

УДК 615.837.7: 615.246.2: 615.015.35
DOI 10.23648/UMBJ.2018.30.14057

ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ ГЛИНЫ ЛЕЧЕБНОЙ «УНДОРОВСКОЙ»*

А.Е. Кормишина¹, П.Г. Мизина², Е.В. Слесарева¹, Т.И. Кузнецова¹

¹ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск, Россия;

²ФГБНУ «Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений», г. Москва, Россия

e-mail: allkorm@mail.ru

Цель работы – изучить минералогический состав, микробиологическую чистоту глины лечебной «Ундоровской» для решения вопроса о ее дальнейшем использовании в качестве энтеросорбента.

Материалы и методы. Минералогический состав изучали с помощью рентгенофлуоресцентного спектрометра ThermoNiton FXL (Thermoscientific, США) со встроенным программным обеспечением. Исследование микробиологической чистоты проводили в соответствии с требованиями ГФ XIII, ОФС.1.2.4.0002.15 «Микробиологическая чистота», тесты на острую и субхроническую токсичность – в соответствии с ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (Principles of Good Laboratory Practice) и Приказом Минздравсоцразвития РФ № 708н от 23.08.2010 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Результаты. Содержание тяжелых металлов, а также микробиологическая чистота глины лечебной «Ундоровской» соответствуют всем требованиям действующей нормативной документации. По результатам тестов на острую и субхроническую токсичность рассчитана доза, не вызывавшая гибели подопытных животных при однократном введении в желудок. Приведены динамика массы тела, оценка поведенческих реакций в рамках теста «Открытое поле» при введении различных доз, гематологические и биохимические показатели крови. Рассчитаны значения массовых коэффициентов внутренних органов, проведено их гистологическое исследование.

Выводы. Изложенные результаты исследования минералогического состава и микробиологической чистоты свидетельствуют, что исследуемый объект может изучаться в тестах in vivo на лабораторных животных. При однократном и длительном введении (субхронический эксперимент) глина лечебная «Ундоровская» в дозах 3000, 6000, 8000, 10 000 мг/кг не оказывает токсического воздействия на организм мышей (самцов и самок) и не вызывает патологических изменений внутренних органов (печени, желудка, кишечника).

Ключевые слова: глина лечебная «Ундоровская», минералогический состав, микробиологическая чистота, безопасность.

Введение. На сегодняшний момент детоксикация организма с помощью метода энтеросорбции является как самостоятельным методом лечения энтеральных интоксикаций, так и входит в состав комплексной терапии при различных заболеваниях (ОРВИ, расстройствах пищеварения, кишечных инфекциях, отравлениях токсическими веществами, аллергических заболеваниях) [1]. В отличие от инвазивных методов энтеросорбция основана на пероральном приеме лекарственных средств, способных адсорбировать в пищеварительном тракте токсические вещества эн-

до- и экзогенного происхождения. Она является одним из наиболее эффективных и безопасных методов [2].

В России зарегистрировано 14 фармацевтических субстанций, на основе которых создано 32 лекарственных препарата с адсорбционным действием [3]. Тем не менее не все из них нашли широкое применение в клинической практике, поэтому проблема поиска новых лекарственных средств с энтеросорбционными свойствами остается актуальной. Достаточно перспективным в этом отношении является минеральное сырье, а именно глины. Они обладают хорошим адсорбционным действием, а также имеют множество лечебно-профилактических эффектов, обу-

* Работа выполнена в рамках научно-образовательного комплекса «ВИЛАР – УлГУ», договор № 98 от 24.06.2015.

словленных физико-химическими свойствами и строением составляющих глины минералов [4]. Наряду с изучением специфических физико-химических и технологических характеристик субстанции энтеросорбционного действия, внедрение современных энтеросорбентов в клиническую практику предполагает обязательное детальное изучение их специфической фармакологической активности и безопасности на этапе экспериментальных доклинических исследований [5].

Цель исследования. Изучить безопасность глины лечебной «Ундоровской» для решения вопроса о дальнейшем её использовании в качестве энтеросорбента.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования нами была использована глина лечебная «Ундоровская» (ТУ 9369-002-02590678-2006). Образцы представляли собой тончайший мелкодисперсный порошок серого цвета. Для регистрации обзорных спектров рентгеновской флуоресценции и количественного элементного анализа применяли программно-аналитический комплекс на основе портативного рентгенофлуоресцентного спектрометра ThermoNiton FXL (США) со встроенным программным обеспечением. Пределы обнаружения рассчитаны с доверительным интервалом 99,7 % (3-сигма) для каждого элемента, со временем анализа 60 с на каждом фильтре. Исследования микробиологической чистоты проводили в соответствии с требованиями ГФ XIII, ОФС.1.2.4.0002.15 «Микробиологическая чистота».

