ГОСТ 12.1.007 - 76 [28].

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 внутривенно 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 лабораторных крыс осуществляли отбор крови для исследований методом декапитации после применения легкого эфирного наркоза. Морфологический состав крови изучали согласно общепринятым методикам [80] в лаборатории кафедры фармакологии, токсикологии и радиобиологии, а показатели биохимического состава сыворотки 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 [100], 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 [157]. 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 [53; 93; 100]. 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, 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 для нелинейных белых крыс. С этой целью в опытах использовался молодняк лабораторных крыс, из которых были сформированы 3 опытные и 1

контрольная группы, 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 клинические испытания комплексного средства Сфагносан на телятах 3-х месячного возраста, у которых путем клинического осмотра и анализа морфологического состава крови была выявлена 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 комплексного средства Сфагносан

При получении комплексного средства Сфагносан использовались *Sphagnum* и *Fomitopsis pinicola*, собранные в летне-осенний период. При этом мох сфагнум собирался близ болот в лесах Звениговского района Республики Татарстан, а трутовик окаймленный – с крон деревьев в Высокогорском районе Республики Татарстан. Полученное сырье подготавливали к процессу получения пиролизатов. 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 [78] получали жидкую лекарственную форму для парентерального введения.



Рисунок 1 – *Sphagnum*



Рисунок 2 – *Fomitopsis pinicola*

2.2.2 Качественные реакции на определение основных групп биологически активных веществ Сфагносана

Качественная реакция на определение флаваноиды и их производных. Одним из основных химических компонентов выбранного природного сырья является группа флаваноидов и их производных, для обнаружения которых была проведена цианидодовая реакция или реакция Синода [51]. Для этого жидкую смесь, представляющую из себя продукты пиролиза мха сфагнома и трутовика окаймленного, фильтруют, наливают в три пробирки по 1 мл. В первую пробирку добавляют порошок магния, во вторую – цинка, третья служит контролем. Затем в каждую пробирку вносят концентрированную хлористоводородную кислоту в объеме 5 капель и пробирки размещают в водяной бане на 10 мин. Образование оранжевого, розового или красного окрашивания указывает на содержание в полученном фильтрате флаваноидов и их производных групп (флаваноны, флавоны), восстанавливаемых магнием или цинком в присутствии хлористоводородной кислоты.

В данном случае была получена положительная реакция на флаваноиды и их производные в первой и во второй пробирках, характеризующаяся образованием красного и оранжевого окрашивания фильтрата (рис. 3).

Дополнительно была проведена реакция с аммиаком. К 1 мл полученного фильтрата добавили 5 капель аммиака, произвели нагревание в водяной бане, в результате чего образовалось красное окрашивание, что также говорит о положительной качественной реакции на флаваноиды и их производные.



Рисунок 3 – качественная реакция на флаваноиды и их производные

2. Качественная реакция на определение фенольных соединений. С целью определения фенольных соединений в комплексном средстве Сфагносан использовалась реакция с хлоридом железа [7]: 1-2 капли Сфагносана, помещенного на фарфоровую чашку, смешивали 1 к 1 со свежеприготовленным 5 %-ым раствором хлорида железа (III), в результате чего образовывалась фиолетовая (сине-фиолетовая) окраска (рис. 4).



Рисунок 4 – качественная реакция на фенольные соединения
(слева – контроль, справа – качественная реакция)

3. Качественная реакция на определение дубильных веществ. В данном случае к 2 мл Сфагносана прибавляли несколько кристаллов нитрата натрия и 2 капли 0,1 н HCl [102]. Результатом реакции являлось насыщение раствора темно-коричневым цветом (рис. 5).

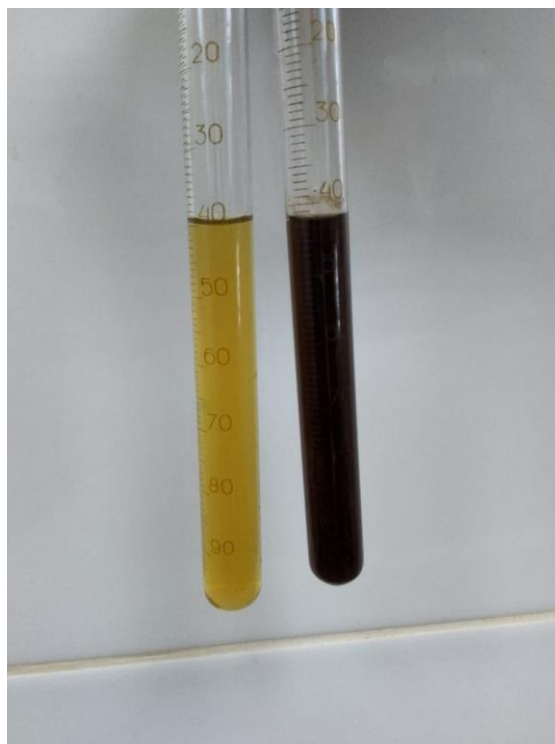


Рисунок 5 – качественная реакция на дубильные вещества
(слева – контроль, справа – качественная реакция)

4. Качественная реакция на определение тритерпеновых сапонинов.

Для осуществления данной реакции комплексное средство Сфагносан, смешанное с 10 мл 0,9%NaCl, помещается в водяную баню на 10 минут. С помощью бумажного фильтра получают фильтрат, к 2 мл которого добавляют 1 кристалл ацетата свинца [42]. Положительной реакцией служит образование осадка (рис. 6).



Рисунок 6 – качественная реакция на тритерпеновые сапонины

2.2.3 Изучение общей токсикологической безопасности комплексного средства Сфагносан на лабораторных животных

2.2.3.1 Исследование параметров острой токсичности отдельных компонентов Сфагносана

Поскольку Сфагносан представляет из себя комплексное лекарственное средство, в составе которого мох сфагнум и гриб трутовик окаймленный, было проведено исследование острой токсичности каждого отдельного компонента.

Изучение параметров острой токсичности производили на лабораторных крысах с установленной живой массой 190-230 грамм путем интрагастрального и внутримышечного способов введения. Лабораторные животные, прежде

выдержанные в стандартных условиях карантина на протяжении 14 суток, были разделены на 4 опытные и 2 контрольные группы. В каждой группе содержалось по 4 самца и 4 самки лабораторных крыс. Лабораторные животные опытных групп получали компоненты Сфагносана в объеме 5 мл на голову, что соответствует максимально допустимой дозе для данного вида животных и способов введения. Лабораторным крысам контрольных групп в соответствующей дозе и соответствующим способом вводился растворитель разработанного средства (0,5% искусственный желудочный сок, доведенный до рН 5,5). На протяжении 14 суток за лабораторными животными вели наблюдение, оценивали их общее состояние, отношение к корму и к воде. Помимо оценки поведенческих реакций было изучение влияние каждого компонента на показатели живой массы крыс. По завершении проводимого эксперимента выборочно произвели эвтаназию лабораторных животных опытных и контрольных групп для сравнительной оценки макроструктуры внутренних органов с дальнейшим их взвешиванием.

На момент включения лабораторных крыс в опыт их общее физиологическое состояние оценивалось как равнозначное. Но при интрагастральном и внутримышечном введениях пиролизатов мха сфагнома и трутовика окаймленного установлены разнонаправленные изменения в поведенческих реакциях лабораторных животных. Так при внутрижелудочном введении у крыс наблюдались угнетенное общее состояние, резкое снижение потребления корма и воды, замедленное дыхание. Снижение общего числа дыхательных движений отмечалось в течение первых 15 минут проводимого эксперимента, после чего данный показатель достиг значений физиологической нормы. К концу первых суток общее физиологическое состояние было удовлетворительным, появились аппетит и потребление воды.

При внутримышечной инокуляции компонентов комплексного средства у лабораторных крыс отмечались повышенная активность и беспокойство,

тахипноэ. Через 1 час проводимого эксперимента лабораторные животные осуществляли груминг, потребляли корм и воду. Цвет видимых слизистых оболочек был бледно-розовым. В местах инъекций, которые осуществлялись дробно, в разные точки, отмечается отсутствие видимых нарушений целостности кожи, при этом цвет кожи не отличался от близлежащего участка.

Установлено, что как при внутрижелудочном, так и при внутримышечном введении отдельные компоненты Сфагносана не приводят к угнетению массы тела лабораторных крыс. Результаты проводимого взвешивания представлены в таблице 1, из которой видно, что разница между группами по показателям массы тела была достоверно не различимой.

Таблица 1 – Изменение массы тела лабораторных крыс при однократном введении отдельных компонентов Сфагносана ($M \pm m$; $n=8$)

Группа	Вводимый компонент	Масса тела, г			
		Пероральное введение		Внутримышечное введение	
		До	14 сутки	До	14 сутки
1	0,5% искусственный желудочный сок (рН 5,5)	213,0±1,59	235,7±2,56	202,5±1,78	226,4±2,45
2	Продукт кислотно-ферментативного гидролиза мха сфагнума	205,2±1,34	233,4±2,96	200,5±1,75	221,2±2,03
3	Продукт кислотно-ферментативного гидролиза трутовика окаймленного	200,7±1,12	227,6±3,01	204,2±1,67	229,3±2,48

В ходе проводимого опыта по определению параметров острой токсичности каждого компонента разработанного средства установлена полная

сохранность лабораторных крыс в опытных и контрольных группах. Данные представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Схема эксперимента по изучению параметров острой токсичности отдельных компонентов Сфагносана

Группа	Вводимый компонент	Способ введения	Объем вводимой жидкости, мл	Количество животных в группе	Пало	Выжило
1	0,5% искусственный желудочный сок (рН 5,5)	п/о ¹⁾	5	8	0	8
		в/м ²⁾	5	8	0	8
2	Продукт кислотного ферментативного гидролиза мха сфагнума	п/о	5	8	0	8
		в/м	5	8	0	8
3	Продукт кислотного ферментативного гидролиза трутовика окаймленного	п/о	5	8	0	8
		в/м	5	8	0	8

Примечание: 1) п/о – перорально; 2) в/м – внутримышечно.

На 14-е сутки проводимого эксперимента с помощью диэтилового эфира была проведена выборочная эвтаназия лабораторных крыс в обеих группах. По результатам вскрытия было установлено отсутствие патологических изменений в макроструктуре внутренних органов.



Рисунок 7 – внутренние органы крысы опытной группы при внутрижелудочном введении продукта кислотно-ферментативного гидролиза мха сфагнума (без видимых изменений)



Рисунок 8 – внутренние органы крысы опытной группы при внутримышечном введении продукта кислотно-ферментативного гидролиза мха сфагнума (без видимых изменений)



Рисунок 9 – внутренние органы крысы опытной группы при внутрижелудочном введении продукта кислотного-ферментативного гидролиза трутовика окаймленного
(без видимых изменений)



Рисунок 10 – внутренние органы крысы опытной группы при внутримышечном введении продукта кислотного-ферментативного гидролиза трутовика окаймленного
(без видимых изменений)

2.2.3.2 Исследование параметров острой токсичности Сфагносана на лабораторных мышах

В данном разделе изложены результаты научных исследований, опубликованные в научной статье. 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 [66].

Параметры острой токсичности комплексного средства Сфагносан определяли на лабораторных мышах живой массой 21-24 грамма, выдержанных в стандартных условиях карантина на протяжении 14 суток, путем внутрижелудочного и внутримышечного введения.

При интрагастральном введении были сформированы 1 опытная и 1 контрольная группы, в каждой из которых содержались по 4 самца и 4 самки белых мышей. Лабораторным животным опытной группы с помощью атравматического зонда вводили комплексное средство Сфагносан в дозе 0,5 мл, что соответствует разрешенной дозе для данного вида животных. Лабораторным мышам контрольной группы вводился физиологический раствор.

При парентеральном введении также были сформированы опытная и контрольная группы, в каждой из которых содержались по 4 самца и 4 самки белых мышей. Сфагносан вводили внутримышечно в каудальную часть бедра в двух разных точках в общей дозе 0,5 мл. Мышам контрольной группы инъецировался физиологический раствор в соответствующей дозировке.

В ходе проводимого эксперимента установлено, что отклонения в физиологических показателях лабораторных животных опытной и контрольной групп до включения в опыт не имели существенных различий. Но после

интрагастрального введения и внутримышечной инокуляции были отмечены особенности в их поведении.

В частности, общее состояние белых мышей опытной группы регистрировалось как угнетенное, сознание при этом было сохранено, отмечались уменьшения дыхательных движений вплоть до кратковременного апноэ (5...7 сек). Восстановление частоты дыхательных движений произошло к концу первого часа наблюдения.

По истечению первых суток проводимого эксперимента регистрировались удовлетворительное общее состояние, потребление корма и груминг лабораторных животных. Изменения со стороны слизистых оболочек и шерстного покрова не установлены.

При внутримышечном введении Сфагносана лабораторные животные метались по клетке. Дыхание при этом становилось учащенным и поверхностным. Нормализация общего клинического состояния происходила в течение первых 30 минут после введения разработанного средства, а спустя первые 4...6 часов животные становились активными, осуществляли груминг и потребляли корм.

Помимо оценки поведенческих реакций было изучено влияние комплексного средства Сфагносана на показатели живой массы. В ходе эксперимента установлено, что средство на основе сырья природного происхождения не угнетает показатели массы тела белых мышей как при внутреннем, так и при внутримышечном введении. Результаты взвешивания представлены в таблице 3, из которой видно, что разница между группами по показателям массы тела была достоверно не различимой.

Таблица 3 – Динамика массы тела белых мышей после однократного введения Сфагносана ($M \pm m$; $n=8$)

Группа	Вводимый компонент	Масса тела			
		Пероральное введение		Внутримышечное введение	
		До	14 сутки	До	14 сутки
1	Сфагносан	22,4±0,5	23,1±0,4	23,0±1,1	23,4±0,9
2	Физиологический раствор	21,1±0,6	21,9±0,8	23,3±1,0	23,9±0,8

При анализе сохранности животных гибель мышей не наблюдалась ни в одной из групп.

На 14 сутки проводимого эксперимента произведено вскрытие лабораторных животных с патологоанатомической оценкой внутренних органов. Визуально отмечено отсутствие характерных патологических изменений в макроструктуре органов.

2.2.3.3 Исследование параметров острой токсичности Сфагносана при пероральном введении

Одним из важных этапов доклинического исследования новых лекарственных средств является изучение параметров острой токсичности при пероральном введении. На данном этапе было использовано 16 лабораторных крыс, которые были разделены на опытную и контрольную группы, по 8 животных в каждой. Лабораторным крысам опытной группы комплексное средство Сфагносан вводилось перорально с помощью атравматического зонда в объеме 5 мл, что соответствует максимально допустимой дозе для данного вида животных. В контрольной группе в свою очередь использовали

растворитель разработанного средства (0,5% искусственный желудочный сок, доведенный до pH 5,5).

При наблюдении за лабораторными животными на протяжении 14 суток оценивали их общее состояние, отношение к корму и воде, подвижность, а также рассчитывали показатели абсолютного и среднесуточного прироста массы тела. В конце проводимого эксперимента производили забор крови с учетом 12-часовой голодной диеты лабораторных крыс, осуществляли их выборочную эвтаназию для оценки возможного повреждающего действия Сфагносана на внутренние органы и оценивали показатели массы внутренних органов.

При внутрижелудочном введении комплексного средства Сфагносан лабораторные крысы забивались в угол, отсутствовала горизонтальная и вертикальная подвижность, у них отмечались учащенное дыхание и повышенное калоотделение. В конце эксперимента гибель животных не установлена.

Изменение массы тела лабораторных крыс опытной и контрольной групп представлена в таблице 4, на основании которой можно сделать вывод, что комплексное средство Сфагносан в максимально допустимой дозе при однократном пероральном способе введения не приводит к угнетению прироста массы тела. За 14 дней наблюдения среднесуточный прирост в опытной группе составил в среднем 1,9 грамма, абсолютный прирост – 11,3%.

Таблица 4 – Динамика массы тела лабораторных крыс при однократном внутрижелудочном введении Сфагносана ($M \pm m$; $n=8$)

Группа животных	Масса тела, г			
	В начале опыта	На 14 сутки	Абсолютный прирост, %	Среднесуточный прирост, г
Контрольная	218,8±1,67	243,2±2,32	10,6	1,7
Опытная	221,2±1,92	247,8±2,58	11,3	1,9

На основании проведенного анализа морфологических показателей крови лабораторных крыс на 14-е сутки после однократного перорального введения разработанного средства Сфагносан в опытной группе отсутствуют достоверные различия по отношению к контролю (таблица 5).

Таблица 5 – Морфологический состав крови лабораторных крыс при однократном внутрижелудочном введении Сфагносана ($M \pm m$; $n=8$)

Показатель	Группа	
	Контрольная	Опытная
Эритроциты, $10^{12}/л$	$7,9 \pm 1,1$	$8,2 \pm 0,9$
Гемоглобин, г/л	$109 \pm 3,0$	$115 \pm 2,0$
Гематокрит, %	$39 \pm 2,0$	$42 \pm 1,0$
Лейкоциты, $10^9/л$	$7,1 \pm 0,9$	$6,9 \pm 0,5$
Тромбоциты, $10^9/л$	$570 \pm 14,1$	$592 \pm 10,0$
СОЭ, мм/час	$1,7 \pm 0,4$	$2,0 \pm 0,2$

При выборочном вскрытии патологические изменения макроструктуры внутренних органов также не выявлены. Данные массы печени, сердца, легких, селезенки, почек представлены в таблице 6, на основании которых достоверная разница в опытной и контрольной группе не установлена.

Таблица 6 – Влияние Сфагносана на массу внутренних органов лабораторных крыс при однократном пероральном введении Сфагносана ($M \pm m$; $n=8$)

Орган	Масса, г	
	Контрольная	Опытная
Печень	$7,5 \pm 1,87$	$7,4 \pm 1,23$
Сердце	$0,8 \pm 0,15$	$0,8 \pm 0,20$
Легкие	$1,4 \pm 0,71$	$1,5 \pm 0,68$
Селезенка	$1,2 \pm 0,42$	$1,3 \pm 0,21$
Почки	$1,6 \pm 0,41$	$1,5 \pm 0,65$

На основании этого можно сделать вывод, что при однократном пероральном введении комплексного средства Сфагносан отсутствует его повреждающее действие на внутренние органы лабораторных крыс.



Рисунок 11 – внутренние органы крысы опытной группы при пероральном введении Сфагносана (без видимых изменений)

2.2.3.4 Исследование параметров острой токсичности Сфагносана при парентеральном введении

Токсическое влияние вновь разрабатываемых лекарственных средств необходимо изучить не только при пероральном, но и при парентеральном способе введения.

Данный этап изучения общетоксических свойств комплексного средства Сфагносан проводился на 16 белых крысах со средней массой тела 190-210

грамм, выдержанных в стандартных условиях карантина на протяжении 14 суток. Разработанное средство Сфагносан в дозе 5 мл на голову вводили внутримышечно лабораторным крысам опытной группы в разные точки. Соответствующим способом введения и в соответствующей дозе лабораторные животные контрольной группы получали воду для инъекций.

