УДК 612.1
DOI:10.54503/0514-7484-2022-62.2-75

Сравнительный анализ веществ пиридин-2-карбоксальдегид и наносеребро «Аргитос»

А.Г. Карапетян, А.М. Даллакян, Ж.Г. Петросян, В.С. Григорян

Национальный ожоговый центр
0054, Ереван, Давидашен, п/я 25

Ключевые слова: ожоги, пролиферативная активность, хромосомные аберрации, плоидность клеток, количество эритроцитов, лейкоцитов, уровень гемоглобина

Сложности ведения больных с ожоговыми и гнойными ранами, попытки использования многих препаратов для ускорения репарации и быстрейшего образования рубцов, снижения частоты и тяжести осложнений привели к разработке новых препаратов на основе серебра. Обоснованием более широкого внедрения в клиническую практику препаратов на основе серебра является широкий антибактериальный спектр, включающий как грамотрицательные, так и грамположительные бактерии, и отсутствие развития резистентности бактериальной флоры к этим препаратам.

О целебных свойствах серебра и о его способности уничтожать болезнетворные микроорганизмы известно с давних времен. Вплоть до двадцатого века препаратами серебра лечили гнойные раны, ожоги, даже тиф и туберкулез. Raulin (1869), von Behring (1890) и von Nageli (1893) изучали воздействие малых количеств серебра и нитрата серебра на бактерии и плесень. Антисептик (порошок нитрата серебра) и мазь (коллоидное серебро в виде мази) были использованы для лечения ран и кожных заболеваний. Schweizer установил, что обработка серебром не повреждает и не уничтожает полезные микроорганизмы в воде и воздухе.

В настоящее время доказан биохимический механизм антимикробного воздействия препаратов серебра. Проникая внутрь клетки, серебро откладывается в вакуолях и на клеточной стенке микроорганизма. Перечисленные механизмы антибактериальных эффектов катиона серебра на микробные клетки не исчерпывают всех аспектов воздействия и необходимы дальнейшие исследования.

Учитывая вышеназванные преимущества серебра при лечении травм мы решили апробировать наносеребро «Аргитос» как средство, ускоряющее заживляемость ран.

В настоящее время для лечения ожоговых и травматических ран, особенно при гнойных осложнениях, местно применяют мази, пластыри и спреи, содержащие препараты на основе серебра.

Наносеребро «Аргитос» обладает рядом положительных свойств и преимуществ:

- высокая биоцидная активность в отношении бактерий, вирусов, грибков;
- длительное пролонгирующее действие;
- высокая стабильность: раствор сохраняет неизменным свои биоцидные и физико-химические свойства в течение долгого времени;
- широкий рабочий диапазон pH: растворы сохраняют стабильность и биоцидную активность в различной среде;
- возможность ввода в материалы на органической и водной основе;
- низкая токсичность и аллергенность.

Второе вещество, которое мы должны были апробировать – пиридин-2- карбоксальдегид (Триптофан-2 ПКА, формула $C_{17}H_{14}N_3O_2K$). Пиридин-2-карбоксальдегид – один из трех изомерных органических соединений пиридинальдегидов, представляет собой бесцветную маслянистую жидкость с характерным запахом. Он служит предшественником других соединений, представляющих интерес в координационной химии и фармацевтике.

Препарат пралидоксим (обычно в виде хлоридных или йодистых солей, относится к семейству соединений, называемых оксимами, которые связываются с ацетилхолинэстеразой, инактивированной фосфорорганическими соединениями) может быть получен из 2-формилпиридина.

Альдегидная функциональная группа подвергается нуклеофильной атаке, в частности аминами, образующими основания Шиффа, которые служат бидентатными лигандами [5,7].

Целью наших исследований было изучение возможного терапевтического действия при термических ожогах веществ «Аргитос» в виде спрея (на кожную поверхность) и жидкости (для внутрибрюшинной инъекции) и пиридин-2-карбоксальдегид (Триптофан-2 ПКА, в/б)

Материал и методы

Как возможные терапевтические средства были исследованы следующие химические соединения: «Аргитос» в виде спрея, в/б инъекции в объеме 1 мл и Триптофан-2 ПКА ($C_{17}H_{14}N_3O_2K$) также с в/б инъекцией в виде водного раствора – дозой 20мг/кг.

Эксперименты проводились на 40 половозрелых, белых, беспородных крысах средней массой 180г.

Животные были разделены на 4 группы:

I – с термическим ожогом + «Аргитос» (спрей),

II – с термическим ожогом + «Аргитос» (в/б),

III – с термическим ожогом + Триптофан-2 ПКА, в/б,

IV – только с термическим (чистым) ожогом (контрольная группа).