Эксперименты на животных проведены в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемыми для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123), Strasbourg, 1986).

Исследование острой токсичности проведено на 80 половозрелых белых неинбредных мышах обоего пола с массой тела 20–24 г, которые были рандомизированы на контрольную и четыре опытные группы. Каждая группа состояла из равного количества

самцов и самок. Все испытуемые животные содержались в идентичных условиях.

Глину лечебную «Ундоровскую» вводили в виде 12, 24, 32, 40 % суспензии подопытным животным внутрижелудочно однократно в дозах 3000, 6000, 8000, 10 000 мг/кг соответственно. Контрольные мыши получали эквивалентные объемы воды очищенной.

При изучении субхронической токсичности глину лечебную «Ундоровскую» вводили в течение 14 дней [6, 7]. У подопытных животных ежедневно изучали общее состояние. Динамику массы тела оценивали относительно исходной на 3, 7, 10, 14-е сут. Оценку эмоционально-поведенческой реактивности мышей проводили при помощи теста «Открытое поле» (ОП) [8, 9].

Исследование гематологических показателей включало подсчет количества эритроцитов и лейкоцитов в полуавтоматическом гематологическом анализаторе (Hospitex diagnostics, Италия). Определение биохимических показателей крови проводили с помощью биохимического анализатора (Hospitex diagnostics, Италия) с использованием стандартных биохимических наборов производства ЗАО «Диакон-ДС» (Россия).

В конце субхронического эксперимента определяли абсолютную и относительную массу внутренних органов экспериментальных животных. Патоморфологические исследования проводили при макро- и микроскопическом исследовании внутренних органов: печени, фундального отдела желудка, тощей и ободочной кишок мышей. Для этого их фиксировали в 10 % растворе формалина. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и оценивали с помощью светового микроскопа (Carl Zeiss Primo Star, Германия) при увеличении $\times 150$.

Полученные результаты обрабатывали с использованием пакета IBM SPSS, Statistics Version 20. При этом использовали методы описательной статистики, t-критерий Стьюдента и однофакторный дисперсионный анализ с апостериорными критериями. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Минералогический состав глины «Ундоровской» представлен в табл. 1. Свинец, цинк, медь, ко-

балът, кадмий и марганец включены в список тяжелых металлов. Содержание их в глине лечебной «Ундоровской» – в пределах нормы [10]. Результаты теста «Микробиологическая чистота глины «Ундоровской» представлены в табл. 2.

Таким образом, по микробиологической чистоте глина голубая «Ундоровская» отвечает требованиям ГФ XIII, ОФС.1.2.4.0002.15 «Микробиологическая чистота».

Результаты теста на острую токсичность показали, что внутрижелудочное введение препарата во всех испытанных дозах (от 3000

до 10 000 мг/кг) при однократном введении не привело к гибели мышей. При однократном введении в желудок мышам исследуемых доз препарата в первые 8 ч непрерывного наблюдения поведенческо-физиологические реакции животных находились в пределах нормы: внешний вид, состояние шерстного покрова и видимых слизистых оболочек удовлетворительные, координация движений, частота мочеиспускания и окраска мочи нормальные. Отмечалась адинамия и повышенный груминг у мышей, получавших суспензию в дозах 8000 и 10 000 мг/кг.

Таблица 1

Минералогический состав глины лечебной «Ундоровской»

Наименование элемента	Концентрация, г/кг
Mg	5,719±0,002
Ca	178,145±0,002
S	4,654±0,001
Al	18,011±0,003
Fe	15,270±0,001
K	10,488±0,002
Ti	0,011±0,004
Mn	0,376±0,002
Sr	0,145±0,001
Zn	0,054±0,004
V	0,027±0,006