Клинические изменения лабораторных крыс опытной группы были аналогичны с картиной изменений при внутримышечном введении отдельных компонентов комплексного средства Сфагносан. Нарушения целостности кожи, изменения цвета кожи в местах инъекций не установлены на протяжении всего периода наблюдения.

Изменение показателей массы тела белых крыс представлены в таблице 7, из которой видно, что абсолютный прирост массы тела опытной группы составил 20,4 %, среднесуточный прирост 3,1 грамма.

Таблица 7 – Изменение массы тела лабораторных крыс при однократном внутримышечном введении Сфагносана ($M \pm m$; $n=8$)

Группа животных	Масса тела, г		Абсолютный прирост, %	Среднесуточный прирост, г
	В начале эксперимента	На 14 сутки		
Контроль	205,6 \pm 2,71	241,1 \pm 1,74	17,2	2,5
Опыт	211,2 \pm 2,86	254,3 \pm 1,23	20,4	3,1

Таблица 8 – Морфологический состав крови лабораторных крыс при однократном внутримышечном введении Сфагносана ($M \pm m$; $n=8$)

Показатель	Группа	
	Контрольная	Опытная
Эритроциты, $10^{12}/л$	$7,3 \pm 0,8$	$7,8 \pm 0,3$
Гемоглобин, г/л	$118 \pm 4,0$	$111 \pm 3,0$
Гематокрит, %	$37 \pm 3,0$	$40 \pm 2,0$
Лейкоциты, $10^9/л$	$6,8 \pm 0,4$	$7,2 \pm 0,6$
Тромбоциты, $10^9/л$	$545 \pm 17,0$	$567 \pm 13,0$
СОЭ, мм/час	$1,5 \pm 0,2$	$1,8 \pm 0,3$

Согласно таблице 8, достоверных различий в количественном содержании основных морфологических показателей крови после однократного внутримышечного введения Сфагносана в опытной группе по отношению к контролю не установлены.

В ходе проводимого эксперимента гибель белых крыс не была установлена. По результатам их выборочного вскрытия при визуальной оценке макроструктуры внутренних органов видимые патологические изменения не выявлены, при этом отсутствует достоверная разница в их массе (таблица 9).

Таблица 9 – Влияние Сфагносана на массу внутренних органов лабораторных крыс при однократном внутримышечном введении Сфагносана ($M \pm m$; $n=8$)

Орган	Масса, г	
	Контроль	Опыт
Печень	$7,7 \pm 1,54$	$7,8 \pm 1,31$
Сердце	$0,8 \pm 0,22$	$0,9 \pm 0,16$
Легкие	$1,8 \pm 0,43$	$1,9 \pm 0,57$
Селезенка	$1,3 \pm 0,32$	$1,3 \pm 0,41$
Почки	$1,5 \pm 0,56$	$1,6 \pm 0,27$



Рисунок 12 – внутренние органы крысы опытной группы при однократном внутримышечном введении Сфагносана (без видимых изменений)

В результате проводимых экспериментов по исследованию острой токсичности повреждающее действие Сфагносана не установлено. Согласно ГОСТ 12.1.007-76, комплексное средство Сфагносан относится к веществам малоопасным.

В связи с тем, что ни в одном эксперименте по изучению параметров острой токсичности гибель лабораторных животных не наступила и отсутствует средняя смертельная доза комплексного средства Сфагносан, в

дальнейших экспериментах используется условное ЛД₅₀ от максимально использованной дозы в остром опыте.

2.2.3.5 Исследование кумулятивных свойств комплексного средства Сфагносан

Изучение кумулятивной способности нового лекарственного средства сводится к определению индекса кумуляции, который рассчитывается путем отношения ЛД₅₀ при кратном введении к ЛД₅₀ при однократном.

Исследование кумулятивных свойств комплексного средства Сфагносан осуществлялось по методу Lim'a на 16 лабораторных крысах, разделенных на опытную и контрольную группы, со средней массой тела 200-210 г. В каждой группе содержалось по 4 самца и 4 самки белых крыс.

Оптимальный способ введения разработанного средства Сфагносан был определен как внутримышечный, поскольку данный способ в дальнейшем будет использоваться как основной и в других экспериментах.

Лабораторным крысам опытной группы комплексное средство Сфагносан вводили внутримышечно в условно-терапевтической дозе, составляющей 1/10 от максимально использованной в остром опыте (0,5 мл). Крысы контрольной группы соответствующим способом получали воду для инъекции в дозе 0,5 мл.

Эксперимент длился на протяжении 28 дней, где каждые 4 суток исходную дозу увеличивали в 1,5 раза. В течение проводимого опыта обращали внимание на общее состояние лабораторных крыс, их реакцию на вводимое средство, определяли динамику массы тела. В конце опыта проводили вскрытие лабораторных животных, оценивали состояние внутренних органов с дальнейшим определением их органно-весовых коэффициентов.

Дозы и количество введений представлены в таблице 10, из которой также видно, что каждому животному суммарно ввели 63,8 мл испытуемого средства.

Таблица 10 – Кумулятивные свойства Сфагносана (n=8)

Дни введения	Ежедневная доза, мл	Суммарная доза за 4 суток введения, мл	Количество павших животных
1 – 4	0,5	2,0	0
5 – 8	0,75	3,0	0
9 – 12	1,1	4,4	0
13 – 16	1,7	6,8	0
17 – 20	2,5	10,0	0
21 – 24	3,8	15,2	0
25 – 28	5,6	22,4	0

При введении комплексного средства лабораторные животные проявляли беспокойство ввиду возможной болевой реакции, у них отсутствовала горизонтальная подвижность, наблюдалось учащенное дыхание. Осуществление груминга, потребление корма отмечались спустя 1-1,5 часа после инъекции.

На 20-е сутки проводимого эксперимента отмечалось спокойная реакция лабораторных животных на введение лекарственного средства Сфагносан, горизонтальная подвижность и осуществление груминга отмечались спустя 15 минут после инъекции.

Динамика массы тела лабораторных крыс представлена в таблице 11.

Таблица 11 – Масса тела белых крыс при изучении кумулятивных свойств Сфагносана ($M \pm m$; $n=8$)

Группа	Масса тела, г		Прирост массы тела за 28 дней, %
	В начале опыта	В конце опыта	
Контрольная	205,1 ± 0,5	227,1 ± 0,7	10,7
Опытная	210,3 ± 0,6	213,8 ± 1,2*	1,7

Примечание: *, - уровни достоверности различия, соответственно $p \leq 0,05$

При анализе полученных данных мы установили, что масса лабораторных крыс обеих групп в начале опыта была достоверно не различимой. При этом у крыс контрольной группы абсолютный прирост массы тела превосходит данный показатель крыс группы опыта в среднем на 10%.

Для более глубокой оценки кумулятивных свойств Сфагносана был проведен морфологический анализ крови лабораторных (таблица 12).

Таблица 12 – Морфологический состав крови лабораторных крыс при исследовании кумулятивных свойств Сфагносана ($M \pm m$; $n=8$)

Показатель	Группа	
	Контрольная	Опытная
Эритроциты, $10^{12}/л$	7,4±0,4	6,1±0,2*
Гемоглобин, г/л	113,0±5,0	97,0±1,9*
Гематокрит, %	43±2,0	38,1±3,0
Лейкоциты, $10^9/л$	7,2 ±0,6	6,8±0,4
Тромбоциты, $10^9/л$	576,0±11,0	545,0±19,0
СОЭ, мм/час	1,6 ±0,4	2,1±1,7*

Примечание: *, - уровни достоверности различия, соответственно $p \leq 0,05$

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 ($p \leq 0,05$).

Стоит отметить, что при макроскопической оценке внутренние органы крыс контрольной и опытной групп имели соответствующий цвет, форму, консистенцию для данного вида животных.

Таблица 13 – Органно-весовые коэффициенты внутренних органов крыс при исследовании кумулятивных свойств Сфагносана ($M \pm m$; $n=8$)

Показатель	Группа	
	Контроль	1 опытная
Масса органов (г), на 28 сутки		
Печень	7,9±1,63	7,8±1,12
Органно-весовой коэффициент, %	3,48±0,57	3,65±0,66
Селезёнка	1,4±0,54	1,5±0,26
Органно-весовой коэффициент, %	0,66±0,12	0,7±0,1
Лёгкие	1,6±0,24	1,7±0,39
Органно-весовой коэффициент, %	0,7±0,14	0,8±13
Сердце	0,8±0,32	0,8±0,43
Органно-весовой коэффициент, %	0,35±0,11	0,37±0,15
Почки	1,6±0,13	1,6±0,25
Органно-весовой коэффициент, %	0,70±0,22	0,75±0,21

Из данной таблицы следует, органно-весовые коэффициенты печени, селезенки, легких, сердца и почек крыс опытной группы были не различимы при контроле $p \geq 0,05$.

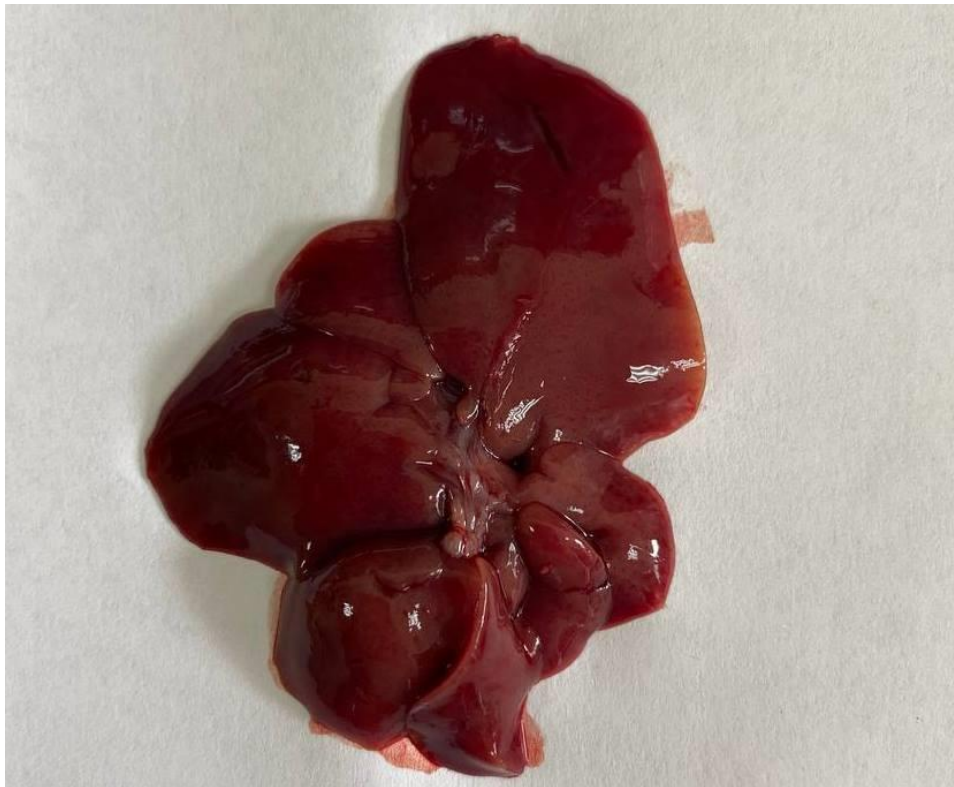


Рисунок 13 – печень контрольной группы
(без видимых изменений)



Рисунок 14 – печень крысы опытной группы
(без видимых изменений)



Рисунок 15 – сердце крысы контрольной группы
(без видимых изменений)



Рисунок 16 – сердце крысы опытной группы
(без видимых изменений)

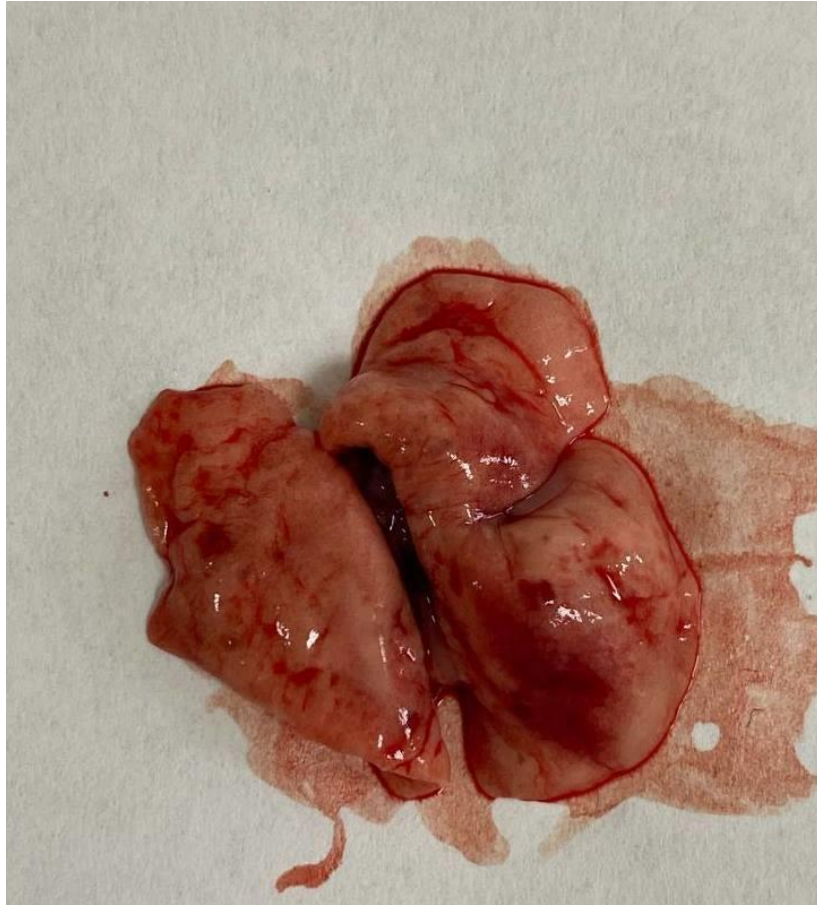


Рисунок 17 – легкие крысы контрольной группы



Рисунок 18 – легкие крысы опытной группы



Рисунок 19 – селезенка крысы контрольной группы
(без видимых изменений)



Рисунок 20 – селезенка крысы опытной группы
(без видимых изменений)



Рисунок 21 – почки крысы контрольной группы
(без видимых изменений)



Рисунок 22 – почки крысы опытной группы
(без видимых изменений)

Поскольку гибель лабораторных животных при длительном введении комплексного средства Сфагносан в возрастающих дозах отсутствовала, как и

при изучении параметров острой токсичности, коэффициент кумуляции рассчитывается как отношение суммарной дозы за 28 суток эксперимента (63,8 мл) к максимально вводимой в опыте по изучению острой токсичности (5,0 мл).

$$K_{\text{кум}} = 63,8/5 = 12,76$$

Согласно методическим работам Л.И. Медведь и соавторам в модификации Б.И. Люблиной [46], комплексное средство Сфагносан не обладает кумулятивными свойствами, так как коэффициент кумуляции составил 12,76, что превосходит коэффициент кумуляции 5 .

2.2.3.6 Исследование хронической токсичности Сфагносана

В данном разделе изложены результаты научных исследований, опубликованные в научной статье. Новоселов, О.Н. Изучение параметров хронической токсичности комплексного средства N-98 / О.Н. Новоселов, Ф.А. Медетханов [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2023. - Т. 255. - № 3. - С. 248-251 [67].

Параметры хронической токсичности изучались на 32-х лабораторных крысах обоего пола с массой тела в среднем 210 грамм. При этом формировались 4 группы животных по 8 крыс (4 самца и 4 самки) в каждой, содержащихся в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и корму при 12-часовом световом режиме и контролируемой температуре помещения. Первой группе крыс комплексное средство Сфагносан вводилось внутримышечно в условно терапевтической дозе (1/10 от дозы в остром опыте), установленной в эксперименте по острой токсичности, в объеме 0,5 мл на голову. Вторая группа лабораторных животных получала комплексное средство в 5 раза выше условно терапевтической дозы – 2,5 мл (1/2 от дозы в остром опыте). Третья группа – в 5 раз ниже условно терапевтической дозы в объеме

0,5 мл (1/50 от дозы в остром опыте). Четвертая группа являлась контрольной, здесь крысам внутримышечно инъецировалась вода для инъекций в дозировке, аналогичной первой группе. Комплексное средство Сфагносан вводилось ежедневно в указанных дозировках в течение 30 дней.

Характер интоксикации лабораторных крыс оценивали по общему состоянию, отношению к корму и воде, совершению груминга, а также по результатам взвешивания в начале и конце опыта, по общему и биохимическому анализу крови и по визуальной оценке макроструктуры внутренних органов.

Таблица 14 – Схема введения Сфагносана лабораторным крысам при определении параметров хронической токсичности

Группа	Количество животных в группе/ использованное средство	Гендерная принадлежность		Способ введения	Доза, мл
		самец	самка		
1 – опытная	8/ Сфагносан	4	4	в/м	0,5
2 – опытная	8/ Сфагносан	4	4	в/м	2,5
3 – опытная	8/Сфагносан	4	4	в/м	0,1
контрольная	8/ вода для инъекций	4	4	в/м	0,5

При проведении хронического опыта на протяжении 1-го месяца гибель лабораторных животных не установлена, нормализация общего клинического состояния после инъекции средства наступала в среднем в течение 1-го часа. Результаты взвешивания лабораторных крыс представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Изменение массы тела лабораторных крыс в хроническом опыте (M±m; n=8)

Группа	Масса тела, г		Абсолютный прирост, %	Среднесуточный прирост, г
	Начало опыта	30 суток опыта		
Контрольная	209,4±2,37	258,3±1,81	23,4	1,63
1-опытная (0,5 мл)	208,9±2,81	236,1±1,57*	13,0	0,91
2-опытная (2,5 мл)	211,2±2,41	209,3±1,26*	-0,9	-0,06
3-опытная (0,1 мл)	210,7±1,60	253,2±1,37	20,2	1,42

Примечание: *, - уровни достоверности различия, соответственно $p \leq 0,01$

Согласно данной таблице, в опытных группах, где вводилось разработанное средство в условно-терапевтической дозе и в 5 раз ее ниже, отмечалась положительная динамика массы тела крыс. Наибольший среднесуточный прирост (1,42 г.) составил в группе, получавшей наименьшее количество комплексного средства, здесь абсолютный прирост составил 20,2%. Между тем, во второй опытной группе, получавшей комплексное средство в максимальной дозе, отмечается отсутствие среднесуточного прироста, абсолютный прирост при этом составил -0,9%.

Показатели массы тела лабораторных крыс, получавших условно терапевтическую дозу, достоверно не отличаются от показателей контрольной группы. Разница в среднесуточном приросте составила 0,72 грамма.

Помимо изучения общетоксического действия комплексного средства Сфагносан при его длительном введении был проведен общий анализ крови лабораторных животных (таблица 16).