Животным на эпилированную поверхность кожи в области спины наносился термический ожог III АВ степени, 30% поверхности тела. В I группе после ожога на ожоговую поверхность наносилось вещество «Аргитос» в виде спрея. Через 30 минут после нанесенного ожога животным II и III групп внутрибрюшинно вводились комплексы «Аргитос» (1 мл) и Триптофан-2 ПКА дозой 20мг/кг в виде водного раствора.

Контрольную группу составляли животные с чистым ожогом. Инъекция проводилась через каждые двое суток в течение 14 дней до начала отторжения струпа раны.

Активность этих соединений оценивалась по выживаемости, средней продолжительности жизни, показывающей динамику гибели подопытных крыс в течение 30-дневного мониторинга.

Проводился визуальный мониторинг ожоговой раны. Наблюдения велись в течение 60 дней, когда раны полностью заживут и покроются шерстью.

Были также проведены исследования по изучению гематологических показателей. Из хвостовой вены в определенные сроки (на 3,7,14, 21 и 30-е сутки) забиралась кровь для гематологического анализа. Определялись следующие показатели: время свертываемости крови (ВСК); число лейкоцитов (по классической методике с помощью камеры Горяева); уровни гемоглобина, эритроцитов, тромбоцитов, гематокрита.

Материалом для цитогенетического исследования является костный мозг из бедренной кости животных. По методике Ford-Wollam определялись: митотический индекс (МИ) в ‰, хромосомные аберрации (ХА) в % и полиплоидные клетки (ПК) в %.

Статистический анализ полученных данных проводился с помощью ряда компьютерных программ, предназначенных для статистической обработки массивов цифровых данных. Наряду с разработанными нами программами, использованы специализированные статистические пакеты Statsoft-7, SPSS-10.0, MedCalc и StatGraphics Plus. Проведены корреляционный, регрессионный методы анализа [1,2,6].

Результаты и обсуждение

Результаты исследований показали, что выживаемость животных одинакова во всех трех группах (60%). Средняя продолжительность жизни, судя по показателям, резко не разнится (табл. 1), тем не менее, благодаря использованию методов системного анализа (логарифми-

ческому регрессионному анализу), более благоприятным прогностическим исходом является применение Триптофана-2 ПКА. Уравнения регрессионного анализа представлены на рис. 1, где x – количество дней эксперимента, y – выживаемость групп.

Таблица 1

Выживаемость и средняя продолжительность жизни

Группы	«Аргитос» (спрей)	«Аргитос» (инъекция)	Триптофан-2 ПКА (инъекция)
Выживаемость	60%	60%	60%
Средняя продолжительность жизни	21,8 дня	20 дней	22 дня

Визуальный мониторинг за животными показал, что регенерация эпителия ожоговой раны: эпителизация, обрастание шерстью несколько активнее отмечались в группах с инъекцией Триптофан-2 ПКА по сравнению с группами «Аргитос» (спрей) и «Аргитос» (инъекция).

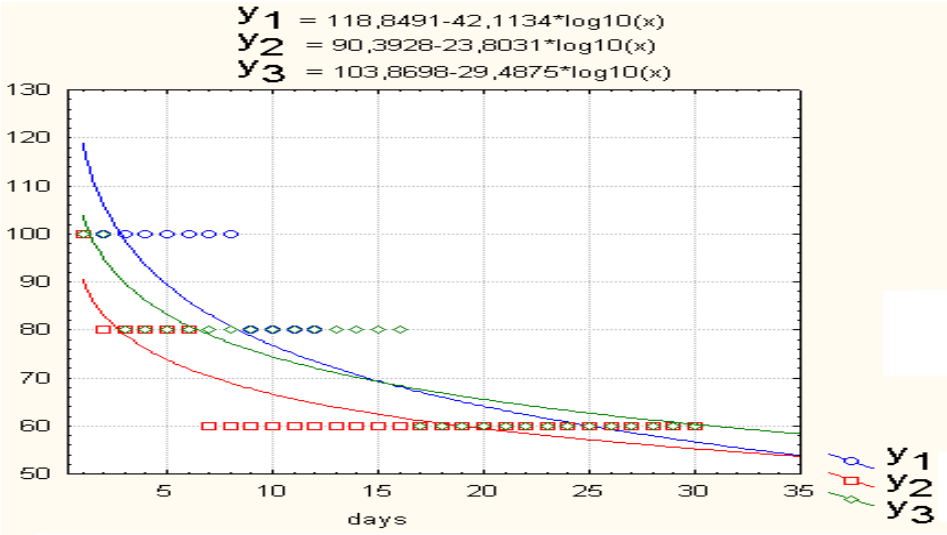

Рис. 1. Выживаемость в группах «Аргитос» (спрей) (y_1), «Аргитос» (инъекция) (y_2) и инъекция Триптофана-2 ПКА (y_3)