Таблица 2

Микробиологическая чистота образцов глины

Определяемые показатели	Результаты исследований глины лечебной «Ундоровской»	Норматив	НД на методы исследований
Общее число аэробных бактерий, КОЕ/г	$<1 \times 10^1$	не более 10	ГФ XIII, ОФС.1.2.4.0002.15
Общее число грибков, КОЕ/г	$<1 \times 10^6$	не более 10	
Сем. Enterobacteriaceae в 1 г	не обнаружены	не более 10	
St. aureus в 1 г	не обнаружены	отсутствие	
E. coli в 1 г	не обнаружены	отсутствие	
Ps. aeruginosa в 1 г	не обнаружены	отсутствие	
B. cereus в 1 г	не обнаружены	отсутствие	
Salmonella в 1 г	не обнаружены	не более 10	

На следующие сутки у мышей, которым вводили суспензию в максимальной дозировке (10 000 мг/кг), было отмечено уплотнение фекалий. Болюсы некоторое время не отходили от анального отверстия. Указанные симптомы проходили на 2-е сут самостоятельно. Следует отметить, что при этом не наблюдались признаки болевой реакции.

В течение субхронического эксперимента препарат не влиял на поведенческие реакции животных, получавших глину в дозах 3000, 6000, 8000, 10 000 мг/кг. Реакции были в пределах физиологической нормы. Наблюдали незначительное уплотнение консистенции фекалий. В течение всего субхронического эксперимента масса тела мышей, получавших препарат в дозах 3000, 6000, 8000, 10 000 мг/кг, достоверно не отличалась от контроля ($p < 0,001$) (табл. 3).

При изучении поведения животных в тесте «Открытое поле» в условиях субхронического эксперимента в первый день до и после введения препарата наблюдалась схожая картина: сразу после помещения в камеру – непродолжительная реакция замирания, затем – активное ориентировочно-исследовательское поведение. Следует отметить ярко выраженный «норковый рефлекс» и умеренную эмоциональность, характеризующую небольшими эпизодами короткого груминга, нечастыми актами дефекации. На 14-й день наблюдения тест «Открытое поле» был про-

веден повторно. Отмечалось преобладание горизонтальной двигательной активности по периферии камеры, эпизоды выхода в центр камеры и заглядывание в «норки». Эмоциональность животных также была умеренной. Показатели животных контрольной и экспериментальной групп достоверно не отличались ($p = 0,796$) (рис. 1, 2).

Гематологические показатели крови оценивали у мышей, которым вводили глину в дозах 6000, 8000, 10 000 мг/кг, и группы контроля (табл. 4).

Введение препарата в течение 14 дней в высоких дозах не вызвало достоверных изменений биохимических показателей мышей (табл. 5).

Рассчитаны значения массовых коэффициентов [11] печени, желудка (фундальный отдел), тонкого (тощая кишка) и толстого кишечника (ободочная кишка) мышей в опытных группах (табл. 6).

Было проведено гистологическое исследование внутренних органов животных контрольной и всех опытных групп. Строение стенки желудка животных соответствует норме: слизистая оболочка имеет типичное строение, выстлана железистым призматическим эпителием с хорошо выраженными желудочными ямками. Собственные железы желудка развиты правильно. Мышечная оболочка трехслойная, без особенностей (рис. 3).

Таблица 3

Динамика массы тела мышей в течение субхронического эксперимента, г

Дозы введенного препарата, мг/кг	Сроки исследования, сут				
	1-е	3-и	7-е	10-е	14-е
3000	22,00±0,26	22,20±0,27	22,30±0,32	22,80±0,31	23,60±0,29
6000	21,70±0,35	21,90±0,36	22,70±0,29	23,0±0,3	23,60±0,29
8000	21,90±0,84	22,2±0,6	22,7±0,2	23,20±0,19	23,70±0,16
10 000	21,60±0,95	21,80±0,96	22,40±0,29	22,80±0,28	23,40±0,29
Контроль, вода	21,70±0,36	21,80±0,36	23,90±0,44	22,80±0,31	23,4±0,3