Таблица 16 – Морфологические показатели крыс при длительном введении Сфагносан ($M \pm m$; $n=8$)

Группа \ Показатель	Контрольная	1 опытная	2 опытная	3 опытная
Начало опыта				
Эритроциты, $10^{12}/л$	$5,87 \pm 0,21$	$5,76 \pm 0,18$	$5,98 \pm 0,65$	$6,11 \pm 0,22$
Лейкоциты, $10^9/л$	$8,16 \pm 2,11$	$8,91 \pm 0,93$	$8,13 \pm 2,16$	$8,34 \pm 1,25$
Гемоглобин, г/л	$94,3 \pm 3,87$	$106,23 \pm 1,26$	$98,31 \pm 1,89$	$103,22 \pm 2,23$
СОЭ, мм/час	$1,26 \pm 0,11$	$0,97 \pm 0,11$	$1,34 \pm 0,31$	$1,29 \pm 0,19$
30 сутки				
Эритроциты, $10^{12}/л$	$6,01 \pm 1,21$	$5,91 \pm 1,19$	$4,58 \pm 0,52^*$	$6,18 \pm 1,31$
Лейкоциты, $10^9/л$	$8,76 \pm 1,08$	$10,87 \pm 1,47$	$12,96 \pm 0,71^*$	$8,51 \pm 1,19$
Гемоглобин, г/л	$109,3 \pm 2,37$	$104,32 \pm 1,12$	$93,34 \pm 2,18^{**}$	$109,12 \pm 1,32$
СОЭ, мм/час	$1,35 \pm 0,84$	$1,12 \pm 0,13$	$2,51 \pm 0,11^*$	$1,33 \pm 0,24$

Примечание: *, - уровни достоверности различия, соответственно $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$

Анализируя данные из таблицы 16, мы установили, что в начале эксперимента показатели общего анализа крови разных групп были достоверно не различимы, однако в конце опыта имели существенные различия. Так в 2-ой опытной группе, получавшей максимальное количество комплексного средства, отмечаются снижение общего числа эритроцитов, концентрации гемоглобина и повышение общего числа лейкоцитов и СОЭ по сравнению со значениями контрольной группы, что может быть связано с наличием участков некроза в местах инъекции и с корреляцией биохимических показателей сыворотки крови (таблица 17). Количество лейкоцитов 3-ой опытной группы приближено к количеству лейкоцитов контрольной, это в свою очередь может быть связано с минимальным объемом вводимого раствора и с наименьшим перераздражением тканей в местах инъекций.

Таблица 17 – Биохимические показатели сыворотки крови крыс при длительном введении Сфагносана ($M \pm m$; $n=8$)

Показатель	Группа			
	Контроль	1-я опытная	2-я опытная	3-я опытная
Общий белок, г/л	67,0±0,5	65,2±0,3	57,2±0,7**	68,1±0,3
Альбумины, г/л	28,9±0,2	28,2±0,1	26,8±0,3	29,3±0,2
Билирубин общий, г/л	1,8±0,1	1,91±0,2	3,1±0,2**	1,76±0,1
АЛТ, Е/л	63,0±1,0	61,2±1,6	88,0±0,7***	59,8±1,1
АСТ, Е/л	49,0±1,0	52,0±0,8	64,0±1,1***	47,1±0,9
ЛДГ, Е/л	456±18,0	484±57,0	578±24,0*	421±81,0
ЩФ, Е/л	331±12,0	338±7,0	352±9,0	325±10,0
Холестерин общий, моль/л	1,9±0,04	1,95±0,05	2,5±0,05*	1,87±0,03
Глюкоза, ммоль/л	4,3±0,3	3,87±0,2	4,9±0,5	4,1±0,3
Креатинин, ммоль/л	0,48±0,03	0,5±0,05	0,52±0,02	0,45±0,03
Мочевина, ммоль/л	7,7±0,12	7,9±0,08	7,9±0,14	7,4±0,09

Примечание: *, - уровни достоверности различия, соответственно $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$; $p \leq 0,001$

Согласно таблице 17, особые функциональные изменения в работе организма отмечаются во второй опытной группе лабораторных животных, получавших максимальную дозу средства. Так билирубин общий, АЛТ, АСТ, ЛДГ, ЩФ, холестерин общий и глюкоза превышают соответствующие показатели в контроле на 27,8%, 14,3%, 18,4%, 26,8%, 6,3%, 31,6% и 14,0% соответственно. При этом общий белок в данной группе составил 63,2±0,7 г/л, альбумин - 26,8±0,3 г/л при данных в контроле 67,0±0,5 г/л и 28,9±0,2 г/л соответственно. Основные биохимические показатели сыворотки крови крыс 1-й и 3-й опытных групп в количественном отношении не имеют достоверной разницы по отношению к контролю.

При вскрытии лабораторных животных первой и третьей опытных групп, а также в контроле 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: крупный локальный очаг повреждения в виде затемнения (рис. 25).

Таблица 18 – Масса внутренних органов лабораторных крыс при длительном введении Сфагносана ($M \pm m$; $n=8$)

Орган	Группа			
	Контрольная	1-я опытная	2-я опытная	3-я опытная
	Масса, г			
Печень	7,4±1,61	7,6±2,11	7,0±0,82*	7,5±1,45
Сердце	0,7±0,15	0,7±0,32	0,8±0,21	0,8±0,30
Легкие	1,9±0,29	1,8±0,54	1,9±0,66	1,8±0,81
Селезенка	1,5±0,24	1,7±0,37	1,9±0,31	1,8±0,22
Почки	1,9±0,43	1,8±0,27	2,0±0,36	1,7±0,35

Примечание: *, - уровни достоверности различия, соответственно $p \leq 0,05$

На основании полученных результатов показателей массы внутренних органов крыс (таблица 18) установлено, что во второй опытной группе выявлена достоверная разница массы печени по отношению к контрольной группе (при $p \leq 0,05$), в остальных опытных группа показатели массы внутренних органов имеют равнозначный характер относительно группы контроля ($p \geq 0,05$).



Рисунок 23 – печень лабораторной крысы контрольной группы



Рисунок 24 – печень лабораторной крысы первой опытной группы



Рисунок 25 – печень лабораторной крысы второй опытной группы
(очаги кровоизлияния)



Рисунок 26 – печень лабораторной крысы третьей опытной группы

На основе данных, полученных при проведении хронического опыта, нами установлено, что комплексное средство Сфагносан в условно-терапевтической дозе и в 5 раз ее ниже не обладает токсичностью, не угнетает прирост массы тела, не приводит к выраженным изменениям в морфологическом и биохимическом составе сыворотки крови, повреждающему действию макроструктуры внутренних органов при его длительном внутримышечном введении лабораторным крысам. Поскольку в третьей опытной группе, где использовалась доза 0,1 мл, установлены наилучшие результаты абсолютного и среднесуточного прироста массы тела, морфологического состава крови, а также при визуальной оценке макроструктуры внутренних органов отсутствуют очаги поражения, данная является оптимальной.

В свою очередь, у крыс, которым внутримышечно вводилось комплексное средство Сфагносан в дозе 2,5 мл на протяжении 30 суток, отсутствие среднесуточного прироста, отрицательный абсолютный прирост массы тела, очаговые поражения печени могут быть связаны с излишним накоплением средства в организме, а также с длительной стрессовой и болевой реакцией [101]. Биохимические показатели сыворотки крови, отражающие в первую очередь функциональную работу печени, также завышены, что может говорить о том, что длительное введение разработанного средства в дозе, в 5 раз превышающую условно-терапевтическую, оказывает повреждающее действие на печень.

2.2.4 Изучение специфической токсикологической безопасности комплексного средства Сфагносан

2.2.4.1 Исследование аллергизирующих свойств Сфагносана

С целью всесторонней экспертизы нового лекарственного средства для нужд ветеринарии изучение его аллергизирующих свойств является одним из ключевых моментов доклинических исследований.

Исследования аллергизирующих свойств комплексного средства Сфагносан проводились в пределах вивария ФГБОУ ВО КГАВМ им. Н.Э. Баумана на 80 лабораторных мышах обоего пола массой 19...20 грамм. Все лабораторные животные были подвержены карантину на протяжении 14 суток, при этом самцы и самки содержались отдельно.

Аллергизирующие свойства изучали, руководствуясь методическими указаниями [100], используя реакции активной кожной и общей анафилаксии на беспородных лабораторных мышах. Для сенсibilизации животных за исходную дозу была принята 1/50 от максимально использованной в остром опыте в перерасчете на среднюю массу мыши (0,01 мл). Разрешающая доза была в 10 раз выше исходной (0,1 мл).

Активная кожная анафилаксии

В эксперименте использовали 40 лабораторных мышей, разделенных на опытную и контрольную группы по 10 самцов и 10 самок в каждой, поскольку сенсibilизирующие свойства лекарственного средства могут по-разному проявляться в зависимости от пола животного. В реакции активной кожной анафилаксии сенсibilизацию лабораторных животных проводили с помощью трехкратных парентеральных введений: первое введение подкожное, два следующих – внутримышечные. При этом беспородным лабораторным мышам

инъекцировали разработанное средство Сфагносан в дозе 0,01 мл, а контроль в свою очередь получал воду для инъекции в аналогичной дозе.

На 21-е сутки проводимого эксперимента в области выстриженного участка кожи вводили суммарную сенсibiliзирующую 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 инъекцировалось разработанное средство.

Экспериментально установлено, что комплексное средство Сфагносан не вызывает характерных структурных изменений кожи на месте инъекции. У самок и самцов опытной группы размер синего пятна на внутренней поверхности кожи, куда вводилась суммарная сенсibiliзирующая доза, не имел достоверных различий по отношению к размерам синего пятна самок и самцов контроля.

Таблица 19 – Размер синего пятна ($M \pm m$, $n=20$)

Группа	Размер окрашенной пуговки, мм
Контроль (самцы)	$4,1 \pm 0,24$
Опыт (самцы)	$3,6 \pm 0,41$
Контроль (самки)	$3,7 \pm 0,22$
Опыт (самки)	$4,0 \pm 0,36$

Согласно методическим работам, Сфагносан не обладает кожными анафилактическими свойствами, поскольку размер синего пятна на внутренней поверхности кожи не превышал 6,0 мм.

Реакция общей анафилаксии

Эксперимент проводили на 60 беспородных лабораторных мышах, разделенных на две опытные и одну контрольную группы. Для сенсibiliзации животных первой опытной группы 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). Во второй опытной группе использовали разрешающую дозу, которая была в 10 раз выше исходной (0,1 мл). 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 [155]. В контрольной группе животных использовали воду для инъекций.

Таблица 20 – Схема исследования реакции общей анафилаксии Сфагносана на беспородных лабораторных мышах

Группа	Сенсibilизирующая доза, мл	Разрешающая сенсibilизирующая доза, мл	Количество животных в опыте		Пало
			В начале	В конце	
Опытная самки	0,01	0,03	10	10	0
Опытная самцы	0,01	0,03	10	10	0
Контроль самки	0,01	0,03	10	10	0
Опытная самки	0,1	0,3	10	10	0
Опытная самцы	0,1	0,3	10	10	0
Контроль самцы	0,1	0,3	10	10	0

Интенсивность возможного анафилактического шока оценивали с помощью индексов Weigle [157], где:

0 – отсутствие каких-либо изменений в поведении;

+ – слабый шок (беспокойство, тахипноэ, зуд в области лицевой части головы, непроизвольное мочеиспускание и калоотделение, взъерошенность шерсти);

++ – шок средней степени (короткие судороги, брадипноэ);

+++ – шок тяжелой степени (клонико-тонические судороги, асфиксия, невозможность опоры на лапы, падение на бок, гибель не регистрируется);

++++ – шок со смертельным исходом;

Стоит отметить, что по результатам проведенного эксперимента подопытные мыши в не зависимости от гендерной принадлежности реагируют схожим образом. При внутривенном введении сенсibiliзирующей дозы комплексного средства Сфагносан и в 10 раз ее превышающей у лабораторных мышей отсутствуют признаки анафилактического шока (индекс Weigle равен 0).

Согласно полученным результатам, комплексное средство Сфагносан не обладает аллергизирующими свойствами при изучении реакции кожной и общей анафилаксии.

2.2.4.2 Исследование местно-раздражающего действия Сфагносана

Поскольку Сфагносан представляет собой впервые разработанное лекарственное средство, при его доклиническом исследовании важным этапом является изучение местно-раздражающего действия.

Местно-раздражающее действие Сфагносана изучалось методом накожных аппликаций и нанесений на слизистую оболочку век и глазного яблока.

Метод накожных аппликаций.

Изучение возможного раздражающего действия Сфагносана с использованием метода накожных аппликаций проходило на 16 лабораторных крысах обоего пола, разделенных на опытную и контрольную группы по 8 животных в каждой. У каждой крысы слева и справа от поясничного отдела позвоночника выстригали шерсть участком 2 на 2 см. Крысам опытной группы прикладывали ватно-марлевой тампон, смоченный Сфагносаном в объеме 1 мл. Каждый тампоном фиксировали с помощью медицинского пластыря в течение

4-х часов. Крысам контрольной группы в течение такого же промежутка времени фиксировали ватно-марлевый тампон, смоченный водой для инъекций.

Через 4 часа проводимого эксперимента и в течение других 14 суток после удаления ватно-марлевых тампонов оценивали реакцию кожу у крыс опытной группы и сравнивали ее с реакцией кожи крыс контрольной. Оценка реакции кожи включала в себя осмотр на наличие гиперемии, отека и нарушения целостности, а также пальпацию на установление болевой реакции (таблица 21).

Таблица 21 – Классификация раздражающего действия средства методом накожных аппликаций

Класс	Средний суммарный балл выраженности эритемы и отека	Выраженность раздражающего действия
0	0	Отсутствие раздражающего действия
1	0,1-2,0	Слабораздражающее действие
2	2,1-4,0	Умеренно раздражающее действие
3	4,1-6,0	Выраженное раздражающее действие
4	6,1-8,0	Резко выраженное раздражающее действие

Согласно полученным данным, у крыс опытной группы не установлено раздражающее действие средства Сфагносан (класс 0), поскольку отсутствуют отек, гиперемия, болевая реакция и видимые нарушения целостности кожи. А также участки кожи, куда непосредственно апплицировалось исследуемое средство, визуально не отличается от состояния кожи крыс контрольной группы. Помимо этого, общее состояние крыс оценивается как бодрое, отмечаются совершение груминга, потребление корма на протяжении всего эксперимента.

Следовательно, комплексное средства Сфагносан при однократном нанесении на кожу с помощью ватно-марлевого тампона не вызывает структурных изменений кожи и не обладает раздражающим эффектом.

Конъюнктивальная проба.

Исследование возможного местно-раздражающего действия Сфагносана на слизистую оболочку глаз и век с использованием метода конъюнктивальной пробы проводилось на 8 кроликах-альбиносах со средней массой тела 4 кг. Разработанное средство в объеме 1 капля наносилось на конъюнктиву левого глаза, при этом правый глаз служил контролем: здесь использовалась вода для инъекций.

Состояние слизистой оболочки глаз и век оценивали в момент нанесения, а также через 5, 10, 30 и 60 минут после нанесения. На протяжении последующих 20 дней опыта проводили осмотр левого глаза кроликов, обращали внимание на его состояние, цвет и возможные истечения. Оценка местно-раздражающего действия средства на слизистую оболочку проводили в соответствии с классификацией, представленной в таблице 22.

Таблица 22 – Классификация местно-раздражающего эффекта с использованием метода конъюнктивальной пробы

Интенсивность реакции	Оценка в баллах	Раздражающий эффект
Отек конъюнктивы век	10	Сильновыраженный
Наличие истечений	8	Выраженный
Лакримация	6	Слабовыраженный
Выраженная реакция	4	Умеренный
Слабая реакция	2	Слабый
Нет реакции	0	Отсутствует

По завершении проводимого опыта состояние левого глаза не имело клинически отклонений, поскольку отсутствовали гиперемия, отек конъюнктивы глазного яблока и век, истечения также не установлены. При осмотре левый глаз не отличался от правого, где использовалась вода для инъекций.

При местном нанесении на конъюнктиву глазного яблока и век комплексное средство Сфагносан не вызывает раздражающего действия.

2.2.4.3 Исследование эмбриотоксических и тератогенных свойств Сфагносана

При изучении эмбриотоксических свойств комплексного средства Сфагносан были сформированы опытная и контрольная группа лабораторных нелинейных крыс в количестве 20 голов, а также имелись 5 нелинейных самца. Все лабораторные животные выдерживались в стандартных условиях карантина на протяжении 14 суток в помещении вивария. Для оплодотворения самок к ним подсаживали самцов в соотношении 4 к 1 соответственно.

Для изучения эмбриотоксических свойств оплодотворенным самкам на протяжении 19 суток после установления наличия сперматозоидов в их вагинальных мазках внутримышечно инъецировалось разработанное средство в дозе 1/50 от максимально использованной в остром опыте (0,1 мл). На 20-е сутки проводимого опыта после выборочной эвтаназии диэтиловым эфиром у самок белых крыс извлекали плоды с целью установления их жизнеспособности, подсчитывали их общее число и количество желтых тел, число мест имплантации на одну самку, определяли предимплантационную и постимплантационную смертность, а также общую эмбриональную смертность [53; 93; 100]. 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.

Таблица 23 – Основные показатели беременных самок лабораторных крыс на 20 сутки беременности при длительном внутримышечном введении Сфагносана ($M \pm m, n=5$)

Показатель	Группа	
	Контрольная	Опытная
Количество:		
Беременных крыс	5	5
Крыс с живыми плодами	5	5
Крыс с мертвыми плодами	0	0
Крыс с полной резорбцией	0	0
Количество желтых тел на одну самку	10,11±0,36	12,65±0,79
Число мест имплантации	12,1±0,27	11,22±0,25
Количество плодов на одну самку:		
живых	11,23±0,27	11,11±0,54
мертвых	0	0
Предимплантационная смертность, %	12,31±4,91	12,01±3,84
Постимплантационная смертность, %	8,7±3,65	9,1±2,98
Общая эмбриональная смертность, %	22,31±5,18	22,61±4,14

В таблице 23 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 достоверная разница между ними не установлена. 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.

Данные результаты в совокупности говорят об отсутствии эмбриотоксического действия комплексного средства Сфагносан.

После завершения беременности и появления плодов с целью определения их гендерной принадлежности проводили измерение аногенитального размера. Установлено, в опытной и контрольной группе количество самок превосходило количество самцов в соотношении 25:21 и 22:19 соответственно. Показатели антенатального развития плодов представлены в таблицы 24.

Таблица 24 – Параметры плодов и плацент самок лабораторных крыс при внутримышечном введении Сфагносана

Показатель	Группа	
	Контрольная	Опытная
Масса плаценты, г		
- самцов	0,52±0,02	0,52±0,03
- самок	0,50±0,01	0,49±0,02
Диаметр плаценты, мм		
- самцов	14,5±0,33	14,38±0,22
- самок	13,9±0,21	13,8±0,25
Масса плода, г		
- самцов	2,35±0,02	2,39±0,04
- самок	2,13±0,02	2,14±0,03
Краниокаудальный размер плода, мм		
- самцов	29,21±0,08	29,36±0,05
- самок	28,71±0,04	28,32±0,03

Согласно полученным результатам, 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 $29,36 \pm 0,05$, что было выше данного показателя у самок на 3,7%, в то время как в контроле соответствующая разница составила 1,7%.

Далее проводилось изучение возможных аномалий плодов в результате длительного внутримышечного введения комплексного средства Сфагносан в период беременности белых крыс (таблица 25).

