

## АНАЛИЗ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ЗАМЕЩЕННЫХ 1H-ИНДОЛ-4-,6-,7-ИЛАМИНОВ, ОБЛАДАЮЩИХ ПРОТИВОМИКРОБНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Кириутина А.И.<sup>1</sup>, Платкова Т.Н.<sup>1</sup>, Степаненко И.С.<sup>1</sup>, Ямашкин С.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва», Саранск, e-mail: ymahkina@mail.ru;

<sup>2</sup>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Мордовский государственный педагогический университет имени М.Е. Евсевьева», Саранск, e-mail: yamashk@yandex.ru

Поиск новых соединений с противомикробной активностью – один из принципов преодоления устойчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам. Одним из важных компонентов исследования биологически активных веществ является тестирование новых соединений на моделях *in vitro* и *in vivo* с целью исследования их безопасного применения в организме человека. Соединения нового класса с доказанной противомикробной активностью, производные замещенных 1H-индол-4-, 6-, 7-иламинов, были исследованы в МТТ-тесте и на модели острой токсичности после однократного введения экспериментальным животным. Для проведения статистического анализа полученных результатов использовались методы вариационной статистики, достоверность определяли с использованием t-критерия Стьюдента при  $p \leq 0,05$ , для вычисления основных параметров острой токсичности использовали метод Литчфильда и Уилкоксона. Группа новых соединений с потенциальной противомикробной активностью в диапазоне концентраций 50,0–1000,0 мкг/мл не оказывала токсического действия на клеточную культуру HeLa *in vitro* (70,4–112,0% жизнеспособных клеток) и представляет собой практически (класс токсичности III–IV) нетоксичные соединения при используемых путях введения *in vivo* (накожное нанесение – LD<sub>50</sub> более 5000 мг/кг; внутрибрюшинная инъекция – LD<sub>50</sub> 596–1753 мг/кг; введение внутривенно – LD<sub>50</sub> 751–1994 мг/кг).

Ключевые слова: противомикробные соединения, производные замещенных 1H-индол-4-, 6-, 7-иламинов, цитотоксичность, острая токсичность.

## SAFETY ANALYSIS OF DERIVATIVES OF SUBSTITUTED 1H-INDOL-4-, 6-, 7-ILAMINES WITH ANTI-MICROBIAL EFFECT

Kiryutina A.I.<sup>1</sup>, Platkova T.N.<sup>1</sup>, Stepanenko I.S.<sup>1</sup>, Yamashkin S.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>National Research Mordovia State University named after N.P. Ogarev, Saransk, e-mail: ymahkina@mail.ru;

<sup>2</sup>Mordovian State Pedagogical University named after M.E. Evseviev, Saransk, e-mail: yamashkin@yandex.ru

The search for new compounds with antimicrobial activity is one of the principles of overcoming the resistance of microorganisms to antimicrobial drugs. One of the important components of the study of biologically active substances is the testing of new compounds in *in vitro* and *in vivo* models in order to study their safe use in the human body. Compounds of a new class with proven antimicrobial activity, derivatives of substituted 1H-indol-4-, 6-, 7-ylamines, were investigated in the MTT test and in a model of acute toxicity after a single administration to experimental animals. To carry out a statistical analysis of the results obtained, the methods of variation statistics were used, the reliability was determined using the Student's t-test, and the Litchfield and Wilcoxon method was used to calculate the main parameters of acute toxicity. A group of new compounds with potential antimicrobial activity in the concentration range of 50,0–1000,0 µg / ml does not have a toxic effect on the HeLa cell culture *in vitro* (70.4–112.0% of viable cells) and are practically (toxicity class III–IV) non-toxic compounds for the used routes of administration *in vivo* (cutaneous application – LD<sub>50</sub> more than 5000 mg/kg; intraperitoneal injection – LD<sub>50</sub> 596–1753 mg/kg; intragastric administration – LD<sub>50</sub> 751–1994 mg/kg).

Keywords: antimicrobial compounds, derivatives of substituted 1H-indol-4-, 6-, 7-ylamines, cytotoxicity, acute toxicity.

Терапия антимикробными препаратами – одна из немногих этиотропных терапий, устраняющих патогенные микроорганизмы. Открытие и разработка противомикробных препаратов для клинического применения – это самый успешный момент в медицине [1].