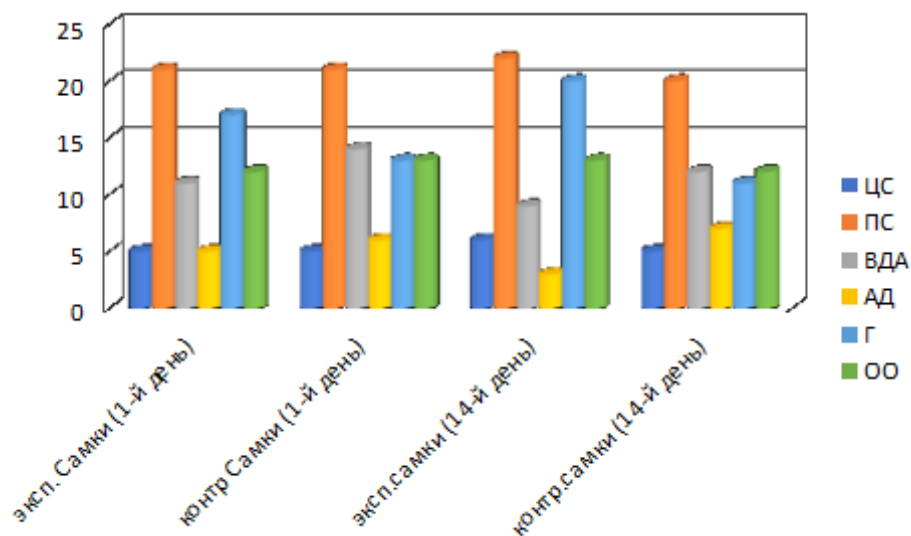


Рис. 1. Количество форм поведения самок мышей в субхроническом эксперименте при введении внутривентрикулярно глины лечебной «Ундоровской» в дозе 10 000 мг/г (ЦС – пересечение секторов в центральном секторе камеры, ПС – пересечение секторов в периферической части, ВДА – вертикальная двигательная активность, АД – акты дефекации, Г – груминг, ОО – обследование отверстий)

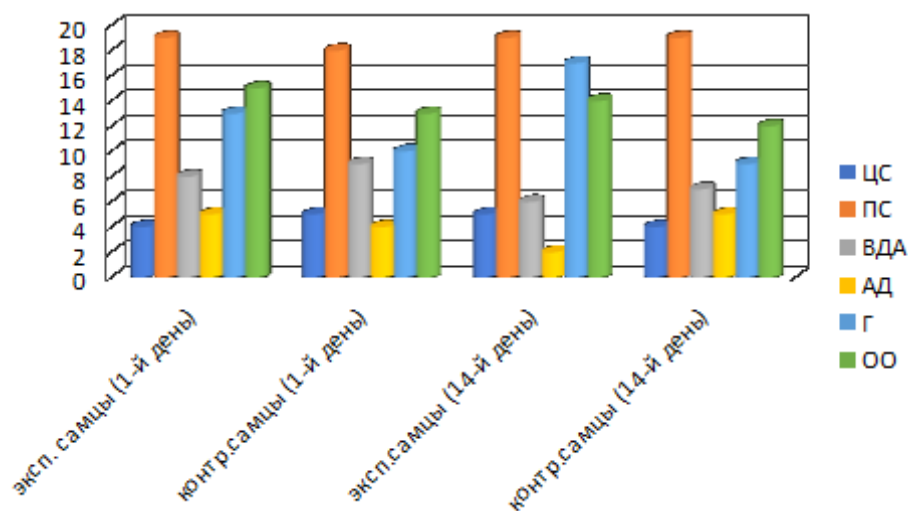


Рис. 2. Количество форм поведения самцов мышей в субхроническом эксперименте при введении внутривентрикулярно глины лечебной «Ундоровской» в дозе 10 000 мг/г (ЦС – пересечение секторов в центральном секторе камеры, ПС – пересечение секторов в периферической части, ВДА – вертикальная двигательная активность, АД – акты дефекации, Г – груминг, ОО – обследование отверстий)

Таблица 4

Гематологические показатели животных в субхроническом эксперименте при введении глины лечебной «Ундровской» в дозах 8000 и 10 000 мг/кг (n=80)

Группа животных	При введении дозы 8000 мг/кг				При введении дозы 10 000 мг/кг			
	Абсолютное число лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$		Абсолютное число эритроцитов, $\times 10^{12}/\text{л}$		Абсолютное число лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$		Абсолютное число эритроцитов, $\times 10^{12}/\text{л}$	
	до введения	в конце эксперимента	до введения	в конце эксперимента	до введения	в конце эксперимента	до введения	в конце эксперимента
Контр., самки	5,0 \pm 0,2	5,0 \pm 0,3	5,7 \pm 0,2	5,7 \pm 0,1	5,1 \pm 0,3	5,1 \pm 0,4	5,7 \pm 0,1	5,6 \pm 0,2
Эксперимент., самки	5,1 \pm 0,3	5,1 \pm 0,4	5,7 \pm 0,5	5,7 \pm 0,4	5,0 \pm 0,3	5,1 \pm 0,3	5,6 \pm 0,4	5,6 \pm 0,5
Контр., самцы	5,2 \pm 0,2	5,2 \pm 0,1	6,0 \pm 0,1	6,0 \pm 0,2	5,2 \pm 0,3	5,2 \pm 0,2	6,0 \pm 0,3	6,0 \pm 0,5
Эксперимент., самцы	5,2 \pm 0,3	5,2 \pm 0,2	6,0 \pm 0,2	6,0 \pm 0,2	5,2 \pm 0,3	5,2 \pm 0,2	5,9 \pm 0,3	5,9 \pm 0,3