Гематологические показатели анализировались в динамике в течение всего срока эксперимента (на 3,7,14,21 и 30-е сутки) при чистом ожоге и инъекциях «Аргитос» и Триптофан-2 ПКА. Результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2

Показатели крови у крыс при чистом ожоге, применении в виде спрея «Аргитос», инъекции «Аргитос» и пиридин-2-карбоксальдегида (Триптофан-2 ПКА)

Показатели	Сутки	Чистый ожог (контрольная группа)	«Аргитос» (спрей)	«Аргитос» (инъекция)	Триптофан-2 ПКА (инъекция)
ВСК (сек)	3	264,0±12,88	279,0±8,28	227,0±5,83*	522.5±31.98*
	7	215,0±14,32	203,3±33,83	235,0±18,03	336.3±9.44*
	14	225,6±13,09	153,3±24,04*	175,0±28,43	252.5±18.87
	21	277.8±15,77	181,7±18,78*	173,3±20,88*	181.7±18.78*
	30	330,0±18,44	214,3±4,7*	215,0±7,64*	231.1±10.23*
Лейкоциты ($x10^9$/л)	3	14,72±0,81	11,50±0,43*	10,64±0,48*	17,57±1,51
	7	16,92±0,618	19,73±2,5	15,13±1,47	13,6±1,16*
	14	11,320±0,89	11,46±0,74	11,33±1,43	14,95±1,14*
	21	13,64±0,67	18,0±1,15*	11,6±8,71	18,0±1,15*
	30	15,96±0,46	5,63±0,94*	6,93±0,54	14,5±0,61*
Тромбо-циты (N/μl)	3	627000,0±10793,52	571000±14000*	561000±21644,8*	643750.0±23837.5
	7	681400,0±62572,38	440000±35118,8*	548333,3±20480,34*	592500.0±51700.26
	14	609000,0±52115,26	346666,7±26822,5*	485000,0±27537,85*	702500.0±23935.68
	21	590000±37524,98	596666,7±940,45	545000,0±7637,63	596666.7±26822.46
	30	571000±22934.69	251666,7±25221,2*	275000,0±39686,27*	586000±2578,29
Эритроциты (N/μl)	3	5920000±130000	4478000±227560,9*	4610000±308042,2*	6480250.0±153764.1*
	7	3130000±100000	4426666,7±417026,5*	5420000±1260639,8	4967500.0±423622.7*
	14	6560000±180000	4343333,3±99387,01*	504666,7±350444,2*	5218000.0±275561.2*
	21	6470000±104000	5436666,7±509716,7	4763333,3±306013,8	3696666.7±105882.5*
	30	6380000±190000	4796666,7±666366,6*	5513333,3±82932,37*	5836666.7±401261.9
Гемоглобин (г/л)	3	134,6±6,06	132,4±5,34	124,6±10,02	149.1±3.93*
	7	136,5±5,5	104,0±12,04*	98,0±7,51*	145.5±7.05
	14	163,3±10,13	129,4±23,26	129,7±16,09	141.0±7.82
	21	162,3±5,95	122,9±23,26	127,6±18,8	110.0±10.07*
	30	161,3±1,76	147,3±9,02	153,4±3,7*	157.3±8.61
Гематокрит (%)	3	47.6±1.4	46,4±2,14	42,4±1,17*	40.8±2.5*
	7	49.1±0.91	38,2±2,68*	37,3±2,12*	37.2±5.14*
	14	47.3±1.11	41,4±7,91	33,2±5,7*	46.4±3.53
	21	48.3±1.18	40,7±3,62*	42,5±1,28*	41.4±0.98
	30	44.5±1.71	44,7±2,1	44,8±2,12	47.7±2.59

* $p<0.05$

По показателям ВСК, уровни тромбоцитов, эритроцитов, гематокрита в I и II группах достоверно отличаются от IV группы (только с чистым ожогом), особенно к концу исследований, что указывает на благотворное влияние на ожоговую травму. Что касается группы с инъекцией Триптофан-2 ПКА, тенденция к нормализации наблюдается у всех показателей. Также отмечается достоверное отличие от контрольной (чистый ожог) группы.