Таблица 25 – Число и характер аномалий плодов лабораторных крыс после внутримышечного введения Сфагносана

Изучаемые параметры	Группа	
	Контрольная	Опытная
Общее число плодов	41	46
Количество плодов с внешними аномалиями, %	0	0
Кровоизлияния в:		
- области шеи	1	0
- брюшную полость	2	1
Полнокровие:		
- сосудов тела	4	3
- предсердий	3	2
- сосудов легких	0	0
Гидроцефалия	0	0
Гидронефроз	0	0
Дефект диафрагмы	0	0
Гипоплазия внутренних органов	0	0
Дефект твердого неба	0	0

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



Рисунок 27 – измерение краниокаудального размера крысенка

В таблице 26 приведены данные по изучению возможного токсического воздействия на развитие потомства от самок, длительно получавших разработанное средство Сфагносан.

Таблица 26 – Показатели постнатального развития потомства лабораторных крыс, получавших Сфагносан

Показатель	Группа	
	Контрольная	Опытная
Продолжительность беременности, сут	21,87±0,23	22,13±0,18
Количество новорожденных крысят в помете	8,27±0,51	7,93±0,24
Краниокаудальный размер при рождении, см	3,77±0,05	4,04±0,08
Масса тела, г		
- при рождении	5,38±0,07	5,41±0,08
- 7 сут	7,28±0,21	7,09±0,29
- 14 сут	10,13±0,31	10,34±0,34
- 21 сут	16,22±0,46	16,43±0,35
- 28 сут	25,33±0,59	24,17±0,51
Срок отлипания ушной раковины, сут	3,11±0,12	3,22±0,13
Срок опушения, сут	5,14±0,13	5,24±0,15
Срок прорезывания резцов, сут	9,03±0,21	9,10±0,11
Открытие глаз, сут	15,43±0,25	15,95±0,34
Постнатальная смертность за период наблюдения, %	0,27±0,19	0,34±0,20

Средняя продолжительность беременности самок в контрольной и опытной группах примерно длилась 22 дня, количество новорожденных крысят в помете составило 8,27±0,51 и 7,93±0,24 соответственно. Значения краниокаудального размера крысят при рождении не имели существенных различий. Такие морфофизиологические показатели, как масса телат крысят, сроки опушения, отлипания ушной раковины, открывания глаз, прорезывания резцов, имели равносторонний характер в обеих группах. Показатели постнатальной смертности не превышали контрольные значения физиологической нормы для лабораторных крыс.

На основании полученных результатов и проведенного анализа можно сделать вывод, что новое комплексное средство Сфагносан не оказывает повреждающего и токсического воздействие как на организм беременных самок крыс, так и на их потомство с дальнейшим их развитием.

2.2.5 Экспериментальное обоснование выбора оптимальной дозы Сфагносана

При разработке новых лекарственных средств после завершения изучения токсикологической безопасности ключевым моментом является определение их оптимальной дозы введения животным, что и было проведено с комплексным средством Сфагносан.

В данном опыте использовали 25 лабораторных нелинейных крысят массой тела 50-55 грамм, выдержанных в стандартных условиях карантина. Были сформированы 1 контрольная и 3 опытные группы по 5 животных в каждой. Комплексное средство Сфагносан испытывалось внутримышечно 1 раз в сутки на протяжении 5 дней. В первой опытной группе использовалась доза 0,1 мл на животное, во второй – 0,25 мл, в третьей – 0,5 мл. На протяжении всего эксперимента особое внимание было отведено на изучение показателей среднесуточного и относительного прироста массы тела на 5-е, 14-е, 21-е и 28-е сутки. По завершении опыта осуществляли забор крови для подсчета числа эритроцитов, лейкоцитов, определения гематокрита и концентрации гемоглобина, проводили взвешивание внутренних органов и оценивали их макроструктуру на предмет патологоанатомических изменений.

Стоит отметить, что на протяжении всего опыта гибель лабораторных крыс не была установлена ни в одной группе, после инъекций изучаемого средства животные оставались подвижными, потребляли корм и воду.

В начале проводимого эксперимента после получения результатов взвешивания установлено, что масса тела крысят в контрольной и опытной группах не имела достоверной разницы и составила 50-55 грамм (таблица 27).

Таблица 27 – Динамика массы тела и относительный прирост крысят в зависимости от введенной дозы Сфагносана (M±m; n=5)

Показатель	Экспериментальные группы			
	Интактная	1 опытная (0,1мл)	2 опытная (0,25 мл)	3 опытная (0,5 мл)
До введения Сфагносана				
Масса тела, г	55,1±2,55	54,2±2,17	53,5±1,91	53,9±2,20
5 сутки				
Масса тела, г	67,5±1,32	67,0±2,21	68,5±1,55	62,0±1,42
Среднесуточный прирост, г	1,93±0,12	1,91±0,21	2,14±0,24	1,29±0,14
14 сутки				
Масса тела, г	81,6±1,86	80,1±1,75	82,2±1,74	79,1±1,89
Среднесуточный прирост, г	1,97±0,23	1,89±0,24	2,05±0,32	1,86±0,13
21 сутки				
Масса тела, г	88,2±1,31	89,2±1,61*	92,6±1,54*	84,3±1,22*
Среднесуточный прирост, г	1,63±0,24	1,7±0,33	1,86±0,24	1,49±0,29*
28 сутки				
Масса тела, г	103,3±1,54	107,0±2,21	115,2±1,92*	91,2±1,41*
Среднесуточный прирост, г	1,76±0,34	1,91±0,49	2,2±0,49*	1,36±0,26*

Примечание: * - уровень достоверности $p \leq 0,05$

Согласно таблице 26, тенденция к стабильному увеличению живой массы на протяжении 28 суток отмечается в первой и во второй опытных группах. Так на 5 сутки проводимого эксперимента по завершении введения комплексного средства Сфагносан в первой опытной группе масса тела крыс превосходила данный показатель третьей опытной группы на 5,0 г., но по сравнению с контрольной группы данный показатель был ниже в среднем на 0,5 г. В то время как во второй опытной группе данный показатель превосходил третью группу на 6,5 г. и был выше по сравнению с контролем на 1,0 г. Относительный прирост массы тела в первой опытной группе был выше третьей на 6,5%, во второй опытной группе – на 8,9% (рис. 28).

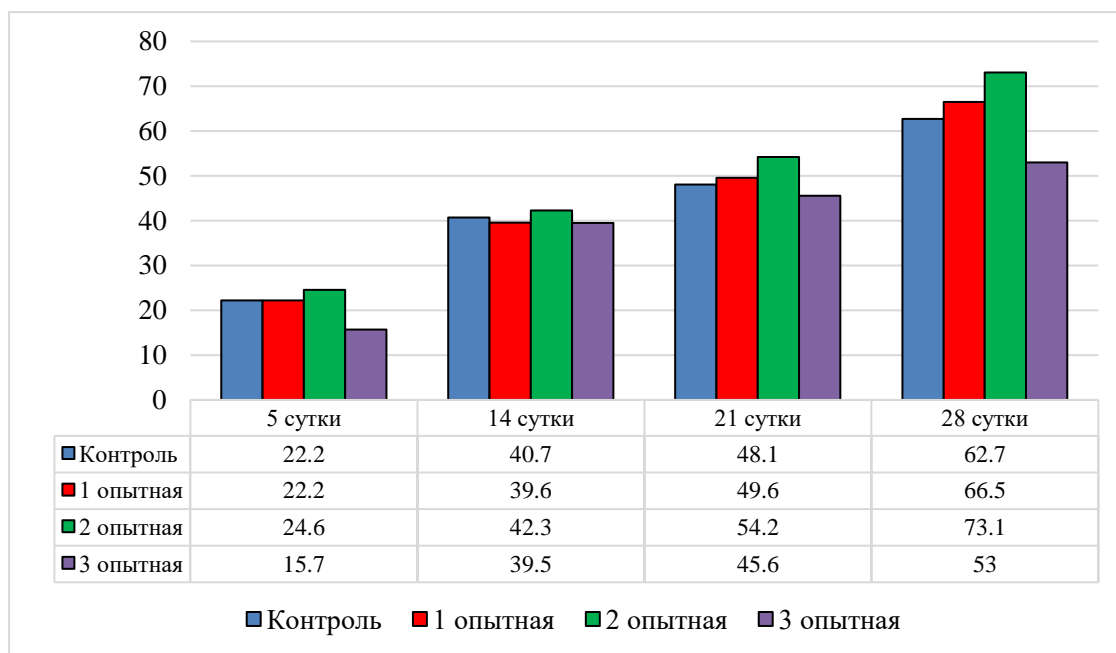


Рисунок 28 – Диаграмма относительного прироста массы тела лабораторных крыс в зависимости от введенной дозы Сфагносана, %

На 21-е сутки в первой и во второй 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 группе по отношению к первой на 1,5%.

В конце проводимого эксперимента наибольшие значения живой массы крыс, 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%.

На 28 сутки опыта с учетом голодной диеты лабораторных крыс был осуществлен забор крови для получения общего анализа крови. Стоит отметить, что разница в количестве эритроцитов между группами не была достоверно различимой, значения лейкоцитов не выходили за пределы референсного уровня во всех наблюдаемых группах. Также различные дозы введения комплексного средства Сфагносан не привели к существенным изменениям в концентрации гемоглобина. Разница показателей гематокрита между группами составила от 1,5 до 4,4% (таблица 28).

Таблица 28 – Морфологические показатели крови крысят при различных дозах Сфагносана

Группа Показатель	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

После завершения определения основных показателей крови белых нелинейных крыс была проведена визуальная оценка макроструктуры внутренних органов с определением органо-весовых коэффициентов (таблица 29).

Таблица 29 – Влияние различных доз введения комплексного средства Сфагносан на массу внутренних органов крысят ($M \pm m$; $n=5$)

Показатель	Группа			
	Контроль	1 опытная	2 опытная	3 опытная
Масса внутренних органов на 28-е сутки, г				
Печень	2,03±0,07	2,08±0,18	2,19±0,05	1,97±0,08
Органно-весовой коэффициент, %	1,97	1,94	1,9	2,16
Селезенка	0,42±0,04	0,43±0,03	0,44±0,07	0,38±0,06
Органно-весовой коэффициент, %	0,41	0,4	0,38	0,42
Легкие	0,36±0,05	0,41±0,04	0,42±0,04	0,37±0,05
Органно-весовой коэффициент, %	0,35	0,38	0,36	0,43
Сердце	0,34±0,03	0,29±0,04	0,35±0,03	0,29±0,02
Органно-весовой коэффициент, %	0,33	0,27	0,33	0,32
Почки	0,42±0,05	0,47±0,03	0,49±0,02	0,41±0,05
Органно-весовой коэффициент, %	0,41	0,44	0,43	0,45

При проведении визуальной оценки внутренних органов какие-либо патологоанатомические изменения у крысят во всех наблюдаемых группах не были выявлены. Согласно таблице 29, достоверные различия органо-весовых коэффициентов печени, селезенки, легких, сердца и почек в сравниваемых группах не установлены, следовательно, комплексное средство Сфагносан не имеет общего отрицательного воздействия на развитие внутренних органов крыс.

При анализе полученных результатов в поставленном опыте можно сделать вывод, что комплексное средства Сфагносан не приводит к угнетению массы тела молодняка белых нелинейных крыс, не вызывает гематологические изменения, а также нарушения физиологического развития внутренних органов. Оптимальными дозами введения для молодняка белых крыс массой 50-55 г. являются 0,1 мл и 0,25 мл на животное, поскольку при данных дозах введения установлены наибольшие показатели среднесуточного и относительного прироста.

2.2.6 Исследование противовоспалительных свойств Сфагносана

В данном разделе изложены результаты научных исследований, опубликованные в научной статье. Новоселов, О.Н. Изучение противовоспалительных свойств комплексного средства N-98 на лабораторных животных / О.Н. Новоселов. - Текст : непосредственный // Сборник научных работ победителей и призеров Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Минсельхоза России. - Москва : Росинформагротех. - 2023. - С. 75-80 [68].

Изучение противовоспалительных свойств комплексного средства Сфагносан проводили на модели «острого формалинового отека» левой тазовой конечности крыс путем субплантарного введения 2% водного раствора формалина [100].

В опыте использовали 32 самца лабораторных крыс, массой 200,0 – 220,0 г., из которых были сформированы четыре группы по 8 животных в каждой. Первая группа животных являлась интактной и её показатели использовали в качестве референсных значений на протяжении всего экспериментального периода. Вторая группа контрольная, где мягкие ткани нижней части стопы левой задней конечности подвергались альтерации путем введения водного раствора формалина без последующего лечения. Третьей группе крыс на фоне формалинового отека инъецировали в области бедра средство Сфагносан парентерально через каждые 48 часов в объеме 0,3 мл на одно животное, всего было сделано 4 инъекции. Четвертая группа крыс служила группой сравнения, где по аналогичной схеме вводился кетопрофен в форме Флекспрофена 2,5% в дозе 2 мг/кг, один раз в сутки в течение трех дней после введения формалина.

Выраженность воспалительного отека оценивали путем измерения толщины лапки с помощью инженерного штангенциркуля до введения раствора формалина и спустя 1, 3, 7 и 12 суток после инокуляции формалина.

Прирост объема отека рассчитывали по формуле:

$$\Pi = \left(\frac{O - И}{И} \right) \times 100\%$$

Торможение воспаления рассчитывали по формуле:

$$100\% - \left(\frac{O - И}{И} (o) : \frac{O - И}{И} (к) \right) \times 100\%$$

Для оценки тяжести альтеративных процессов был осуществлен забор крови из боковой хвостовой вены лабораторных крыс с целью подсчета общего количества лейкоцитов и выведения лейкоцитарной формулы. Взятие крови осуществляли до введения водного раствора формалина, затем на 7-е и 12-е сутки эксперимента. За 12 часов до взятия крови у крыс отнимали корм, оставляя при этом их доступ к воде.

При субплантарном введении 2% водного раствора формалина у лабораторных крыс формировался воспалительный отек в виде увеличения дистальной части конечности, в то время как у интактных крыс размер левой тазовой конечности не изменялся на протяжении всего опыта (таблица 30).

Таблица 30 – Динамика толщины конечности лабораторных крыс ($M \pm m$; $n=8$)

Группа животных	Толщина левой тазовой конечности, см				
	До введения	24 часа	72 часа	7 сутки	12 сутки
Интактная	0,34±0,11	0,34±0,15	0,34±0,15	0,34±0,13	0,34±0,12
Контроль	0,33±0,11	0,55±0,12*	0,56±0,12*	0,55±0,14*	0,45±0,03*
1 Опытная	0,32±0,21	0,53±0,23*	0,52±0,14*	0,48±0,11*	0,36±0,05
2 Опытная	0,32±0,23	0,54±0,25*	0,51±0,11*	0,46±0,14	0,35±0,17

Примечание: * $p \leq 0,05$ по отношению к показателям интактной группы, таблица составлена на основании собственных исследований

При аналогичных манипуляциях в контрольной и опытных группах наблюдали отечность мягких тканей с увеличением объема конечности по группам в среднем на 0,54 см. При этом прирост объема воспаленных тканей по сравнению с исходными данными составил в контрольной группе 66,7%, в опытных группах 65,6% и 68,8% соответственно.

Показатели толщины левой тазовой конечности крыс контрольной группы находился на прежнем уровне. У крыс первой опытной группы после введения Сфагносана данный показатель снизился на 1,9%, у второй опытной, получавшей кетопрофен парентерально, – на 5,6% по сравнению с данными первого дня опыта.

На седьмые сутки показатель прироста объема лап контрольной группы снизился на незначительное количество и составил 0,54 см, в то время как у

первой опытной группы он достиг значения 0,48 см, что по сравнению с данными контроля меньше на 11,1%. Разница в показателях прироста объема конечности опытных групп составила 4,2%.

В конце опыта прирост объема конечности крыс контрольной группы составил 0,45 см, что превышало исходные данные на 36,4%. Показатели прироста объема конечности животных опытных групп соответствовал в среднем 0,35 см.

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 (таблица 31).

Таблица 31 – Показатели прироста объема конечностей и торможения воспаления в динамике (n=8)

Группа животных	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 %

Тем самым можно сделать вывод, что парентеральное применение средства Сфагносан лабораторным крысам способствует подавлению местной воспалительной реакции. Скорость торможения воспаления средства Сфагносана отличается от скорости торможения воспаления уже известного в ветеринарной медицине кетопрофена в форме Флекспрофена 2,5% на 10%.

По результатам подсчета общего числа лейкоцитов установлено, что у лабораторных животных всех групп до включения их в эксперимент данный морфологический показатель крови не имел достоверных различий (таблица 32).

Таблица 32 – Количество лейкоцитов лабораторных крыс в динамике ($M \pm m$; $n=8$)

Группа животных	Количество лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$		
	До введения	7 сутки	12 сутки
Интактная	$11,16 \pm 0,12$	$10,49 \pm 0,12$	$11,65 \pm 0,15$
Контроль	$11,83 \pm 0,21$	$17,84 \pm 0,27^*$	$15,26 \pm 0,13^*$
1 Опытная	$12,7 \pm 0,15$	$16,83 \pm 0,11^*$	$12,61 \pm 0,12$
2 Опытная	$12,2 \pm 0,17$	$17,13 \pm 0,18^*$	$12,15 \pm 0,11$

Примечание: $*p \leq 0,05$ по отношению к показателям интактной группы, таблица составлена на основании собственных исследований

На 7-е сутки проводимого опыта у крыс контрольной и опытных групп наблюдался выраженный лейкоцитоз, что достоверно отличалось от количественного значения белых клеток крови интактной группы. Количество лейкоцитов в контрольной, 1-й опытной, 2-й опытной группах увеличилось в 1,5; 1,3 и 1,4 раза соответственно при $p \leq 0,05$.

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.

Особенности регенераторной способности воспаленных тканей отражены в таблице 33.

Таблица 33 – Лейкоцитарная формула крови лабораторных крыс в динамике (M±m; n=8)

Срок исследования, сутки	Группа	Показатель					
		Эозинофилы, %	Нейтрофилы			Лимфоциты, %	Моноциты, %
			Юные, %	Палочкоядерные, %	Сегментоядерные, %		
Исходные	Интактная	1,23±0,25		3,7±0,18	20,2±1,41	71,46±0,27	3,41±0,42
	Контрольная	1,47±0,29		3,85±0,42	21,3±1,29	69,2±2,11	4,18±0,41
	1 Опытная	1,05±0,19		3,19±0,47	22,1±1,21	68,9±3,13	4,76±0,48
	2 Опытная	1,79±0,25		2,99±0,56	19,1±1,25	72,1±1,21	4,02±0,42
7-е	Интактная	1,1±0,27		3,88±0,41	24,4±0,48	67,4±3,21	3,22±0,21
	Контрольная	1,26±0,21	1,09±0,51	6,92±0,86**	17,1±0,72**	64,21±1,22	9,42±0,43***
	1 Опытная	1,59±0,31	0,68±0,03	6,23±0,61**	24,7±1,28	61,24±2,15	5,56±1,10**
	2 Опытная	0,7±0,32	0,61±0,05	4,87±0,56*	25,1±1,05	63,2±2,01	5,52±0,72**
12-е	Интактная	1,13±0,13		4,13±0,32	22,2±1,42	68,29±3,69	4,25±0,27
	Контрольная	1,38±0,29	0,86±0,19	8,75±0,63***	14,56±1,32**	67,29±1,24	7,16±0,25**
	1 Опытная	1,36±0,21		4,23±0,32	27,54±1,64*	61,7±2,31	5,17±0,27
	2 Опытная	1,88±0,24		4,9±0,45	26,95±0,44*	60,89±3,22	5,38±0,32

Примечание: *p≤0,05; **p≤0,01; ***p≤0,001 таблица составлена на основании собственных исследований.