Таблица 5

Биохимические показатели сыворотки крови мышей, получавших глину «Ундровскую» в дозах 6000, 8000 и 10 000 мг/кг в субхроническом эксперименте

Показатели	Группы/дозы, мг/кг							
	6000		8000		10 000		контроль	
	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки
АЛТ, Ед/л	51,0 \pm 5,0	48,0 \pm 2,4	50,0 \pm 4,0	49,0 \pm 3,7	51,0 \pm 5,0	49,0 \pm 4,4	51,0 \pm 5,2	49,0 \pm 2,1
АСТ, Ед/л	115,0 \pm 10,0	120,0 \pm 11,3	117,0 \pm 15,6	120,0 \pm 13,3	117,0 \pm 11,3	121,0 \pm 12,0	118,0 \pm 14,3	120,0 \pm 13,2
ЛДГ, Ед/л	1796,0 \pm 25,4	1967,0 \pm 23,8	1789,0 \pm 19,0	1899,0 \pm 24,2	1795,0 \pm 21,5	1900,0 \pm 21,7	1807,0 \pm 19,0	1978,0 \pm 20,0
Щелочная фосфатаза, Ед/л	329,0 \pm 9,0	323,0 \pm 8,8	331,0 \pm 7,9	329,0 \pm 9,3	330,0 \pm 9,0	327,0 \pm 7,8	330,0 \pm 8,3	326,0 \pm 7,9
Мочевина, мкмоль/л	7,1 \pm 0,9	7,0 \pm 0,4	7,1 \pm 0,5	7,1 \pm 0,6	7,0 \pm 0,3	7,1 \pm 0,5	7,1 \pm 0,4	7,1 \pm 0,2
Креатинин, мкмоль/л	65,0 \pm 2,4	69,3 \pm 3,0	68,6 \pm 2,9	71,0 \pm 3,1	56,4 \pm 2,5*	58,7 \pm 2,1*	70,7 \pm 4,2	71,4 \pm 3,4

Примечание. * – различие достоверно при $p < 0,001$ для показателей контрольной и экспериментальных групп.

Таблица 6

Абсолютная масса внутренних органов мышей (n=80)

Исследованные органы	Группы/дозы, мг/кг			
	6000	8000	10 000	контроль
	Масса органа, г			
Печень	1,959 \pm 0,300	1,964 \pm 0,300	1,962 \pm 0,200	1,959 \pm 0,100
Желудок (фундальный отдел)	0,666 \pm 0,070	0,667 \pm 0,060	0,669 \pm 0,090	0,667 \pm 0,090
Тощая кишка	2,161 \pm 0,100	2,162 \pm 0,300	2,161 \pm 0,100	2,163 \pm 0,300
Ободочная кишка	1,318 \pm 0,300	1,316 \pm 0,200	1,317 \pm 0,200	1,316 \pm 0,300