Механизм действия противомикробных препаратов включает активность в отношении важных компонентов микробного обмена, таких как синтез клеточной стенки, синтез белка, синтез рибонуклеиновой кислоты (РНК), синтез дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) [2, 3].

При терапии и сдерживании инфекционных заболеваний успешное использование противомикробных средств сталкивается с определенными трудностями – микроорганизмы способны развивать различные формы резистентности к антимикробным препаратам. Чем шире применение антимикробных препаратов, тем, соответственно, выше уровень и сложность возникающей резистентности. Возникновение мультирезистентности (множественной) к нескольким противомикробным препаратам стало ведущей проблемой современного здравоохранения, так как существенно снижается количество доступных и эффективных противомикробных средств терапии инфекций, вызванных резистентными микроорганизмами [4, 5].

В настоящее время микроорганизмы развивают устойчивость к широкому спектру используемых противомикробных препаратов. Преодоление устойчивости микроорганизмов и ранее достигалось путем обнаружения и разработки новых противомикробных соединений или разработкой производных, полученных полусинтетическим путем. Поэтому способы решения этой проблемы, такие как поиск новых соединений, понимание механизма действия новых соединений и того, как работают механизмы сопротивления микроорганизмов, не теряют актуальности и в XXI в. [6, 7].

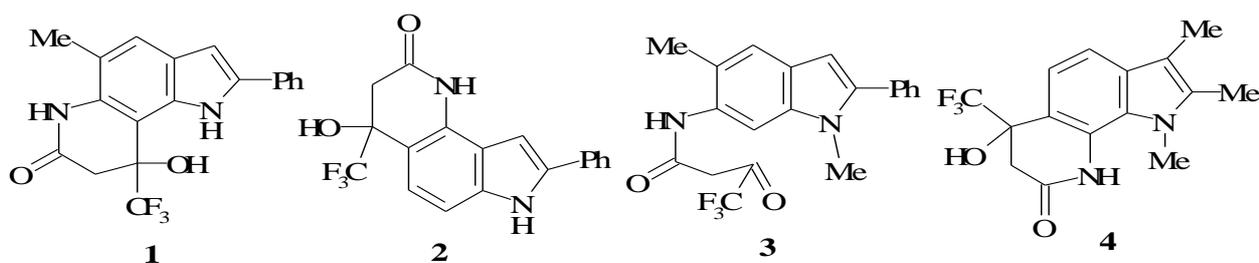
Все ускоряющееся развитие фундаментальных наук создает условия для поиска и синтеза новых фармакологически активных молекул, способных выступать в роли лекарственных препаратов. Альтернативные источники создания потенциальных лекарственных форм значительно раздвигают рамки возможностей фармакотерапии основных заболеваний человека, как инфекционного генеза, так и неинфекционного. Вместе с этим внедрение лекарственных препаратов на основе новых химических субстанций в клиническую практику возможно лишь при условии тщательного доклинического изучения их фармакологической активности и безопасности [8]. В целях научно-практического обоснования безопасного применения данных об активности соединений нового класса – фторсодержащих производных замещенных 1*H*-индол-4-,6-,7-иламинов [9] – возникла необходимость изучить токсические эффекты этих соединений.

Для оценки выживаемости клеток, цитотоксического эффекта (потери живых клеток) и пролиферации (изменения пролиферации в состоянии покоя) традиционно используется метилтетразолиевый тест (МТТ-тест). Токсикометрическая характеристика нового соединения (кандидата в лекарственное средство) – острая токсичность – определяется как его

способность вызывать смерть экспериментальных животных после однократного введения или при введении через короткие интервалы времени в течение дня. Анализ острой токсичности необходим для подсчета летальных, токсических и переносимых доз исследуемого вещества и определения причин гибели экспериментальных животных [8].

Цель исследования: обоснование безопасного применения тестируемых соединений нового класса – трифторметилированных производных замещенных 1*H*-индол-4-, 6-, 7-иламинов с противомикробной активностью.

**Материалы и методы исследования.** Исследуемые соединения. В работе исследовались трифторметилированные производные замещенных 1*H*-индол-4-, 6-, 7-иламинов (рис. 1). Тестерные соединения использовали в растворах, растворитель – «Димексид» (основной действующий компонент – диметилсульфоксид (ДМСО), в работе использовали коммерческий концентрат для приготовления растворов для наружного применения (ООО «Биофармакс», Россия).