На 7-е сутки проводимого опыта в крови контрольной и опытных группах отмечалась увеличение количества юных, палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов по сравнению с данными интактных крыс. Уровень содержания сегментоядерных нейтрофилов опытных крыс достоверно не отличался от данных интактной группы, в то время как в контрольной установлено их снижение на 29,9%. В контрольной и опытных группах также отмечалось снижение лимфоцитов по отношению к интактной на 4,7%, 9,1% и 6,2% соответственно.

В конце проводимого опыта количество юных нейтрофилов отмечается только в контрольной группе и в среднем соответствует значению $0,86 \pm 0,19$. Содержание палочкоядерных нейтрофилов лабораторных животных, подвергшихся лечению, не имело достоверной разницы по отношению к интактной группе, в то время как количество сегментоядерных нейтрофилов крыс первой и второй опытной групп превышало значения интактной группы на 24,1% и 21,4% соответственно (при $p \leq 0,05$). Также в конце опыта отмечался моноцитоз, но в 1-й и 2-й опытных группах он был менее выражен по сравнению с контролем.

Применение комплексного средства Сфагносан на основе сырья природного происхождения сопровождается наименьшим приростом объема поврежденных тканей, поскольку имеет высокую степень торможения воспаления, а также при завершении процессов альтерации и экссудации способствует восстановлению тканевых элементов, происходит нивелировка белых клеток крови с таковыми у интактных крыс.



Рисунок 29 – левая тазовая конечность крысы интактной группы на 12-е сутки исследования



Рисунок 30 – левая тазовая конечность крысы контрольной группы на 12-е сутки исследования



Рисунок 31 – левая тазовая конечность крысы первой опытной группы на 12-е сутки исследования



Рисунок 32 – левая тазовая конечность крысы второй опытной группы на 12-е сутки исследования

2.2.7 Производственная апробация комплексного средства Сфагносан при неспецифической бронхопневмонии телят

В данном разделе изложены результаты научных исследований, опубликованные в научной статье. 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 [69].

Предварительные клинические испытания комплексного средства Сфагносан проводили в ООО «Борнак» Балтасинского района Республики Татарстан на клинически больных неспецифической бронхопневмонией телятах черно-пестрой породы в нескольких сериях опытов, где одной из используемых доз Сфагносана являлась доза 0,2 мл/кг с целью снижения его большого расхода для крупных животных.

Для изучения терапевтической эффективности комплексного средства Сфагносан были отобраны 3 группы телят в возрасте 3-х месяцев, живой массой в среднем $90,5 \pm 0,4$ кг, по 8 животных в каждой. Лечение телят по схемам, представленным ниже, начинали после постановки диагноза неспецифическая бронхопневмония. Зоогигиенические условия содержания животных при этом были идентичными.

В терапии телят контрольной группы использовали внутримышечные инъекции антибактериального препарата Флоридокс в дозе 12,0 мл (50 мг на 7,5 кг живой массы) 1 раз в сутки на протяжении 10 дней, а также витаминного комплекса Элеовит в дозе 2,0 мл на животное 1 раз в 7 дней. В свою очередь телятам опытной группы дополнительно к выше описанным препаратам внутримышечно вводили комплексное средство Сфагносан в дозе 0,2 мл/кг 1 раз в сутки на протяжении 5 дней. Третья группа являлась

интактной и служила источником референсных значений общих и биохимических показателей крови.

Терапевтическую эффективность испытуемого средства оценивали путем сравнения сроков постепенного исчезновения клинических симптомов неспецифической бронхопневмонии в разных группах, сроков полного клинического выздоровления телят.

При включении животных в опыт клиническая картина была идентичной в контрольной и опытных группах: общее состояние оценивалось как угнетенное, пищевая возбудимость слабовыражена, отмечались малоподвижность животных, взъерошенность шерстного покрова, температура тела превосходила верхние границы физиологической нормы на 0,5-1,0 °С, регистрировалось учащенное дыхание брюшного типа, истечения из носовых ходов серозно-катарального или катарального характера, а также частый и сухой кашель, жесткое везикулярное дыхание и хрипы при аускультации грудной клетки. На основании данных клинических признаков диагностировалась острая катаральная бронхопневмония.

Путем регулярных клинических осмотров с применением термометрии установлено, что температура тела телят с расстройствами функций органов дыхания в контроле соответствовала значению $40,1 \pm 0,17^\circ\text{C}$, в опыте – $40,13 \pm 0,13^\circ\text{C}$ (рис. 33). Согласно научным трудам [56, 98] острая форма бронхопневмонии телят часто сопровождается повышением их температуры тела.

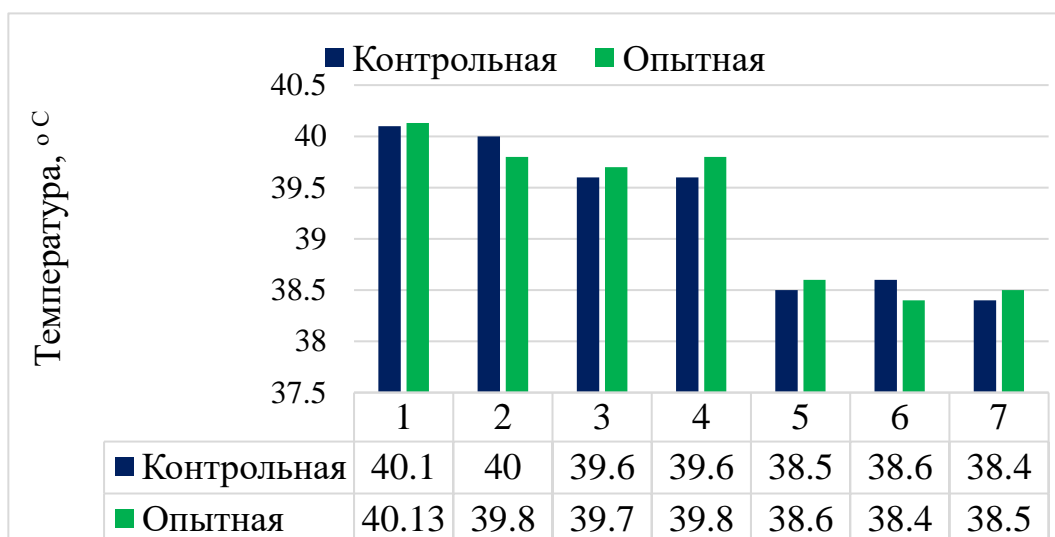


Рисунок 33 – Динамика температуры тела телят контрольной и опытной групп (°С)

Увеличение частоты сердечных сокращений, как одного из клинических признаков неспецифической бронхопневмонии, является результатом расстройства работы сердечно-сосудистой системы [19; 36; 62; 63]. Данные показатели также были повышены у телят в контрольной группе ($123,3 \pm 3,2$ ЧСС/мин) и в опытной ($118,4 \pm 3,6$ ЧСС/мин) (рис. 34).

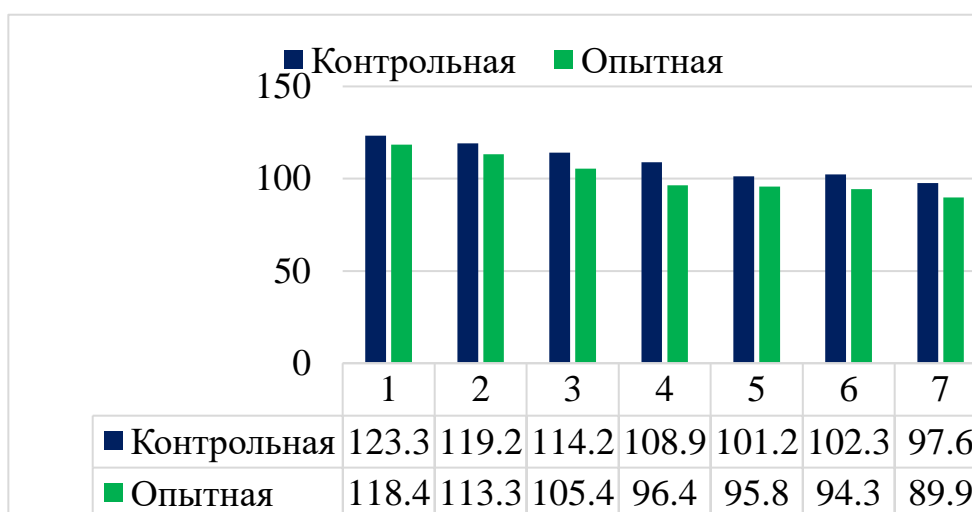


Рисунок 34 – Динамика показателей частоты сердечных сокращений телят контрольной и опытной групп (ЧСС/мин)

Частота дыхательных движений, как важный клинический показатель работы всей дыхательной системы телят, в обеих группах также претерпевало значительные изменения. В связи с развившейся гипоксией организма вследствие затрудненного дыхания ЧДД превышало референсные значения на 10,2% и 12,3% соответственно по группам при $p \leq 0,05$ (рис. 35).

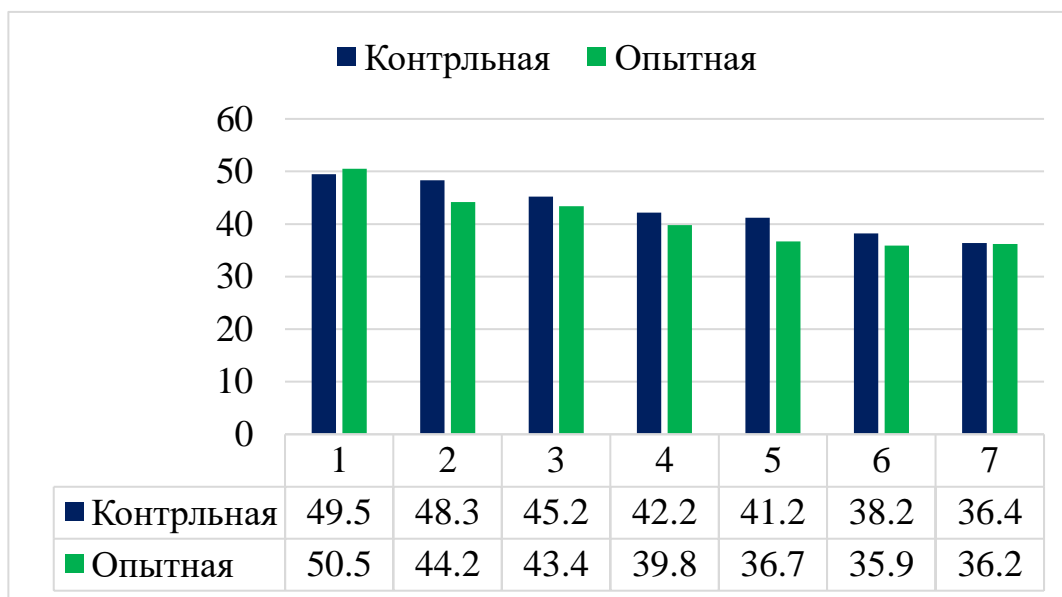


Рисунок 35 – Динамика показателей дыхания телят контрольной и опытной групп (дых.дв./мин)

При ежедневном клиническом осмотре телят, больных острой бронхопневмонией, установлено, что применение данных схем лечения способствовало их клиническому выздоровлению, но сроки исчезновения и полного отсутствия симптоматики по группам различались. Так в опытной группе, где дополнительно к основной схеме лечения внутримышечно вводилось разработанное средство, уже на четвертые сутки эксперимента у телят отмечались повышенный интерес к корму и воде, слабовыраженный кашель, но заметные серозно-катаральные или катаральные истечения из носового зеркала, мелкопузырчатые хрипы при аускультации. В контрольной

группе, где внутримышечно вводили только Флоридокс и Элеовит, основная симптоматика острой бронхопневмонии была также выражена.

На седьмые сутки в опытной группе у двоих от общего числа телят отсутствовали истечения из носовых ходов, при аускультации грудной клетки хрипы были слабо выражены. В целом телята по данной группе охотно потребляли корм и воду. В контрольной группе клинические симптомы оставались без изменений, за животными было продолжено наблюдение.

В опытной группе полное отсутствие клинических симптомов болезни отмечали у 6 телят на 9-е сутки, еще у двух – на 10 сутки проводимого опыта. В то время как в контроле общефизиологическое состояние телят полноценно нормализовалось у одного теленка на 9 сутки, у двух на 10 день наблюдений, ещё один теленок выздоровел на 11 сутки. Отсутствие симптомов болезни у оставшихся четырех животных регистрировали на 12 сутки от начала лечения.

Продолжительность терапии телят опытной группы в среднем составила 9,3 суток, в контроле – 11 суток. Клиническое выздоровление телят при использовании Сфагносана произошло на 1,7 суток раньше, чем у аналогов при применении только антибактериального препарата Флоридокс и витаминного комплекса Элеовит. Следовательно, комплексное средство Сфагносан в дозе 0,2 мл/кг способствует выздоровлению животных с воспалительной патологией дыхательной системы, обладает терапевтической эффективностью.

Для изучения влияния комплексного средства Сфагносан на организм телят, больных бронхопневмонией, был осуществлен забор крови после постановки диагноза и в конце проводимого опыта. Изучены морфологический и биохимический состав крови и выведена лейкоцитарная формула. Сравнительную диагностику полученных результатов проводили относительно клинически здоровых (интактных) телят.

Таблица 34 – Общий анализ крови телят в динамике ($M \pm m$; $n=8$)

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

Согласно таблице 34, в начале проводимого эксперимента установлены снижения общего количества эритроцитов, гемоглобина и гематокрита у телят, больных острой бронхопневмонией, по сравнению со значениями здоровых животных. 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.

В таблице 35 приведены данные лейкоцитарной формулы телят в динамике. Согласно полученным результатам, до начала проводимого лечения в контрольной и опытной группах отмечаются повышенное процентное содержание эозинофилов в 3,5 и 3,3 раза, палочкоядерных нейтрофилов в 3,8 и 4 раза соответственно относительно клинически здоровых (интактных) телят. В крови больных животных выражен моноцитоз: процентное содержание моноцитов в контроле выше данного показателя здоровых животных на 72,3%, а в опытной группе – на 93,6%.

На 12-е сутки при клиническом выздоровлении телят процентное содержание эозинофилов и лимфоцитов были приближены к таковым интактных животных. Но установлены процентное повышение сегментоядерных нейтрофилов у телят контрольной группы на 17,1% и опытной группы на 20,7%, моноцитов – на 40,5% и 47,6% соответственно (при $p \leq 0,05$) относительно показателей телят интактной группы, что может быть связано с активацией моноцитарно-макрофагальной системы организма.

Таблица 35 – Лейкоцитарная формула крови телят в динамике (M±m; n=8)

Срок исследования, сутки	Группа	Показатель					
		Эозинофилы, %	Нейтрофилы			Лимфоциты, %	Моноциты, %
			Юные, %	Палочкоядерные, %	Сегментоядерные, %		
Исходные	Интактная	0,8±0,51		3,1±0,31	18,5±2,85	72,9±2,93	4,7±0,42
	Контрольная	2,8±0,11***		11,8±0,63**	16,1±1,02	61,2±1,37*	8,1±0,36**
	Опытная	2,6±0,67***		12,3±0,46**	15,7±1,49	60,3±1,84*	9,1±0,55**
12-е сутки	Интактная	0,9±0,07		4,1±0,41	19,3±0,79	71,5±4,12	4,2±0,31
	Контрольная	1,3±0,13*		3,9±0,45	22,6±1,36	66,3±2,66	5,9±0,12*
	Опытная	1,1±0,21		4,3±0,45	23,3±1,05*	65,1±3,13	6,2±0,44*

Примечание: *p≤0,05; **p≤0,01; ***p≤0,001 – по отношению к значениям интактной группы

Таблица 36 – 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

Биохимический анализ крови отражает функциональную способность организма. В таблице 36 отражены биохимические показатели сыворотки крови телят с целью изучения влияния комплексного средства Сфагносан на их организм при лечении неспецифической бронхопневмонии.

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.

В отношении фракционного 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 контрольной и опытной группах 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 [37].

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 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 переболевших телят, дополнительно получавших комплексное средство Сфагносан, не выявлено его токсическое воздействие на их организм, поскольку какие-либо отклонения основных биохимических показателей равнозначны с таковыми у телят контрольной группы. Изменения в метаболической работе печени телят в первую очередь связано с перенесенной неспецифической бронхопневмонией.

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.

Решение данной проблемы не может быть выполнено без фармако-токсикологической оценки новых разработанных средств, что и было произведено для комплексного средства Сфагносан.

Комплексное средства Сфагносан представляет из себя коричневую жидкость со специфическим запахом, полученную из пиролизатов мха сфагнума и гриба трутовика окаймленного с последующим их кислотно-щелочным гидролизом.

Исследования токсикологической безопасности разработанного средства было начато с определения параметров острой токсичности как отдельных компонентов, так и самого комплексного средства при внутрижелудочном и внутримышечном способах введения лабораторным мышам и крысам в максимально допустимых дозах, согласно методическим указаниям [53]. В результате проводимых экспериментов по исследованию острой токсичности повреждающее действие Сфагносана не установлено. Согласно ГОСТ 12.1.007-76, комплексное средство Сфагносан относится к веществам малоопасным.

Расчет коэффициента кумуляции является одним из ключевых моментов всесторонней доклинической экспертизы нового лекарственного средства с целью выявления его повреждающего действия на организм животного в целом или на его отдельные внутренние органы. Для этого была проведена серия опытов, в которых комплексное средство Сфагносан вводилось внутримышечно в возрастающих дозах лабораторным крысам на протяжении 28 дней. В конце опытов установлено, что коэффициент кумуляции составил 12,76, что превосходит коэффициент кумуляции 5, следовательно, испытуемое средство, согласно Л.И. Медведь и соавторам в модификации Б.И. Люблиной, не обладает кумулятивными свойствами [46]. При этом макроструктура внутренних органов крыс опытной группы не отличалась от контроля. Органно-весовые коэффициенты внутренних органов крыс, где испытывалось разработанное средство, не имели достоверной разницы по отношению к контролю.

При внутримышечном введении разработанного средства в различных установленных дозах на протяжении одного месяца был получен разнонаправленный характер. Стоит отметить, что длительное введение Сфагносана в дозе, в пять раз превышающей условно-терапевтическую (2,5 мл на одну крысу), приводит к отрицательному абсолютному приросту массы тела (-0,9%), к очаговым изменениям печени, а также к изменениям в морфологическом составе крови (эритропения, снижение концентрации гемоглобина, и повышение значения СОЭ), в функциональной работе печени (завышение трансаминаз, общего билирубина, холестерина, снижение общего белка и альбуминов).