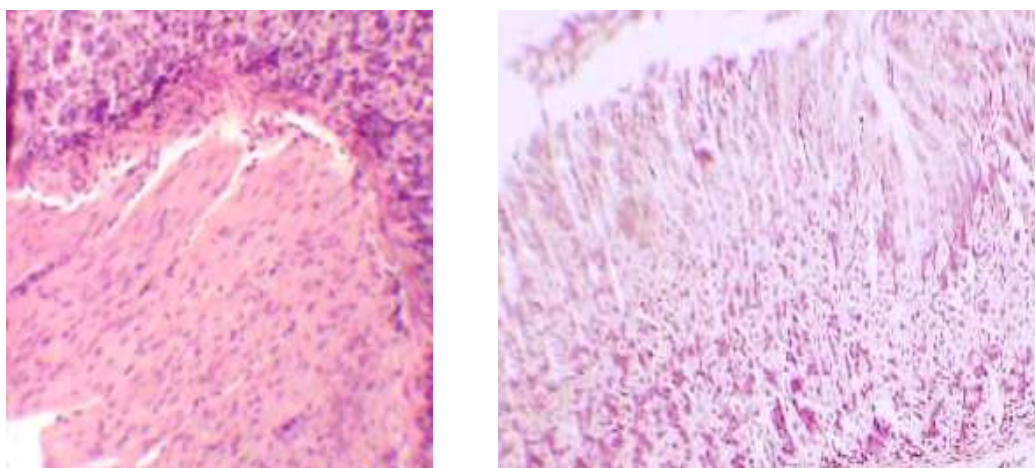


Рис. 3. Микроскопическое строение мышечной оболочки желудка животных, получавших глину «Ундоровскую» в концентрации 10 000 мг/кг в течение 14 дней. Окраска гематоксилин-эозином, ув. $\times 150$

В тощей кишке ворсинки слизистой оболочки высокие, покрыты каемчатым эпителием без видимых дефектов. Количество бокаловидных клеток незначительно. Крипты узкие, глубокие, на дне в эпителии фигуры митоза. Мышечная оболочка относительно тонкая, включает в себя внутренний циркулярный и наружный продольный слои, разделенные тонкой прослойкой соединительной ткани. Слизистая толстой кишки выстлана однорядным призматическим каемчатым эпителием, количество бокаловидных клеток достигает 50 % от всех имеющихся клеточных типов, что соответствует норме. Крипты хорошо выражены, на дне определяются фигуры митоза, свидетельствующие о наличии физиологической регенерации. Сосуды соединительнотканной стромы не расширены.

Морфологические проявления патологических процессов в толстом и тонком отделах кишечника отсутствуют.

На препаратах печени животных всех исследуемых групп наблюдается характерное дольчатое строение. Междольковые соединительнотканые перегородки не выражены, что соответствует видовым особенностям строения печени мышей. Микроскопические признаки отека, полнокровия, венозного застоя, воспаления и дистрофии отсутствуют. Сосуды портальной и кавальной систем без особенностей, перисинусоидальное пространство не расширено. Внутривенные желчные протоки выстланы кубическим эпителием, не расширены. Микроскопическое строение печени соответствует норме (рис. 4).

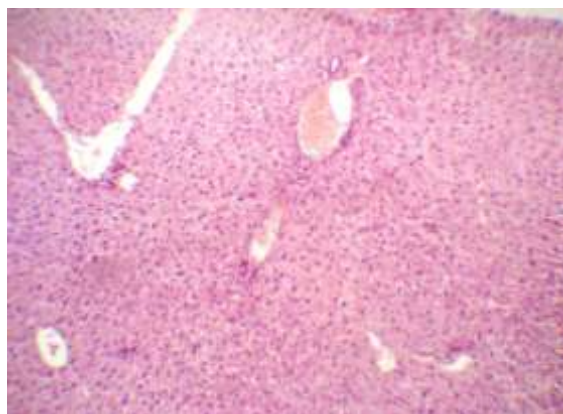


Рис. 4. Микроскопическое строение печени животных, получавших глину «Ундоровскую» в концентрации 10 000 мг/кг в течение 14 дней, ув. $\times 150$

Выводы:

1. Минералогический состав и микробиологическая чистота глины лечебной «Ундровской» соответствуют требованиям действующей нормативной документации. Это дает возможность изучения глины лечебной «Ундровской» *in vivo* на лабораторных животных.

2. Так как однократное внутрижелудочное введение препарата во всех испытанных дозах (от 3000 до 10 000 мг/кг) не привело к гибели мышей, рассчитать параметры острой токсичности не удалось. Таким образом, при однократном введении в желудок доза, не вызывавшая гибели подопытных животных, составила 10 000 мг/кг.

3. В течение субхронического эксперимента препарат не влиял на поведенческие реакции животных, получавших глину в дозах от 3000 до 10 000 мг/кг, что говорит о хорошей переносимости препарата.