*Исследуемые соединения: трифторметилпирроло[2,3-*f*]хинолинон (1), трифторметилпирроло[2,3-*h*]-хинолинон (2), трифторметил-1*H*-индол-6-илоксобутанамид (3), трифторметилпирроло[3,2-*h*]хинолинон (4)*

Тестерная культура клеток. Культура клеток HeLa ATCC ® CCL-2™ – эпителиальные клетки аценокарциномы шейки матки человека (ГУ «НИИВ им. Д.И. Ивановского» РАМН).

Тестерные животные. В эксперименте использованы мыши (масса 18–20 г, n=170), крысы (масса 180–200 г, n=210) – белые аутбредные (нелинейные), обоего пола, возраст 2,5 месяца.

Исследование одобрено этическим комитетом Медицинского института Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва».

Цитотоксическое действие исследуемых соединений оценивали *in vitro* в МТТ-тесте. Анализировали выживаемость культуры опухолевых клеток HeLa ATCC ® CCL-2™.

Исследуемые соединения оказывают цитотоксическое действие, если процентный показатель оптической плотности полученного раствора меньше 70%. Исследуемые соединения тестировались в концентрациях 50,0 мкг/мл, 500,0 мкг/мл, 1000,0 мкг/мл. Выживаемость культуры клеток в контроле составляла 100%. В процентах к контролю выражали долю метаболически активных/жизнеспособных клеток [8, 10, 11, 12].

Острую токсичность исследуемых соединений анализировали по способности вызывать гибель экспериментальных животных после однократного введения. Тестерные соединения вводили лабораторным крысам и мышам различными путями – внутрибрюшинно, внутривентрикулярно и подкожно [8]. Среднелетальные дозы LD<sub>50</sub>, LD<sub>16</sub>, LD<sub>84</sub> как основные параметры острой токсичности вводимых соединений определяли методом Литчфильда и Уилкоксона [8, 13]. Концентрация исследуемых соединений: перорально через желудочный зонд – от 100,0 до 2000,0 мкг/мл, внутрибрюшинно инъекционно – от 100,0 до 2000,0 мкг/мл, подкожно на участок кожи размером 5x5 см – от 2000,0 до 5000,0 мкг/мл. В качестве контроля использовали растворитель ДМСО и раствор хлорида натрия 0,9%-ный (изотонический) в аналогичных дозах. Всех лабораторных животных, погибших в результате исследования, вскрывали. Животных, выживших по окончании эксперимента, подвергали эвтаназии и проводили их патологоанатомическое вскрытие.

Анализ выполненных экспериментов осуществлялся в четырех последовательностях.

Статистическая обработка результатов. Для проведения статистического анализа полученных данных использовались методы вариационной статистики, достоверность определяли с использованием t-критерия Стьюдента, статистически достоверными считались результаты, отличающиеся от контроля при  $p \leq 0,05$ . Для вычисления основных параметров острой токсичности использовали метод Литчфильда и Уилкоксона [8, 13]. Данные обрабатывали статистически с использованием программы Stat 7.0.

**Результаты исследования и их обсуждение.** МТТ-тест показал, что в исследуемом интервале концентраций тестерные соединения не обладали способностью оказывать цитотоксическое действие на эукариотические клетки тестерной культуры клеток – линии опухолевых клеток HeLa (ATCC ® CCL-2™).

Показатели жизнеспособности тестерных клеток аденокарциномы шейки матки человека в присутствии трифторметилпирроло[2,3-*h*]-хинолинона (**2**), трифторметил-1*H*-индол-6-илоксобутанамид (**3**), трифторметилпирроло[3,2-*h*]хинолинона (**4**) оказались более 70% (табл. 1). Статистически значимого отличия от контроля не наблюдалось.

Показатель выживаемости линии опухолевых клеток HeLa на фоне добавления трифторметилпирроло[2,3-*f*]хинолинона (**1**) превышал контрольные цифры, статистически

значимого эффекта не наблюдалось, но прослеживалась тенденция к увеличению количества метаболически активных клеток в его присутствии.