Опытным путем доказано, что при местном нанесении комплексного средства Сфагносан на заранее выстриженный участок кожи и на конъюнктиву глазного яблока и век не вызывает раздражающего эффекта.

Помимо этого, важным звеном исследований специальной токсической безопасности является определение аллергизирующих свойств разработанного средства. При проведении серии опытов установлено, что при внутривенном введении сенсibiliзирующей дозы комплексного средства Сфагносан и в 10 раз ее превышающей у лабораторных мышей отсутствуют признаки анафилактического шока. Опыты по изучению активной кожной анафилаксии разработанного средства также устанавливают отсутствие отрицательных реакций у подопытных мышей.

Новые лекарственные средства могут отрицательно воздействовать не только на организм взрослых животных, но и на их потомство как во время беременности, так и после родов. Поэтому важно проводить исследования по изучению эмбриотоксических и тератогенных свойств. При проведении данных опытов установлено, что длительное внутримышечное введение комплексного средства Сфагносан не вызывает общую эмбриональную смертность, показатели репродуктивной способности самок белых крыс, параметры плодов и плацент, число и характер аномалий, показатели постнатального развития потомства не имели достоверных различий при сравнительной оценке с контролем.

После завершения изучения токсической безопасности были проведены исследования фармакологической активности разработанного средства Сфагносана, но прежде всего была выбрана его оптимальная доза введения лабораторным животным. По результатам среднесуточного и относительного прироста массы тела, по показателям морфологического состава крови и органо-весовому коэффициенту установлено, что наиболее оптимальными дозами внутримышечного введения являются 1/20 и 1/50 дозы от максимально использованной в остром опыте.

Фармакологическая активность, а именно противовоспалительные свойства, комплексного средства Сфагносан изучалась на модели

«формалинового отека» мягких тканей дистальной части левой тазовой конечности лабораторных крыс. Благодаря фенольным соединениям, входящим в мох сфагнум, как одному из компонентов Сфагносана, и другим биологически активным веществам трутовика окаймленного 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.

Производственная апробация заключалась в определении эффективности разработанного средства Сфагносан в комплексной терапии неспецифической бронхопневмонии телят. При одновременном введении антибиотика широкого спектра действия, витаминного комплекса и разработанного средства выздоровление телят наступало на 1,7 суток раньше, чем при использовании только данного антибиотика и витаминов. Это подтверждается результатами клинического осмотра. Помимо этого было изучено влияние комплексного средства Сфагносан на организм телят. По результатам общего анализа крови установлено восстановление морфологического состава, а по результатам биохимического анализа крови телят, подвергшихся комплексному лечению, - прямые нежелательные реакции на функциональную способность их организма не выявлены.

На основании полученных результатов сформированы 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. На этапе доклинических исследований LD_{100} и LD_{50} не установлены, и согласно ГОСТ 12.1.007-76 относится к IV классу опасности – вещества малотоксичные. Комплексное средство Сфагносан не обладает кумулятивными свойствами, параметрами хронической токсичностью, аллергизирующими и местно-раздражающими свойствами, а также 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. Комплексное средство Сфагносан рекомендовано использовать в 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 и семинарских занятий по дисциплинам, непосредственно связанным с ветеринарной фармакологией и токсикологией, с терапии сельскохозяйственных животных, а также на курсах повышения квалификации ветеринарных специалистов профильных ВУЗов.

СПИСОК СОКРАЩЕННЫХ ТЕРМИНОВ

АЛТ – аланинаминотрансфераза;

АОЗ – антиоксидантная защита;

АСТ – аспартатаминотрансфераза;

БАВ – биологически активные вещества;

В/м – внутримышечная инъекция;

ВАК – Высшая аттестационная комиссия;

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения;

г – грамм;

ГАУ – Государственный аграрный университет;

др. – другие;

дых.дв./мин – дыхательные движения в минуту;

$K_{\text{кум}}$ – коэффициент кумуляции;

кг – килограмм;

КГАВМ – Казанская государственная академия ветеринарной медицины;

КМ РТ – Кабинет министров Республики Татарстан;

ЛД₅₀ – среднесмертельная доза;

ЛДГ – лактатдегидрогеназа;

мг – миллиграмм;

мг/кг – миллиграмм на килограмм;

мл – миллилитр;

ПОЛ – перекисное окисление липидов;

НПВС – нестероидные противовоспалительные средства;

ООО – общество с ограниченной ответственностью;

руб. – рубли;

СМП – среднемолекулярные пептиды;

СОЭ – скорость оседания эритроцитов;

сут. – сутки;

с.-х. – сельскохозяйственный;

ФГБОУ ВО– Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования;

ЧСС – число сердечных сокращений;

n – число животных в группе;

pH– водородный показатель.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамов, В.Е. Азитронит – новый макролид при респираторных заболеваниях у свиней /В.Е. Абрамов, А.В. Балтышев, М.И. Сафарова. - Текст : непосредственный // Ветеринария. - 2017. - №2. - С.11-14.

2. Абрамов, В.Е. Лексофолон - новое средство лечения телят при респираторных болезнях / В.Е. Абрамов, А.В. Балтышев, Л.М. Кошкловская, М.И. Сафарова. - Текст : непосредственный // Ветеринария. - 2017. - №2. - С.11-14.

3.Автономова, А.В. Полисахариды базидиомицетов: зависимость активности от структуры и практическое использование / А.В. Автономова, А.Р. Карапетян, М.С. Котелев. – Текст : непосредственный // Башкир. хим.журнал, 2011. - Том 18. - 32 с.

4. Аксенова, В.М. Применение лимфотропного введения бициллина-3 при лечении телят больных бронхопневмонией различной степени тяжести /В.М. Аксенова, Н.Б.Никулина, С.В.Гурова. - Текст : непосредственный // Естествознание и гуманизм: Сб. науч. работ СГМУ.- Томск, 2006. -№ 2.- Т.3.- С.74-75.

5. Аксенова, В.М. Структурно-метаболические нарушения в эритроцитах и возможность их коррекции при бронхопневмонии у телят. - Текст : непосредственный. -Текст : непосредственный / В.М. Аксенова, Н.Б.Никулина //Сельскохозяйственная биология.- 2007.- № 4. - С. 113-118.

6. Алейников О. А. Доктор сфагнум / О.А. Олейников. - Текст : непосредственный // Жизнь цветов. – 2008. – № 10. – С. 4.

7. Анализ органических лекарственных препаратов по функциональным группам: учебно-методическое пособие / А.Ю. Петров и др. - Текст : непосредственный // Уральский государственный медицинский университет, Кафедра фармации. - Екатеринбург, 2016. - 55 с.

8. Бабешина, Л.Г. История и перспективы применения сфагновых мхов в медицине / Л. Бабешина, Н. Келус, М. Котляр. – Текст : непосредственный // Врач. – 2016. – № 12. – С. 31-33.

9. Бабешина, Л. Г. Сфагновые мхи Западно-Сибирской равнины: морфология, анатомия, экология и применение в медицине :специальность 03.02.01 «Ботаника» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук / Л. Г. Бабешина ; Сибирский государственный медицинский университет. - Томск, 2011. - 35 с.- Текст : непосредственный.

10. Бабицкая, В.Г. Биологически активная добавка к пище. / В.Г. Бабицкая, А.Г. Лобанков,Л.В. Пленина. – Текст : непосредственный // Успехи медицинской микологии, 2015. –359 с.

11. Бадалян, С.М. Химическое и фармакологическое исследование высших грибов / С.М. Бадалян. – Текст : непосредственный // Микология и фитопатология, 1996. –Т. 30. - 86 с.

12. Байтлесов, Е.У. Сравнительная терапевтическая эффективность антибактериальных препаратов Нитокс форте, тетрациклина гидрохлорид и бициллин 3 при бронхопневмонии телят / Е. У. Байтлесов, М. Е. Куспанов // Ғылым және білім / Наука и образование. - 2022. - № 2 приложение №1. - С. 307-315. - ISSN 2305-9397. - Текст : непосредственный.

13. Бейли, Дж. Основы биохимической инженерии / Дж. Бейли, Д. Оллис. –М.:1. Мир, 1989. - 356 с. – Текст : непосредственный.

14. Белова, Н. В. Природа биологической активности высших грибов / Н.В. Белова. – Текст : непосредственный // Успехи медицинской микологии, 2006. - Т. 1. - 230 с.

15. Белова, Н.В. Современные направления исследования и методы анализа макромицетов / Н.В. Белова. – Текст : непосредственный // Совр. микол. в России , 2008. –107 с.

16. Бисько, Н.А. Высшие базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре. / Н.А. Бисько, А. С. Бухало. - Киев: Наук.думка, 1983. - 312 с.- Текст : непосредственный.

17. Блинов, Н. П. Химия микробных полисахаридов; учеб.пособ. для вузов по спец. биология / Н.П. Блинов. - М.:Высшаяшкола, 1984. - С.256. – Текст : непосредственный.

18. Бондырева, Н.М. Особенности биосинтеза внеклеточных протеиназ *Proteus mirabilis* / Н.М. Бондырева, М.В. Ломоносова. – Текст : непосредственный // Биологическиактивные вещества микроорганизмов: прошлое, настоящее, будущее, 2011. – 21 с.

19. Бронхопневмония: причины, симптомы / М. С. Гринченко, М. S. Grinchenko, В. М. Жуков, V. M. Zhukov. - Текст : непосредственный // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2021. - № 8 (202). - С. 66-69. - ISSN 1996-4277.

20. Варфоломеев, С.Д. Биокинетика ; учеб.пособие для вузов по спец. Биология / С.Д. Варфоломеев, К.Г. Гуревич. - М.: Пранд., 1999. -14 с. – Текст : непосредственный.

21. Владимиров, Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. - М.: «Наука», 1972.-252 с. - Текст : непосредственный.

22. Внутренние болезни животных. Для ссузов / Г. Г. Щербаков, А. В. Яшин, С. П. Ковалев, С. В. Винникова ; Под ред.: Щербаков Г. Г. - 8-е изд., стер. - Санкт-Петербург : Лань, 2023. - 496. - ISBN 978-5-507-46775-4. - Текст : непосредственный

23. Воронин, Е.С. Иммунология / Е.С. Воронин, А.М. Петров, М.М. Серых, Д.А. Дервишов. - М.: Колос-Пресс, 2002. - 408 с. - Текст : непосредственный.

24. Воробьева, Е. В. Антиокислительные свойства экстрактов трутовика окаймленного *Fomitopsis pinicola* в составе полиэтиленовых пленок / Е. В. Воробьева. - Текст : непосредственный // Химия растительного сырья. - 2023. - № 2. - С. 143-151.

25. Гараев И.Х., Мусин И.Н., Зенитова Л.А. Антисептические перевязочные материалы на основе сфагнома / И.Х. Гараев, И.Н. Мусин, Л.А. Зенитова. - Текст : непосредственный// Бюллетень медицинской науки. - 2019. - № 1. - С.8-13.

26. Глотов, А.Г. Этиология бронхопневмоний крупного рогатого скота на молочных комплексах /А.Г Глотов, Т.И Глотова, О.В. Семенова, К.В. Войтова // Ветеринария. - 2014.- №4.- С.7-10. - Текст : непосредственный.

27. Горленко, М.В. Жизнь растений; учеб.пособ. для вузов биол. направления / М.В. Горленко. - М.: Просвещение, 1976. - Т. 2. - 11 с. - Текст : непосредственный.

28. ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. - М.: Стандартиформ, 2007. - 10 с. - Текст : непосредственный.

29. Григорьев, А.В. Совершенствование этиотропной терапии острого бронхита телят/А.В. Григорьева, С.В. Новикова, В.Е. Абрамов, Е.В. Глухарева и др. - Текст : непосредственный // Ветеринария.-2015.-№5.- С.17-20.

30. Денисова, Н.П. Природа и биологическая роль протеиназ базидиальных грибов / Н.П. Денисова. - Текст : непосредственный // Микология и фитопатология, 1984. - №18. - 116 с.

31. Дерягина, В.П. Экспериментальное изучение функциональной активности нейтрофилов и макрофагов в условиях воздействия нитрита натрия / В.П. Дерягина. – Текст : непосредственный // Биомедицинская химия, 2003. - Т. 49. - 19 с.

32. Дмитриева, Т.А. Изучение молокосвертывающих ферментов высших базидиальных грибов / Т.А. Дмитриева, А.В. Корчмарева, М.М. Шамцян. - Текст : непосредственный // Моск.междунар. конгр.«Биотех.: сост. и перспек. развития», 2007. - 163 с.

33. Дудка, И.А. Справочник миколога и грибника / И.А. Дудка, С.П. Вассер. - Киев: Наукова думка, 1987. - 536 с. - Текст : непосредственный.

34. Дьяконова, Г. В. Исследование некоторых физико-химических свойств молокосвертывающих ферментов вешенки обыкновенной: специальность 03.01.04 «Биохимия»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Г.В. Дьяконова ; Кубанский государственный аграрный университет. - Ростов–на–Дону, 2010.- 44 с. - Текст : непосредственный.

35. Золотарев, А.И. Диагностика дыхательной недостаточности у телят / А.И. Золотарев, А.Е. Черницкий, А.М. Самотин, М.И. Рецкий // Ветеринария.- 2014. - №6. - С.46-49. - Текст : непосредственный.

36. Ильясова, З. З. Динамика морфологических и биохимических показателей крови телят при бронхопневмонии / З. З. Ильясова. - Текст : непосредственный // Инновации и достижения в сельском хозяйстве: Материалы III Всероссийской национальной научно-практической конференции, Киров, 21 декабря 2021 года / Вятский государственный агротехнологический университет. - Киров, 2022. - С. 77-79.

37. Иммунобиохимические показатели крови больных бронхопневмонией телят / Л. Ю. Топурия, L. Y. Toruḡia, Г. М. Топурия, G. M. Toruḡia. - Текст : непосредственный // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. - 2023. - № 2 (100). - С. 178-182. - ISSN 2073-0853.

38. Исследование экстракта мха сфагнума, произрастающего на территории ХМАО-Югры, выделенного бензиловым спиртом / А. А. Пименова, Н. В. Самохвалова, И. В. Ананьина [и др.]. - Текст : непосредственный // Химия

и современность : сборник научных статей, Чебоксары, 21 мая 2015 года / ФГБОУ ВПО "Чувашский государственный педагогический университет им. И. Я. Яковлева". - Чебоксары: отдел полиграфии ФГБОУ ВПО «Чувашский государственный педагогический университет им. И. Я. Яковлева», 2015.

39. Киселенко, П. Комплексное лечение бронхопневмонии телят / П. Киселенко, С. Ковалев - Текст : непосредственный // Ветеринария сельскохозяйственных животных. - 2022. - № 3. - С. 26-29.

40. Кишкун, А.А. Значение средних молекул в оценке уровня эндогенной интоксикации. - Текст : непосредственный / А.А. Кишкун, А.С. Кудинова, А.Д. Офитова, Р.Б. Мишурина // Военно-медицинский журнал. - 1990. - № 2 .- С. 41-44.

41. Костромина Е.О., Чхенкели В.А. Перспективы использования препаратов на основе грибов-ксилотрофов в онкологии. – Текст :непосредственный // Современные проблемы и перспективы развития АПК. 2014. - С. 43–48.

42. Кудашкина Н.В. Фитохимический анализ: учеб.пособие / Н.В. Кудашкина, С.Р. Хасанова, С.А. Мещерякова. - Уфа: ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, 2019. - 144 с. - Текст : непосредственный.

43. Кудрявцева А., Панфилова Ю. Н. Сфагнум как лекарство/ А. Кудрявцева, Ю.Н. Панфилов. - Текст : непосредственный// Исторический опыт медицины в годы Великой Отечественной войны 1941-1945 г.г. Материалы X Всероссийской конференции с международным участием «Исторический опыт медицины в годы Великой Отечественной войны 1941– 1945 гг.». - М.: МГМСУ, 2014. - С.123-125.

44. Лебедева, Г.В. Выделение и характеристика фермента сычужного действия из плодовых тел вешенки обыкновенной / Г.В. Лебедева, М.Т. Проскураков, М.А. Кожухова. – Текст : непосредственный // Пищевая химия, 2008. - №1. - 114 с.

45. Магомедов, М.З. Структурно-функциональные изменения в органах дыхания у телят при бронхопневмонии / Магомедов М.З., Сулейманов С.М. // Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных: Мат. междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рожд. проф. Авророва А.А., Воронеж, 2006. - С.154-156.

46. Медведь, Л.И. Пестициды и проблема здравоохранения / Л.И. Медведь, Ю.С. Каган, Е.И. Спыну. - Текст : непосредственный // Журнал Всесоюзного химического общества. - 1968. - Т.8 - №3. - С. 263-271.

47. Медетханов, Ф. А. Влияние Нормотрофина на осмотическую резистентность эритроцитов телят-гипотрофиков с сопутствующей патологией органов дыхания / Ф. А. Медетханов, И. Г. Галимзянов, Ф. К. Каримов. - Текст : непосредственный // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2014. - Т. 217, № 1. - С. 156-160.

48. Медетханов, Ф.А. Гематологические показатели телят, больных бронхопневмонией, при включении в схему лечения комплексного средства Бронхелп / Ф. А. Медетханов, Э. С. Яруллина, З. Ф. Аухадиева, О. В. Новоселов. - Текст : непосредственный // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2020. - Т. 244, № 4. - С. 116-120.

49. Мельникова, Н.В. Сравнительная эффективность гентамицина и энроксила при бронхопневмонии телят / Н.В. Мельникова, Л.В. Ческидова, О.В. Кутняхова // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. — 2018. — № 1. — С. 92-97. — ISSN 2071-2243. — Текст : непосредственный

50. Мельникова, Н.В. Сравнительная эффективность пневмостопа и оксилонга при бронхопневмонии телят / Н.В. Мельникова, Л.В. Ческидова // Ученые записки учреждения образования "Витебская ордена "Знак почета" государственная академия ветеринарной медицины". - 2018. - № 4. - С. 90-93. - ISSN 2078-0109. - Текст : непосредственный.

51. Методы фармакогностического лекарственного растительного сырья. Химический анализ: учебное пособие / Калинкина Г.И., Сальникова Е.Н., Исайкина Н.В., Коломиец Н.Э. - Ч.2. - Томск: СибГМУ, 2008. - С. 33-36. - Текст : непосредственный.

52. Миколайчик И.Н., Морозова Л.А. Инновационные подходы к использованию кормов и добавок в животноводстве/ И.Н. Миколайчик, Л.А. Морозова. - Курган: Курганская ГСХА им. Т.С. Мальцева, 2020. - С.190. - Текст : непосредственный

53. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А.Н. Миронов. - Москва: Гриф и К, 2012. - 944 с. - Текст : непосредственный.

54. Молчанов А.Г. Газообмен сфагнома при различных уровнях поверхностных грунтовых вод / А.Г. Молчанов.- Текст : непосредственный // Экология. - 2015. - № 3. - С. 182-188.

55. Надлежащая лабораторная практика: Технический кодекс установившейся практики (ТКП) 125 - 2008 (02040). Утвержден постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 28.03.2008 г. №56. - 39 с. - Текст : непосредственный.