4. При изучении поведения животных в тесте «Открытое поле» в условиях субхронического эксперимента в первый день до и после введения препарата наблюдалась схожая картина. На 14-й день наблюдения тест «Открытое поле» был проведен повторно. При сравнении показателей вертикальной двигательной активности по группам в 1-й день и 14-й дни обнаружены статистически значимые различия ($p=0,029$). Произшедшие изменения вертикальной двигательной актив-

ности связаны со снижением интереса животных к уже знакомому объекту. У самок и самцов экспериментальных групп достоверно больше число эпизодов большого груминга по сравнению с контрольной ($p<0,001$). Это связано со способом введения и желанием удалить остатки введенной суспензии. У самок и самок экспериментальных групп на 14-й день введения препарата отмечалось достоверное снижение актов дефекации ($p<0,001$). Наряду с эмоциональным поведением животного в нашем случае этот факт является еще и одним из проявлений желудочно-кишечного расстройства в виде запора. Данное явление исчезало самостоятельно после отмены препарата.

5. Гематологические и биохимические показатели крови, оцениваемые у мышей, которым вводили глину в дозах 6000, 8000 и 10 000 мг/кг, в начале и конце эксперимента статистически сопоставимы ($p>0,05$).

6. Рассчитанные значения массовых коэффициентов печени, желудка (фундальный отдел), тонкого (тощая кишка) и толстого кишечника (ободочная кишка) мышей в опытных группах достоверно не отличались от контрольных ($p>0,05$).

7. При гистологическом исследовании внутренних органов животных контрольной и всех опытных групп патологических изменений выявлено не было.

Литература

1. Бондарев Е.В., Штрыголь С.Ю., Дырявый С.Б. Применение энтеросорбентов в медицинской практике. Провизор. 2008; 13: 45–49.
2. Вершинин А.С., Полилов А.Н. Энтеросорбция в практике семейного врача. Рус. мед. журн. 2008; 16: 314.
3. Бондарев А.В. Анализ российского фармацевтического рынка энтеросорбционных лекарственных препаратов. Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2013; 10 (ч. 2): 259–261.
4. Желякова Е.Т., Бондарев А.В. Изучение морфологии и пористой структуры медицинских глин. Фармация и фармакология. 2014; 2: 3–5.
5. Меньшикова Л.А., Печенкина И.Г., Береза Н.С. Особенности доклинических исследований инновационных лекарственных препаратов. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013; 1 (2): 90–95.
6. Гуськова Т.А. Доклиническое токсикологическое изучение лекарственных средств как гарантия безопасности проведения их клинических исследований. Токсикологический вестник. 2010; 5 (104): 2–6.
7. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. М.: Медицина; 2008. 890.
8. Пермьяков А.А., Елисеева Е.В., Юдицкий А.Д., Исакова Л.С. Поведенческие реакции у экспериментальных животных с различной прогностической устойчивостью к стрессу в тесте «открытое поле». Вестник Удмуртского университета. 2013; 3: 83–90.

9. Калугев А.В. Изучение тревожности у животных – вчера, сегодня, завтра. Стресс и поведение: материалы 7-й междисциплинарной конф. по биологической психиатрии. М.; 2003: 145–148.
10. Адилов В.Б., Бережнов Е.С., Боровницкий И.П. Классификация минеральных вод и лечебных грязей для целей их сертификации: метод. указания № 2000/34. М.; 2000.
11. Макаров В.Г., ред. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных: справочник. СПб.: ЛЕМА; 2013. 116.

EXAMINING SAFETY OF THERAPEUTIC CLAY “UNDOROVSKAYA”

A.E. Kormishina¹, P.G. Mizina², E.V. Slesareva¹, T.I. Kuznetsova¹

¹Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russia;

²All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (VILAR)

e-mail: allkorm@mail.ru

The purpose of the paper is to study the mineralogical composition, and microbiological purity of the therapeutic clay “Undorovskaya” in order to solve the problem of its further use as an enterosorbent.

Materials and Methods. Clay mineralogical composition was studied using an X-ray fluorescence spectrometer (ThermoNiton FXL, Thermoscientific, USA) with built-in software. Examination of microbiological purity was carried out according to the requirements of State Pharmacopoeia XIII, and general monograph GOF5.1.2.4.0002.15 “Microbiological purity”. Tests for acute and subchronic toxicity were conducted in accordance with GOST R-53434-2009 “Principles of Good Laboratory Practice” and the Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation No. 708n “Good laboratory practice” (23.08.2010).