Таблица 1

Показатели выживаемости культуры клеток HeLa при культивировании с тестерными соединениями *in vitro*

Тестерное соединение	Доза тестерного соединения	Эквивалент жизнеспособных клеток (по отношению к контролю), %
Контроль		100
<b>1</b>	50,0 мкг/мл	106,2±3,5
	500,0 мкг/мл	109,5±2,4
	1000,0 мкг/мл	112,2±2,6
<b>2</b>	50,0 мкг/мл	96,1±3,8
	500,0 мкг/мл	92,5±3,2
	1000,0 мкг/мл	89,2±1,5
<b>3</b>	50,0 мкг/мл	95,7±3,4
	500,0 мкг/мл	92,2±4,4
	1000,0 мкг/мл	89,3±3,1
<b>4</b>	50,0 мкг/мл	85,1±3,8
	500,0 мкг/мл	71,2±7,5
	1000,0 мкг/мл	70,4±1,3

При внутрибрюшинном введении лабораторным мышам и крысам соединений **1–4** LD<sub>50</sub> укладывалась в диапазон 596,0–1753,0 мг/кг (табл. 2).

Перед гибелью животных наблюдалась сходная картина острого токсикоза. Состояние экспериментальных животных перед гибелью через 15–20 мин после введения тестерного соединения: общее состояние – угнетенное, двигательная активность – снижена, дыхательная функция – вначале частое, поверхностное дыхание, затем – глубокое и судорожное. Поведение экспериментальных животных: забиваются в угол, иногда проявляют признаки повышения рефлекторной возбудимости. По мере нарастания интоксикации: тремор и подергивание конечностей, одышка, приступ тонических судорог, боковое положение и гибель животных. Патологоанатомическое вскрытие экспериментальных животных после гибели на фоне применения тестерных соединений: точечные кровоизлияния в тканях сердца и легких, увеличение печени, дряблость почек – неспецифические изменения паренхиматозных органов, характерные для острого токсикоза.

Пероральное введение через желудочный зонд экспериментальным мышам соединений **1–4** демонстрировало LD<sub>50</sub> в диапазоне 751,0–1994,0 мг/кг. Гибели лабораторных крыс при внутрижелудочном введении тестерных соединений не наблюдалась, поэтому невозможно было определить показатель средней смертельной дозы.

Показатели острой токсичности исследуемых соединений *in vivo*

Способ введения, исследуемое животное	Пол	Исследуемые показатели	Исследуемое соединение			
			Трифторметил-пирроло[2,3- <i>f</i> ]-хинолинон (1)	Трифторметил-пирроло[2,3- <i>h</i> ]-хинолинон (2)	Трифторметил-1 <i>H</i> -индол-6-илоксобутанамид (3)	Трифторметил-пирроло[3,2- <i>h</i> ]-хинолинон (4)
Внутрибрюшинное введение (мыши)	Самцы	LD <sub>50</sub>	863 (771÷967)	964 (796÷1166)	853 (755÷964)	1753 (1565÷1963)
		LD <sub>16</sub>	616	716	606	1306
		LD <sub>84</sub>	1042	1234	1032	2032
	Самки	LD <sub>50</sub>	760 (679÷851)	859 (709÷1039)	748 (662÷845)	1649 (1472÷1847)
		LD <sub>16</sub>	458	658	507	1247
		LD <sub>84</sub>	977	1197	965	1966
Внутрибрюшинное введение (крысы)	Самцы	LD <sub>50</sub>	623 (556÷698)	721 (605÷857)	711 (629÷803)	1511 (1337÷1707)
		LD <sub>16</sub>	494	565	586	1013
		LD <sub>84</sub>	748	899	938	1838
	Самки	LD <sub>50</sub>	590 (527÷661)	690 (580÷800)	596 (527÷673)	1380 (1221÷1560)
		LD <sub>16</sub>	411	510	393	1010
		LD <sub>84</sub>	707	897	887	1675
Внутрижелудочное введение (мыши)	Самцы	LD <sub>50</sub>	1105 (969÷1259)	1106 (945÷1294)	1095 (978÷1226)	1994 (1780÷2233)
		LD <sub>16</sub>	833	893	821	1521
		LD <sub>84</sub>	1501	1401	1397	2390
	Самки	LD <sub>50</sub>	1050 (921÷1197)	1152 (985÷1348)	1041 (929÷1166)	2041 (1822÷2286)
		LD <sub>16</sub>	721	821	710	1610
		LD <sub>84</sub>	1391	1445	1334	2334
Внутрижелудочное введение (крысы)	Самцы	LD <sub>50</sub>	не определена*			
	Самки	LD <sub>50</sub>	не определена*			
Накожное нанесение (крысы)	Самцы	LD <sub>50</sub>	не определена*			
	Самки	LD <sub>50</sub>	не определена*			

Примечание: \* LD<sub>50</sub> – не определена, так как гибели животных в эксперименте не наблюдалось.