56. Незаразная патология крупного рогатого скота в хозяйствах с промышленной технологией: учебное пособие для вузов / А.В. Яшин, Г.Г. Щербаков, И.И. Калюжный [и др.]; под общей редакцией А.В. Яшина. - 2 изд., стер. - Санкт-Петербург: Лань, 2023. - 172-176 с. - Текст : непосредственный.

57. Неспецифическая бронхопневмония телят : учебное пособие / Н.Б. Никулина, С.В. Гурова, В.М. Аксенова; М-во с.-х. РФ, федеральное гос. бюджетное образов. учреждение высшего образов. «Пермский гос. аграрно-технолог. ун-т им. акад. Д.Н. Прянишникова». -Пермь : ИПЦ «Прокрость», 2017. - С. 32-40. - ISBN 978-5-94279-369-2. -Текст : непосредственный.

58. Нечаев, А. П. Пищевая химия: учеб.-метод. пособие / А. П. Нечаев. - СПб: ГИОРД., 2003. -129 с. - Текст : непосредственный.

59. Никулина, Н.Б. Антиоксидантная защита в крови телят больных бронхопневмонией /Н.Б. Никулина, В.М. Аксенова. - Текст : непосредственный // Повышение эффективности лечения и профилактики акушерско-гинекологических заболеваний и биотехники размножения животных: Материалы Междунар. науч.- практ. конф.- Киров, 2005.- С. 114-115.

60. Никулина, Н.Б. Диагностическая эффективность лабораторных тестов определения гемостаза у телят с бронхопневмонией разной степени тяжести / Н.Б.Никулина, С.В. Гурова, В.М. Аксенова. - Текст : непосредственный // Аграрный вестник Урала. - 2010 - № 5 (71). - С.62-64.

61. Никулина, Н.Б. Клинико-иммунологическая характеристика телят при бронхопневмонии разной степени тяжести / Н.Б. Никулина, В.М. Аксенова. - Текст : непосредственный // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. - 2011. - № 11-12. - С.78-84.

62. Никулина, Н.Б. Неспецифическая бронхопневмония телят: учебное пособие / Н.Б. Никулина, С.В. Гурова, В.М. Аксенова; М-во с.-х. РФ, федеральное гос. бюджетное образов.учреждение высшего образов. «Пермский гос. аграрно-технолог. ун-т им. акад. Д.Н. Прянишникова». - Пермь: ИПЦ «Прокрость», 2017 - 25 с. - Текст: непосредственный.

63. Никулина, Н.Б. Оценка риска возникновения бронхопневмонии телят в Пермском крае / Н.Б. Никулина, С.В. Гурова. - Текст : непосредственный // Передовые технологии в животноводстве: Материалы Всеросс. науч.-практ. конф. в рамках провед. 70-летия каф. кормл. с/х живот. Башкирского ГАУ. - Уфа, 2008. - С.137-139.

64. Никулина, Н.Б. Оценка функционального состояния иммунной системы у здоровых телят в хозяйствах Пермского края / Н.Б.Никулина,

С.В.Гурова, В.М.Аксенова. - Текст : непосредственный // Ученые записки КАВМ.- 2011.- Т. 208.- С. 30-35.

65. Никулина, Н.Б. Оценка эффективности препарата «Фоспренил» при внутримышечной и лимфотропной терапии энрофлоксомбронхопневмонии телят/ Н.Б. Никулина, В.М. Аксенова. - Текст : непосредственный // Ветеринарный врач. - 2010 -№ 4.- С.41-43.

66. Новоселов О.Н. Доклиническая оценка комплексного средства «N-98» на белых мышях / 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.

67. Новоселов О.Н. Изучение параметров хронической токсичности комплексного средства N-98 / О.Н. Новоселов, Ф.А. Медетханов [и др.] . - Текст : непосредственный // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2023. - Т. 255. – № 3. - С. 248-251.

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

69. Новоселов О.Н. Эффективность лечения телят, больных неспецифической бронхопневмонией, при использовании комплексного средства Сфагносан / О.Н. Новоселов. - Текст : непосредственный // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2024. - Т. 259. - № 3. - С.

70. Носов А.И., Сыроева М.А., Гревцев В.А., Халитов Ф.Г. Исследование физико-химических свойств хромогенных комплексов трутовиков плоского и

окаймленного. – Текст : непосредственный // Химия растительного сырья, 2013. - №3. - С. 195-200.

71. Общая фармакология : учебное пособие для вузов / М.И. Рабинович, Г.А. Ноздрин, И.М. Самародова, А.Г. Ноздрин ; под общ. ред. М.И. Рабиновича. - 3-е изд., стер. - Санкт-Петербург : Лань, 2022. - С. 235-262. - Текст : непосредственный.

72. Огородникова, П. С. Анализ мха сфагнома (*Sphagnum musco*) / П. С. Огородникова. - Текст : непосредственный // ADVANCED SCIENCE : сборник статей VIII Международной научно-практической конференции. В 2 ч., Пенза, 23 мая 2019 года / Наука и Просвещение ; ответственный редактор: Г.Ю. Гуляев. - Пенза. - 2019. - Т.1. - С. 29-34.

73. Основы внутренних незаразных болезней : методические указания / Красноярский государственный аграрный университет / Красноярск; авт.: О.П. Данилкина. - Красноярск, 2013. - 75 с. - Текст : непосредственный.

74. Панфилов, В.Ю. Биологические свойства мха сфагнома и его применение / В.Ю. Панфилов. – Текст : непосредственный // Старт в науке. – 2021. – № 6.

75. Панфилова, М.Н. Применение препарата пневмотил при терапии бронхопневмонии телят / М.Н. Панфилова, А.А. Сазонов, М.И. Сафарова. - Текст : непосредственный // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2012. - № 211. - С. 288-292. - ISSN 0451-5838.

76. Папуниди, К. Х. Применение "Нормотрофина" при патологии органов дыхания у телят с признаками постнатальной незрелости / К. Х. Папуниди, Ф. А. Медетханов. - Текст : непосредственный // Ветеринарный врач. - 2013. - № 2. - С. 36-39.

77. Патент № 2706218 С1 Российская Федерация, МПК А61К 36/10, В01D 11/02, А61Р 17/02. Средство антибактериальное на основе экстракта мха

сфагнума : № 2017138821 : заявл. 07.11.2017 : опубл. 15.11.2019 / А. А. Пименова, И. В. Ананьина, Н. В. Самохвалова [и др.] ; заявитель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Югорский государственный университет".

78. Патент № 2487721 С1 Российская Федерация, МПК А61К 36/20, А61Р 43/00. Способ приготовления препарата для стимуляции роста животных : № 2012130193/15 : заявл. 16.07.2012 : опубл. 20.07.2013 / Ф. А. Медетханов, И. Г. Галимзянов, Г. Р. Юсупова [и др.] ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана".

79. Пахомов, Г.А. Иммуномодуляторы в коррекции иммунодефицитного состояния при бронхопневмонии у молодняка крупного рогатого скота / Г.А.Пахомов. - Текст : непосредственный // Материалы Международной научно-производственной конференции. - Казань, 2003. - С. 102-104.

80. Полозюк, О.Н. Гематология: учебное пособие / О.Н. Полозюк, Т.М. Ушакова. - Персиановский: Донской ГАУ, 2019. - 159 с.- Текст : непосредственный.

81. Правила лабораторной практики // Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 708 н от 23.08.2010. - Текст : непосредственный.

82. Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных // Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1977. - Текст : непосредственный.

83. Псурцева, Н.В. Биотехнология возможности использования коллекционных культур базидиомицетов / Н.В. Прусцева, Н.В. Белова. - Текст : непосредственный // Биотехнология, 1994. - №7. - 35 с.

84. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств.- Ч.1. - М.: Гриф и К, 2012 - 944 с. - Текст : непосредственный.

85. Саскович, В.В. Базидиомицеты как источники биологически активных веществ / В.В. Саскович, Д.Д. Жерносеков. - Текст : непосредственный // Веснік Палескага Дзяржаўнага Універсітэта. Серыя Прыродазнаўчых Навук. - 2018. - №1. - С. 3-13.

86. Сергеева, Н.Н. Эффективность различных схем лечения бронхопневмонии телят / Н. Н. Сергеева, А. И. Дедкова // Вестник аграрной науки. - 2021. - № 5 (92). - С. 64-68. - ISSN 2587-666X. - Текст : непосредственный.

87. Сидельникова В.И. Эндогенная интоксикация и воспаление: последовательность реакций и информативность маркеров (обзор) / В.И. Сидельникова, А.Е. Черницкий, М.И. Рецкий // Сельскохозяйственная биология.- 2015.- том 50.- № 2.- С. 152-161.

88. Скотоводство / Карамаев С.В., Валитов Х.З. - СПб.:Лань, 2019. - С.52. - Текст : непосредственный.

89. Степанова, И.П. О взаимосвязи между пероксидным окислением липидов и активностью антиоксидантной системы защиты у коров / И.П. Степанова, Л.М.Дмитриева, И.В. Конева // Сельскохозяйственная биология.- 2005. - № 2. - С. 113-115.

90. Сысоева М.А., Хабибрахманова В.Р., Гамаюрова В.С., Кыямова Г.И. Разделение водных извлечений чаги с использованием этилацетата. IV. Состав веществ фенольной и терпеновой природы, отделяемых из водного извлечения чаги этилацетатом. - Текст : непосредственный // Химия растительного сырья, 2009. - №4. - С. 117-122.

91. Сысоева М.А., Кузнецова О.Ю., Гамаюрова В.С., Суханов П.П., Зиятдинова Г.К., Будников Г.К. Структурная организация и свойства

полифенолов чаги. - Текст : непосредственный // Вестник Казанского технологического университета. - 2004. - №1.- С. 244-250.

92. Титов, В.Н. Экзогенные и эндогенные патологические факторы (патогены) как причина воспаления/В.Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. - 2004.- №5.- С. 3-10.

93. Трахтенберг, И.М. Проблемы нормы в токсикологии (современные представления и методические подходы, основные параметры и константы) / И.М. Трахтенберг, Р.Е. Сова, В.О. Шефтель, Ф.А. Оникиенко ; под общей редакцией И.М. Трахтенберга. - М.: Медицина, 1991. - 204 с. - Текст : непосредственный.

94. Федорова, Л.Н. Протеазы «сычужного» действия в культурах высших грибов / Л.Н. Федорова, А.Н. Шиврина. - Текст : непосредственный // Микология и фитопатология, 1974. - 22 с.

95. Федотов О.В., Велигодская А.К. Поиск продуцентов полифенолов и некоторых пигментов среди базидиомицетов. - Текст : непосредственный // *Biotechnologia Acta*. - 2014. - Т. 7. - №1. - С. 110-116.

96. Федюк, В.И. Лечение и профилактика респираторных болезней телят / В.И.Федюк, А.С. Лысухо. - Текст : непосредственный // *Ветеринария*. - 1997.- № 8.- С. 20-23.

97. Филипов, И.Г. Бронхопневмония телят (диагностика, симптоматика, лечение) / И. Г. Филипов, Ф. Н. Чеходариди // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2022. - № 249. - С. 218-223. - ISSN 0451-5838. - Текст : непосредственный.

98. Филипов, И. Г. Лечение телят отварами из лекарственных трав при неспецифической бронхопневмонии телят / И. Г. Филипов. - Текст : непосредственный // Вестник научных трудов молодых учёных, аспирантов и магистрантов ФГБОУ ВО "Горский государственный аграрный университет":

Сборник статей. Том Выпуск 58. - Владикавказ: Горский государственный аграрный университет, 2021. - С. 165-168.

99. Черницкий, А.Е. Биохимическая характеристика конденсата выдыхаемого воздуха у телят в норме и при респираторной патологии /А.Е. Черницкий: Автореф. дисс. канд. биол. наук. - Воронеж, 2009.- 24 с.

100. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриева. - 2 изд., перераб. и доп. - М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. - 832 с. - Текст : непосредственный.

101. Хныченко Л.К., Сапронов Н.С. Стресс и его роль в развитии патологических процессов / Л.К. Хныченко, Н.С. Сапронов. - Текст : непосредственный // Обзоры по клин.фармакол. и лек. Терапии, 2003. - Т. 2. - № 3. - С. 2-15.

102. Чернышенко О.В. Практикум по физиологии растений: (для студентов направления подготовки 35.03.01 «Лесное дело», бакалавриат) / О.В. Чернышенко. - М.: МГУЛ, 2015. - 28 с. - Текст : непосредственный.

103. Чеходариди, Ф. Н. Этиопатогенетическая терапия неспецифической бронхопневмонии телят : монография / Ф. Н. Чеходариди, С. В. Москвин, И. Г. Филипов. - Владикавказ : Горский ГАУ, 2021. – С.54-55. - ISBN 978-5-906647-82-5. - Текст : непосредственный.

104. Чучалин, А. Г. Пульмонология: национальное руководство/А.Г. Чучалин, В.Н. Абросимов и др.- ГЭОТАР-Медиа, 2016.- 800с. - Текст : непосредственный.

105. Шабунин, С.В., Лечебная эффективность левоксида и леводиоксида при бронхопневмонии телят / С.В. Шабунин, М.З. Магомедов, С.М. Сулейманов. – Текст : непосредственный // Ветеринарная патология. - 2009. - № 1. - С. 69-72.

106. Шабунин, С.В. Респираторные болезни телят: современный взгляд на проблему / С.В. Шабунин, А.Г. Шахов, А.Е. Черницкий. - Текст : непосредственный // Ветеринария. - 2015. -№5.- С. 3-14.

107. Шарыгин, И.В. Применение девясила льнянолистного при бронхопневмонии телят / И.В. Шарыгин, Ю.С. Шагиахметов. - Текст : непосредственный //Актуальные проблемы вет. мед.: Материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ 70-летию УГАВМ.- Троицк, 2005.- С. 139-140.

108. Шиврина А.Н. Биологически активные вещества высших грибов. Л.: Наука, 1965. - 199 с. - Текст : непосредственный.

109. Эффективность препарата «Цефтиоклин» при бронхопневмонии телят / А.В. Березовский, Т.И. Фотина, Л.Г. Улько, О.Л. Нечипоренко // Ученые записки учреждения образования "Витебская ордена "Знак почета" государственная академия ветеринарной медицины". - 2017. - № 1. - С. 20-24. - ISSN 2078-0109. - Текст : непосредственный.

110. Яруллина, Э.С. Фармако-токсикологическая оценка нового средства Бронхелп и его применение при бронхопневмонии телят : специальность 06.02.03: диссертация на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук / Яруллина Эльмира Сергеевна ; Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана. - Казань, 2020. - 150 с. - Библиогр.: с. 110-138. - Текст : непосредственный.

111. Alresly, Zeyad. Chemical and Pharmacological Investigations of Fomitopsis betulina (formerly: Piptoporus betulinus) and Calvatia gigantea / Zeyad Alresly. – Inauguraldissertation. – Greifswald, 2019. – 241 p.

112. Angelini P. et al. Overview of the biological activities of a methanol extract from wild red belt conk, Fomitopsis pinicola (Agaricomycetes), fruiting bodies from Central Italy // International Journal of Medicinal Mushrooms. 2018. Vol. 20. N11. Pp. 1047-1063.

113. Aristidou, A. Metabolic engineering applications to renewable resource utilization / A. Aristidou, M. Penttila // *Curr.Opin. Biotech.*, 2000. –V. 11, 187 p.
114. Asgher, M. Microbial xylanases and their industrial applications / M. Asgher, H.N. Bhatti, M. Ashraf // *Bio degradation*, 2008. –V. 19, 771 p.
115. Asgher, M. Use of Basidiomycetes in Industrial Waste Processing and Utilization Technologies: Fundamental and Applied Aspects Bhatti / A. Asgher, H.N. Ashraf, R.L Legge // *Biodegradation*, 2008. –Vol. 19, 771 p.
116. Baldrian, P. Improved lignocellulose conversion to biofuels with thermophilic bacteria and thermostable enzymes / P. Baldrian, V. Valaskova // *FEMS Microbiol. Rev.*, 2008. –V.32, 501 p.
117. Beg, Q.K. Microbial xylanases and their industrial applications / Q.K. Beg, M. Kapoor, L. Mahajan, // *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2001. –V. 56, 326 p.
118. Bishop K.S. Characterisation of Extracts and Anti-Cancer Activities of *Fomitopsis pinicola* // *Nutrients*. 2020. Vol. 12. N3. P. 609. DOI: 10.3390/nu12030609.
119. Chang K.F. Airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease / K.F.Chang, G.Caramon, D.A. Groneberg et al. // *NFJM*. - 2004.- № 351. - P. 1459-1461.
120. Choi D.B. et al. Effects of *Fomitopsis pinicola* extracts on antioxidant and antitumor activities // *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2007. Vol. 12. N5. Pp. 516–524. DOI: 10.1007/BF02931349.
121. Dee S. Dairy calf pneumonia / S. Dee // *Bovine respiratory disease update*. - Philadelphia, 1997. - 8 P.
122. Dekhuijzen P.N.R. Antioxidant properties of N-acetylcysteine: their relevance in relation to chronic obstructive pulmonary disease/ P.N.R. Dekhuijzen // *Eur. Respir. J.* - 2004.- № 23. - P. 629-636.

123. Ding J.L., Shin H.J., Cha W.S. Analysis of Amino Acids, Vitamins and Minerals of Fruiting Body of *Fomitopsis pinicola* // *Journal of Life Science*. 2006. Vol. 16. N7. Pp. 1123–1126. DOI: 10.5352/JLS.2006.16.7.1123.
124. Dohmae, N. Purification and characterization of intracellular proteinases in *Pleurotus ostreatus* fruiting bodies / N. Dohmae, K. Hayashi, K. Miki // *Bioscienc., Biotech. and Biochem.*, 1995. – Vol. 59, 2074 p.
125. Erickson, B. Perspective on opportunities in renewable chemicals / B. Erickson, J.E. Nelson, P. Winters // *Biotechnol. J.*, 2012. – V. 7, 176.
126. European Convention for Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123). Strasbourg, 1986.
127. Flasshoff J. Ein praxisrelevantes Verfahren zur Frühzeitigen Differenzierung bakterieller Bronchopneumonieerreger beim Schwein mittels Bronchia llavage / J. Flasshoff // *Prakt. Tierarzt.* - 2000. - Jg. - N.1. - S. 1020- 1024.
128. Francia, C. Current research findings on the effects of selected mushrooms on cardiovascular diseases / C. Francia // *Int. J. Med. Mushr.*, 1999 – Vol. 1, 169 p.
129. Furowicz A.J. Proba zastosowania biostyminy w leczeniu enzoptycznego odoskrzelowego zapalenia płuc cieląt / A.J. Furowicz, D. Czernomysy-Furowicz // *Zeszytynauk : Akad. rol. w. Szczecinie.* - 1999 - N. 169 - S. 27-32.
130. Garry F.B. Plasma fibrinogen measurement Prognosis value in calf bronchopneumonia / F.B. Garry // *Zbl. Veter.-Med. Reihe A.* - 1999. - №5. - P. 361-169.
131. Gregori, A. Cultivation Techniques and Medicinal Properties of *Pleurotus* spp. / Andrej Gregori, Jure Pohleven // *Food Tech. Biotech.*, 2007. – V. 45, 238 p.
132. Grienke U. et al. European medicinal polypores – A modern view on traditional uses // *Journal of Ethnopharmacology*. 2014. Vol. 154. N3. Pp. 564–583.
133. Hogg J.C., Chu F., Utokaparch S., Woods R., Elliott W.M., Buzatu L., Cherniack R.M., Rogers R.M., Sciburba F.C., Coxson H.O., Paré P.D. The nature of

small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med.* 2004 Jun 24;350(26):2645-53. doi: 10.1056/NEJMoa032158. PMID: 15215480.