Results. The content of heavy metals, and the microbiological purity of the therapeutic clay “Undorovskaya” met all the requirements of the current regulatory documents. Based on test results for acute and subchronic toxicity, the authors calculated a dose that did not cause the death of experimental animals being singly injected into the stomach. The paper presents the dynamics of body weight, the evaluation of behavioral responses in the “Open field” test with the administration of various doses, hematologic and biochemical blood indices. The values of the mass coefficients of internal organs were calculated, and their histological examination was carried out.

Conclusion. The results of examination of mineralogical composition and microbiological purity indicate that the therapeutic clay can be studied in in vivo tests on laboratory animals. In case of single and long-term administration (subchronic experiment), the therapeutic clay “Undorovskaya” (doses 3000, 6000, 8000, 10 000 mg/kg) does not have a toxic effect on mice (males and females) and does not cause pathological changes in the internal organs (liver, stomach, and intestines).

Keywords: therapeutic clay “Undorovskaya”, mineralogical composition, microbiological purity, safety.

References

1. Bondarev E.V., Shtrygol' S.Yu., Dyryaviy S.B. Primenenie ehnterosorbentov v medicinskoj praktike [Application of enterosorbents in medical practice]. *Provizor*. 2008; 13: 45–49 (in Russian).
2. Vershinin A.S., Polilov A.N. Enterosorbtsiya v praktike semeynogo vracha [Enterosorption in the practice of a family doctor]. *Rus. med. zhurn*. 2008; 16: 314 (in Russian).
3. Bondarev A.V. Analiz rossiyskogo farmatsevticheskogo rynka enterosorbtsionnykh lekarstvennykh preparatov [Analysis of the Russian pharmaceutical market for enterosorption drugs]. *Aktual'nye problemy gumanitarnykh i estestvennykh nauk*. 2013; 10 (Part 2): 259–261 (in Russian).
4. Zhilyakova E.T., Bondarev A.V. Izuchenie morfologii i poristoy struktury meditsinskikh glin [Study of the morphology and porous structure of therapeutic clays]. *Farmatsiya i farmakologiya*. 2014; 2: 3–5 (in Russian).
5. Men'shikova L.A., Pechenkina I.G., Bereza N.S. Osobennosti doklinicheskikh issledovaniy innovatsionnykh lekarstvennykh preparatov. [Peculiarities of innovative drugs preclinical research]. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*. 2013; 1 (2): 90–95 (in Russian).

6. Gus'kova T.A. Doklinicheskoe toksikologicheskoe izuchenie lekarstvennykh sredstv kak garantiya bezopasnosti provedeniya ikh klinicheskikh issledovaniy [Preclinical toxicological study of drugs as a guarantee of their clinical study safety]. *Toksikologicheskij vestnik*. 2010; 5 (104): 2–6 (in Russian).
7. Gus'kova T.A. *Toksikologiya lekarstvennykh sredstv* [Toxicology of pharmacologic agent]. Moscow: Meditsina; 2008. 890 (in Russian).
8. Permyakov A.A., Eliseeva E.V., Yuditskiy A.D., Isakova L.S. Povedencheskie reaktsii u eksperimental'nykh zhivotnykh s razlichnoy prognosticheskoy ustoychivost'yu k stressu v teste "otkrytoe pole" [Behavioral reactions in experimental animals with different prognostic resistance to stress in "open field" test]. *Vestnik Udmurtskogo universiteta*. 2013; 3: 83–90 (in Russian).
9. Kaluev A.V. Izuchenie trevozhnosti u zhivotnykh – vchera, segodnya, zavtra [The study of anxiety in animals – yesterday, today, tomorrow]. *Stress i povedenie: materialy 7-y mezhdistsiplinarnoy konf. po biologicheskoy psikiatrii* [Stress and behavior: Proceedings of the 7th interdisciplinary conference on biological psychiatry]. Moscow; 2003: 145–148 (in Russian).
10. Adilov V.B., Berezhnov E.S., Borovnitskiy I.P. *Klassifikatsiya mineral'nykh vod i lechebnykh gryazey dlya tseley ikh sertifikatsii: metod. ukazaniya № 2000/34* [Classification of mineral waters and medicinal mud for the purpose of their certification: Methodological instructions No. 2000/34]. Moscow; 2000 (in Russian).
11. Makarov V.G. *Fiziologicheskie, biokhimicheskie i biometricheskie pokazateli normy eksperimental'nykh zhivotnykh: spravochnik* [Physiological, biochemical and biometric indicators of the norm in experimental animals: reference book]. St. Petersburg: LEMA; 2013. 116 (in Russian).