Состояние животных после введения соединений в дозе более 1000,0 мкг/мл: общее состояние – угнетенное, двигательная активность – снижена, реакция на звуковые раздражители – вздрагивание и подпрыгивание на месте, иногда появлялись тремор, одышка. Описанные симптомы наблюдались в течение 30–40 мин и исчезали через 6–12 ч по мере восстановления жизненных функций организма лабораторных животных. Дальнейшее наблюдение в течение последующих суток свидетельствовало о полном восстановлении функций: животные внешне – здоровы, груминг – активный, дыхательная функция – полноценная, количество дыхательных движений в пределах физиологической нормы, потребление корма и воды – активное; физиологические отправления – физиологическая норма; масса животного: первые двое суток – некоторое снижение, затем – физиологическое прибавление в весе. Статистически значимого отличия прибавки в весе лабораторных животных в контрольной и опытных группах не наблюдалось. Патологоанатомическое вскрытие выживших экспериментальных животных после эвтаназии на фоне применения тестерных соединений: отсутствие гиперемии, нарушения целостности слизистой оболочки, макроскопических признаков повреждения желудка. Статистически значимых отличий от животных контрольной группы не выявлено.

Гибели экспериментальных животных, как мышей, так и крыс, при накожном нанесении тестерных препаратов в дозах от 2000,0 до 5000,0 мкг/кг не наблюдалось, поэтому определение LD<sub>50</sub> при данном пути введения не представлялось возможным. Патологоанатомическое вскрытие выживших экспериментальных животных после эвтаназии на фоне применения тестерных соединений: видимых изменений в макроскопической картине не выявлено.

**Заключение.** Цитотоксичность препаратов **1–4**, проанализированная с использованием культуры опухолевых клеток HeLa ATCC® CCL-2™ в МТТ-тесте *in vitro*, свидетельствует о том, что тестерные соединения не способны оказывать токсическое воздействие на клетки в исследуемом интервале концентраций (50,0–1000,0 мкг/мл). При внутрибрюшинном введении экспериментальным животным (мышам, крысам) соединения **1–4** проявляли свойства умеренно токсичных веществ. Но при других путях введения: внутрижелудочном, перорально через зонд – крысам и накожном – лабораторным мышам и крысам – определение средней смертельной дозы не представлялось возможным в силу объективных причин. Так, в максимально возможной концентрации для данных способов тестерные соединения не вызвали гибели экспериментальных животных. Значимых различий по гендерному признаку животных на фоне введения исследуемых соединений не выявлено. Препарат диоксидин, используемый в качестве препарата сравнения в эксперименте по определению противомикробной активности исследуемых соединений [9], является широко известным

антимикробным средством, активным в отношении как грамотрицательных, так и грамположительных микроорганизмов [14, 15], но препарат обладает мутагенностью и способен индуцировать антибиотикорезистентность микроорганизмов [16].

Тестируемые концентрации исследуемых соединений **1–4** в тесте Эймса не проявили признаков мутагенности [17]. Учитывая результаты противомикробной активности [9], по совокупности результатов, полученных в настоящем экспериментальном исследовании, изучаемые соединения по классификации токсичности веществ [18] относятся к практически нетоксичным веществам (класс токсичности III–IV). Цель экспериментального исследования достигнута. Безопасное применение исследуемых соединений в качестве противомикробных средств для химиотерапии *in vivo* возможно. Анализ полученных данных изучения острой токсичности указывает на то, что данные производные, скорее всего, не всасываются при приеме внутрь, так как в результате эксперимента было невозможно установить показатель ЛД<sub>50</sub> при введении тестерных соединений **1–4** внутрижелудочно на фоне токсичности, определяемой при внутрибрюшинном инъекционном введении. Возможно, что создание пероральных лекарственных форм с ожиданием накопления необходимых противомикробных концентраций в крови бесперспективно. Но местное применение исследуемых соединений, например для обработки раневых поверхностей, учитывая активность в отношении возбудителей инфекций области хирургического вмешательства [9], заслуживает внимания и определяет необходимость дальнейшего исследования.