134. Jong, S.C. Antitumour and antiviral substances from fungi / S.C. Jong, R. Donovan // *Advances in Applied Microbiology*, 1989. –183 p.

135. Kelly FJ. Oxidative lung injury. In: Free radicals, nitric oxide, and inflammation: molecular, biochemical, and clinical aspects / FJ.Kelly // *NATO Science Series. IOS Press.*- 2003.- P. 237-251.

136. Kobayashi, H. Fiber-structured cheese making with *Irex lacteus* lacteus milk-clotting enzymes / H.Kobayashi, K. Murakami, I. Kusakabe // *Agriculture and biological chemistry*, 1988. –No52, 1277 p.

137. Kobayashi, H. Purification and characterization of two milk-clotting enzymes *Irex lacteus* / H.Kobayashi, K. Murakami, I. Kusakabe // *Agriculture and biological chemistry*, 1983. –No47(3), 551 p.

138. Kumar, R. Bioconversion of lignocellulosic biomass: Biochemical and molecular perspectives / R. Kumar, S. Singh, O.V. Singh // *Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 2008. –V. 35, 377 p.

139. Ledwozyw A. The involvement of polymorphonuclear leucocytes in the pathogenesis of bronchopneumonia in calves adherence to nylon fibres / A.Ledwozyw, H.Stolarczyk, A.Siwiek // *Acta veter. hung.* - 1992. - Vol. 40. - № 4. - S. 259-266.

140. Lemes, A.A new milk-clotting enzyme produced by *Bacillus* sp. applied in cream cheese development/ A. Lemes[et al.] // *Food Science and Technology*, 2016. –Vol. 66, 217 p.

141. MacNee W. Oxidative stress and lung inflammation in airways disease / W.MacNee // *Eur. J. Pharmacol.* - 2001.- № 429.- P. 195-207.

142. Meredith P., Sarna T. The physical and chemical properties of eumelanin // *Pigment cell research*. 2006. Vol. 19. №6. Pp. 572–594. DOI: 10.1111/j.1600-0749.2006.00345.x.

143. Mizuno, T. The Extraction and Development of Antitumor-Active Polysaccharides from Medicinal Mushrooms in Japan / T. Mizuno // International Journal of Medicinal Mushrooms, 1999. –Vol.1, 9 p.

144. Ovary Z. Immediate reaction in the skin of experimental animals provoked by antibody antigen interactions// Progr. Allergy. — 1958. — Vol. 5. — P. 459.

145. Palmieri, G. Purification, characterization and functional role of novel extracellular protease from *Pleurotus ostreatus*/ G. Palmieri, C. Bianco, G. Cennamo // Applied and Env.Microbiology, 2001. –Vol. 67, 2754 p.

146. Payamnoor V., Kavosi M.R., Nazari J. Polypore fungi of Caucasian alder as a source of antioxidant and antitumor agents // Journal of Forestry Research. 2020. Vol. 31. N4. Pp. 1381–1390. DOI:10.1007/s11676-019-00892-2.

147. Rahman I. Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation/ I.Rahman, W. MacNee // Eur. Respir. J.- 2000.- № 16.- P. 534-554.

148. Rajarathnam, S. Biodegraditive and biosynthetic capacities of mushrooms: present and future strategies / S. Rajarathnam, M. Shashirekha, Z. Bano // Crit. Rev. Biotechnol., 1998. –Vol. 18, 91–238 p.

149. Rosecke J., König W.A. Steroids from the fungus *Fomitopsis pinicola* // Phytochemistry. 1999. Vol. 52. N8. Pp. 1621–1627. DOI: 10.1016/S0031-9422(99)00349-0.

150. Salehi, M. Purification and characterization of a milk-clotting aspartic protease from *Withania coagulans* fruit / M. Salehi, H. Sajedi, S. Mohsen// International Journal of Biological Macromolecules.2017. –Vol. 98, 847 p.

151. Settler A. Rinder Grippe – spätestens jetzt die Tiere schützen / A.Settler // Rinderwelt.- 1998.- № 6.- S. 199-200

152. Steinbach G. Zum Auftreten von Daureusscheidern nach experimenteller *S.-typhimurium*-Infection bei Kalbern im Zusammenhang mit interkurrenten

Bronchopneumonien / G. Steinbach, H. Koch // Tierarztl. Umsch.- 1999.- Jg. 52.- N. 11.-S. 635-642.

153. Striegler S., Haslinger E. Cerebrosides from *Fomitopsis pinicola* // Monatshefte für Chemie chemical monthly. 1996.Vol. 127. Pp. 755–761.

154. Sun, Q. Comparative analysis on the distribution of protease activities among fruits and vegetable resources / Q. Sun , B. Zhang, Q. Yan// Food Chemistry, 2016. –Vol.213, 708 p.

155. Tai S. H. et al. Bioassay-guided purification of sesquiterpenoids from the fruiting bodies of *Fomitopsis pinicola* and their anti-inflammatory activity // RSC advances. 2019. Vol. 9, no. 59. Pp. 34184–34195. DOI: 10.1039/c9ra05899k.

156. Wasser, S. P. General description of the most important medicinal higher mushrooms / S.P. Wasser, A.L. Weis // Int. J. Med. Mushr., 1999 –Vol. 1, 351 p.

157. Weigle W.O., Cochrane C.G., Dixon F.J. Anaphylactogenic properties of soluble antigen-antibody complexes in guinea pig and rabbit // J.Immunol. — 1960. — Vol.85. — P.469–477.

158. Yoshikawa K., Inoue M., Matsumoto Y., Sakakibara C., Miyataka H., Matsumoto H., Arihara S. Lanostane triterpenoids and triterpene glycosides from the fruit body of *Fomitopsis pinicola* and their inhibitory activity against COX-1 and COX-2 // Journal of natural products. 2005. Vol. 68. Pp. 69–73.

159. Yun, Y.H. Hyaluronan microspheres for sustained gene delivery and site-specific targeting / Y.H. Yun, D.J. Goetz, P. Yellen // Biomaterials, 2004. –147 p.

160. Zahid M.T. et al. Review of chemical constituents and pharmacology of brown-rot fungus *Fomitopsis pinicola* // Journal of Natural Sciences Research. 2020. Vol. 10. N2. Pp. 58–68.

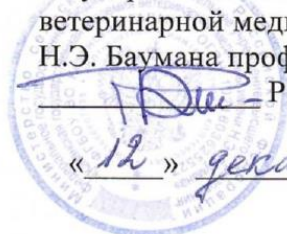
161. Zhang, H. Flammulin purified from fruit bodies of *Flammulina velutipes*/ H. Zhang, F. Gong, Y. Feng, // Int. J. Med. Mushr., 1999. –Vol. 1, 89 p.

162. Zhao J. et al. Lanostane-type C31 triterpenoid derivatives from the fruiting bodies of cultivated *Fomitopsis palustris* // *Phytochemistry*. 2018. T. 152. C. 10–21. DOI: 10.1016/j.phytochem.2018.04.012.

ПРИЛОЖЕНИЯ

УТВЕРЖДАЮ:

Ректор Казанской
государственной академии
ветеринарной медицины имени
Н.Э. Баумана профессор
Р.Х. Равилов



«12» декабря 2023 г

УТВЕРЖДАЮ:

Начальник Главного управления
ветеринарии КМ Республики
Татарстан к.б.н.



А.Г. Хисамутдинов

«12» декабря 2023 г.

ВРЕМЕННЫЕ ВЕТЕРИНАРНЫЕ ПРАВИЛА

по применению комплексного средства Сфагносан из природных компонентов при бронхопневмонии телят (в порядке производственных испытаний)

I ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ

1.1 Сфагносан – средство, полученное из пиролизатов мха сфагнум и трутовика окаймленного с последующим кислотным гидролизом.

1.2 Средство представляет собой раствор для инъекций со специфическим запахом, от светло- до тёмно-коричневого. Допускается наличие осадка.

1.3 Сфагносан содержит: полифенолкарбоновый комплекс в сочетании с полисахаридами, агарициновой и гуминоподобной кислотами; алкалоиды, дубильные вещества, флавоноиды, фенольные соединения, а также макро- и микроэлементы.

1.4 Сфагносан производят в форме стерильного раствора, который расфасовывают в стеклянные флаконы по 50 и 100 см³, закупоренные резиновыми пробками, укрепленными алюминиевыми колпачками. Флаконы укладывают в картонные коробки вместе с временными правилами.

Каждый флакон снабжают этикеткой с указанием: наименования организации производителя, его адреса, наименования лекарственного средства, объема препарата во флаконе, номера серии и контроля (содержащего дату изготовления), срока годности (месяц, год), условий хранения, обозначения надписей «Стерильно», «Для животных», «Внутримышечно».

1.5 Средство применяется внутримышечно в виде инъекций, для чего используют одноразовые шприцы, шприцы типа «Рекорд» или других модификаций (автоматы, полуавтоматы). При применении препарата внутримышечно следует соблюдать правила асептики! Сфагносан перед применением необходимо взбалтывать! В холодное время года целесообразно прогревать в водяной бане до температуры 30- 35°С.

II ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

2.1 Сфагносан относится к комплексным противовоспалительным, общеукрепляющим и тонизирующим средствам, улучшает общее физиологическое состояние, способствует регуляции обменных процессов, повышает естественную резистентность организма.

2.2 Средство не содержит генно-модифицированные образования. По степени воздействия на организм относится к веществам малоопасным (4 класс опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76). При пероральном и парентеральном применении в рекомендуемых дозах, а также превышающие терапевтическую в 5 раз не оказывает местно-раздражающего, сенсibiliзирующего, аллериизирующего, эмбриотоксического и тератогенного действия, не обладает токсическим и метатоксическим действием на животных и кумулятивными свойствами.

III ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

3.1 Сфагносан используют молодняку крупного рогатого скота в качестве лечебного средства отдельно при бронхолегочных заболеваниях неинфекционной этиологии, или в комплексе с антибактериальными препаратами при болезнях органов дыхания вызванных бактериальной инфекцией.

3.2 Средство рекомендовано для лечения и профилактики патологий органов дыхания телят, неинфекционной этиологии.

3.3 Побочных явлений и осложнений при применении средства в соответствии с инструкцией не выявлено. Противопоказания не установлены.

3.4 Средство Сфагносан совместим с антибиотиками и другими лекарственными препаратами, а также с кормовыми добавками.

3.5 Продукцию от животных после применения препарата можно использовать без ограничений.

IV ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

4.1 Сфагносан назначают молодняку крупного рогатого скота с заболеваниями органов дыхания неинфекционной этиологии внутримышечно, один раз в сутки в дозе 0,2 мл/кг массы тела, через каждые 48 часов. Курс лечения составляет от 3 до 5 инъекций в зависимости от тяжести патологического процесса.

4.2 В комплексной терапии Сфагносан вводят внутримышечно, один раз в сутки в дозе 0,2 мл/кг массы тела, через каждые 24 часа, до полного выздоровления (не более 5 инъекций)

4.3 В связи с возможной болевой реакцией не рекомендуется вводить Сфагносан в одно и то же место более 10,0 мл.

4.4 Средство Сфагносан не допускается в одном шприце с другими лекарственными препаратами

4.5 Флаконы с нарушением герметичности, с трещинами и истекшим сроком годности выбраковываются. Препарат экологически безопасен. Выбракованный и недоиспользованный препарат может быть слит в общую систему канализации.

V ФОРМА ВЫПУСКА И ХРАНЕНИЕ

5.1 Сфагносан выпускается во флаконах с емкостью по 50 и 100 см³, стерильно. Флаконы должны быть плотно закупорены резиновыми пробками и обкатаны металлическими колпачками.

5.2 Маркируют, указывая наименование предприятия-изготовителя, наименование продукта, способ применения (согласно временным правилам), номер серии и контроля, количество его во флаконе в см³, дату изготовления, срок годности.

5.3 Хранят препарат в упаковке изготовителя в тёмном месте, при температуре от 2 до 15°С, срок годности препарата при соблюдении условий хранения – 12 месяцев со дня изготовления. Допускается при хранении выпадение коричневого осадка во флаконе, который легко разбивается при взбалтывании.

VI МЕРЫ ЛИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

При работе с средством Сфагносан необходимо соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными средствами.

VII ПОРЯДОК ПРЕДЪЯВЛЕНИЯ РЕКЛАМАЦИИ

В случае осложнений, возникших после введения средства Сфагносан, применение этой серии препарата прекращают. В соответствии с указанием Главного управления ветеринарии от 8 мая 1992 года № 22-7/28 «О порядке предъявления рекламаций на ветеринарные препараты отечественного производства и закупаемые по импорту» сообщают предприятию - изготовителю: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», (ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ), 420029, г. Казань, Сибирский тракт 35, тел. (843)273-97-05, факс (843)273-95-56).

Одновременно 2 флакона препарата из серии, вызвавшей осложнения, направляют в адрес ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ с нарочным, с соблюдением режима его хранения.

Временные правила разработаны ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана» (ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ).

420029 г. Казань, ул. Сибирский тракт 35, тел. (843) 273-97-05, факс. (843) 273-97-14.

Разработчики: Ректор академии профессор Р.Х. Равилов, зав. кафедрой фармакологии, токсикологии и радиобиологии профессор Ф.А. Медетханов, ассистент кафедры биологии, генетики и разведения животных, к.в.н., И.А. Конакова, аспиранты О.Н. Новоселов и К.А. Пигузова.

УТВЕРЖДАЮ
Директор ООО «Борнак»
Балтасинского района Республики Татарстан

Назипов Р.Н.
« 26 » _____ 2024 г.



АКТ

О производственном испытании комплексного средства из мха сфагнома и гриба трутовика окаймленного Сфагносан, разработанного на кафедре фармакологии, токсикологии и радиобиологии ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана».

Мы, нижеподписавшиеся, ветеринарный санитар старший Тимофеева М.В., зоотехник-селекционер Филиппова И.П., заведующий кафедрой фармакологии, токсикологии и радиобиологии ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ профессор Медетханов Ф.А., аспирант кафедры Новоселов О.Н., составили настоящий акт о том, что в период с февраля по март месяцы 2024 г. провели серию опытов на телятах по изучению терапевтической активности Сфагносана, включенного в основную схему лечения неспецифической бронхопневмонии.

Материалы и методы. Основной целью исследований являлось установление терапевтической активности комплексного средства Сфагносан, включенного в основную схему лечения телят, больных неспецифической бронхопневмонией.

Производственные испытания комплексного средства Сфагносан проводили в ООО «Борнак» Балтасинского района Республики Татарстан на клинически больных острой катаральной бронхопневмонией телятах чернопестрой породы.

Для проведения эксперимента были сформированы 3 группы телят в возрасте 3-х месяцев, живой массой в среднем $89,5 \pm 0,5$ и $92,5 \pm 0,4$ кг соответственно, по 8 животных в каждой. Лечение телят проводили на следующий день после установления у них диагноза, при этом условия кормления и содержания были идентичными.

Телятам первой группы внутримышечно вводили препарат Флоридокс в дозе 12,0 мл (50 мг на 7,5 кг живой массы) на одно животное в разные места, 1 раз в сутки на протяжении 10 дней; Элеовит 2,0 мл на животное, 1 раз в 7 дней. Данная группа являлась группой сравнения. В свою очередь телятам второй группы дополнительно вводили комплексное средство Сфагносан в дозе 0,2 мл/кг 1 раз в сутки на протяжении 5 дней. Третья группа являлась интактной и служила источником референсных значений гематологических показателей крови.



УТВЕРЖДАЮ:

Проректор по учебно-воспитательной работе и молодежной политике
 доцент Л.Р. Загидуллин
 « 06 » апреля 2024 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научно-исследовательских, опытно-конструкторских и технических работ

Наименование материалов, предложенных к внедрению: материалы кандидатской диссертации Новоселова Олега Николаевича на тему: «Фармако-токсикологические свойства Сфагносана и его эффективность в комплексной терапии неспецифической бронхопневмонии телят» по специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология

Кем предложено: аспирантом кафедры фармакологии, токсикологии и радиобиологии Новоселовым О.Н.

Где внедрено: в учебный процесс кафедры фармакологии, токсикологии и радиобиологии ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана».

Результаты применения: в ходе учебного процесса с представленными научно-исследовательскими данными ознакомлено 194 студента очной и заочной формы обучения (лекции и практические занятия)

Эффективность внедрения: углубление знаний по способу получения и методам использования фармакологических средств природного происхождения

Ответственный за внедрение:

заведующий кафедрой
 фармакологии, токсикологии и радиобиологии
 ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия
 ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана»
 доктор биологических наук, профессор Ф.А. Медетханов

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе и
стратегическому развитию ФГБОУ ВО
Ставропольский государственный
аграрный университет», профессор



А.Н. Бобрышев
А.Н. Бобрышев

» *10.05* 2024 г.

КАРТА ОБРАТНОЙ СВЯЗИ

Материалы диссертации аспиранта кафедры фармакологии, токсикологии и радиобиологии ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ Новоселова Олега Николаевича на тему: «Фармако-токсикологические свойства Сфагносана и его эффективность в комплексной терапии неспецифической бронхопневмонии телят», представленной на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология приняты к внедрению в учебный процесс. В дальнейшем будут использованы при чтении лекций и проведении практических занятий по дисциплинам клинического и фармакологического цикла, т.к. имеют познавательный характер, а также как справочный материал при проведении научных исследований аспирантов и соискателей на кафедре терапии и фармакологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет».

Материалы рассмотрены и приняты к внедрению на заседании кафедры терапии и фармакологии ФГБОУ ВО Ставропольского государственного аграрного университета (протокол №12 от 2 мая 2024 года).

Зав. кафедрой терапии и фармакологии,
доктор ветеринарных наук, профессор

В.А. Оробец
В.А. Оробец

Контактная информация:

Оробец Владимир Александрович,

профессор, доктор ветеринарных наук.

Адрес: 355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 12.

тел.:8(8652)286738

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе
ФГБОУ ВО «Кубанский
государственный аграрный
университет имени
И. Т. Трубилина»,
канд. эконом. наук, доцент



А. В. Петух

06.05. 2024 г.

Карта обратной связи

Результаты научных исследований аспиранта кафедры фармакологии, токсикологии и радиобиологии ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ Новоселова Олега Николаевича по диссертационной работе на тему: «Фармако-токсикологические свойства Сфагносана и его эффективность в комплексной терапии неспецифической бронхопневмонии телят» выполненной по специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология приняты к внедрению в учебный процесс ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина». Они используются как справочный материал для лекций и лабораторно-практических занятий для студентов, подготовки квалификационных научных работ и будут учтены при выполнении научных исследований аспирантов и соискателей на факультете ветеринарной медицины.

Декан факультета ветеринарной медицины,

канд. вет. наук, доцент

А. Н. Шевченко