### Список литературы

1. Гомон Ю.М., Колбин А.С. Анализ критериев эффективности при проведении фармакоэкономических исследований антимикробных лекарственных средств (данные ограничительных списков РФ в 2014-2016 гг.) // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017. Т. 19. № 3. С. 260-264.
2. Jedrey H., Lilley K.S., Welch M. Ciprofloxacin Binding to GyrA Causes Global Changes in the Proteome of *Pseudomonas aeruginosa*. FEMS Microbiology Letters. 2018. vol. 365. no 13. P. 134.
3. Franco M.D., Paone L., Novati R., Giacomazzi C.G., Bagattini M., Galotto C., Montanera P.G., Triassi M., Zarrilli R. Molecular epidemiology of carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* in Valle d'Aosta region, Italy, shows the emergence of KPC-2 producing *Klebsiella pneumoniae* clonal complex 101 (ST101 and ST1789). BMC Microbiology. 2015. vol. 15. no 1. P. 260.
4. McGeary R.P., Tan D., Schenk G. Progress toward inhibitors of metallo- $\beta$ -lactamases. Future Medical Chemistry. 2017. vol. 9. no 7. P. 673-691.

5. Rostami H., Hamed H., Yolmeh M. Some Biological Activities of Pigments Extracted from *Micrococcus roseus* (PTCC 1411) and *Rhodotorula glutinis* (PTCC 5257). *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. 2016. vol. 29. no 4. P. 684-695.
6. Ramanathan B., Jindal H.M., Le C.F., Gudimella R., Anwar A., Razali R., Poole-Johnson R., Manikam R., Sekaran S.D. Next generation sequencing reveals the antibiotic resistant variants in the genome of *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS One*. 2017. vol. 12. no 8. P. e0182524.
7. Obayiuwana A., Ogunjobi A., Yang M., Ibekwe M. Characterization of Bacterial Communities and Their Antibiotic Resistance Profiles in Wastewaters Obtained from Pharmaceutical Facilities in Lagos and Ogun States, Nigeria. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2018. vol. 15. no 7. P. 1365.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К. 2012. 944 с.
9. Stepanenko I.S., Yamashkin S.A., Kostina Y.A., Batarsheva A.A., Mironov M.A. A New Group of Compounds Derived from 4-, 5-, 6- and 7-Aminoindoles with Antimicrobial Activity. *Research Results in Pharmacology*. 2018. vol. 4. no 3. P. 17-26.
10. Mosmann T. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assay. *Journal of Immunological Methods*. 1983. vol. 65. no 1-2. P. 55-63.
11. *Methods in Molecular Biology* / eds S. O'Hare, C. K. Atterwill. Totowa, New Jersey: Humana Press. 1995. vol. 43. P. 138-149.
12. *Cancer Cell Culture : Methods and Protocols* / ed. Simon P. Langdon. Totowa, New Jersey: Humana Press. 2004. 335 p.
13. Ланг Т.А., Сесик М. Как описывать статистику в медицине / пер. с англ. под ред. В. П. Леонова. М.: Практическая медицина. 2011. 480 с.
14. Падейская Е.Н. Антибактериальный препарат диоксидин: особенности биологического действия и значение в терапии различных форм гнойной инфекции // *Инфекции и антимикробная терапия*. 2011. Т. 3. № 5. С. 105-155.
15. Попов Д.А. Диоксидин: антимикробная активность и перспективы клинического применения на современном этапе // *Антибиотики и химиотерапия*. 2013. Т. 58. № 3-4. С. 37-42.
16. Мазанко М.С., Чистяков В.А., Празднова Е.В., Покудина И.О., Чурилов М.Н., Чмыхало В.К., Батюшин М.М. Диоксидин индуцирует антибиотикорезистентность бактерий // *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2016. № 4. С. 149-154.
17. Платкова Т.Н., Кирютина А.И., Степаненко И.С., Ямашкин С.А. исследование мутагенного потенциала производных замещенных 1*H*-индол-4-,6-,7-иламинов в тесте эймса

*Salmonella*/микросомы // Современные проблемы науки и образования. 2021. № 4. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=31021> (дата обращения: 21.08.2021).

18. Общие вопросы. Гигиена, токсикология, санитарная оценка токсичности и опасности дезинфицирующих средств (Методические указания МУК № 1.2.1105-02). Утверждены МЗ РФ 10.02.2002. М., 2002. 22 с.