Данные исследования крови, особенно подсчета эритроцитов, гемоглобина и гематокритного числа, степень развития ацидоза, а также интенсивность снижения диуреза и понижения температуры тела, чувствительнее других признаков и гораздо раньше, чем понижение АД, могут указать на угрозу декомпенсации защитных сил организма [3,4]. Поэтому мы рассчитали не только средние значения, но и с помощью мультирегрессионного анализа проанализировали взаимовлияние этих показателей.

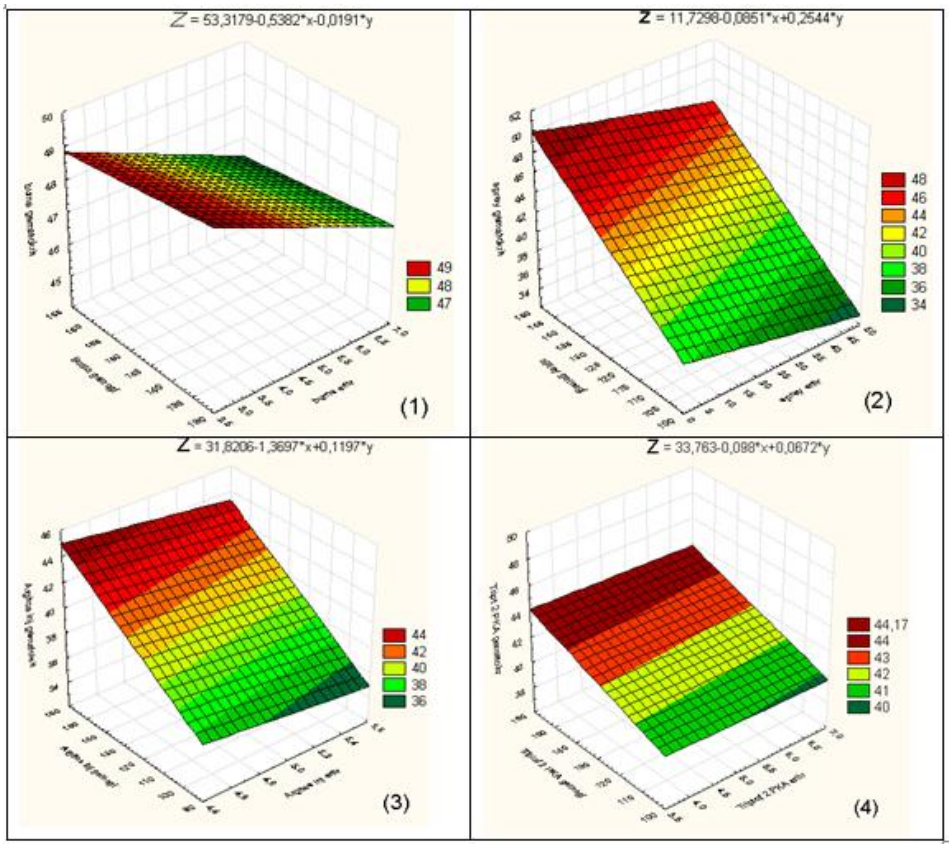

Рис. 2. Результаты мультирегрессионного анализа, описывающего степень взаимовлияния уровней эритроцитов, гемоглобина и гематокрита при ожоге (1), ожог+«Аргитос» (спрей) (2), ожог+«Аргитос» (инъекция) (3) и ожог+ Триптофан-2 ПКА (4)

В уравнениях, полученных нами и приведенных на рис. 2, x – уровень эритроцитов, y – уровень гемоглобина и Z –уровень гематокрита. Коэффициенты уравнений при чистом ожоге имеют разнонаправленный характер в отличие от случаев применения комплексов, что также свидетельствует о благотворном влиянии примененных веществ.

Были проведены также цитогенетические исследования. Цитогенетические показатели подопытных крыс через 30 суток, после того как они были подвергнуты термическому ожогу, представлены в табл. 3.

На крысах после нанесения термического ожога III АВ степени 30% поверхности тела были исследованы, как возможные терапевтические средства, следующие химические соединения: «Аргитос» в виде спрея и в/б инъекции в объеме 1 мл и Триптофан-2 ПКА ($C_{17}H_{14}N_3O_2K$) также с в/б инъекцией в виде водного раствора – дозой 20мг/кг.

Визуальный мониторинг за животными показал, что регенерация эпителия ожоговой раны: эпителизация, обрастание шерстью несколько активнее отмечались в группе с инъекцией Триптофан-2 ПКА по сравнению с группами «Аргитос» (спрей) и «Аргитос» (инъекция).

Таблица 3

Данные кариотипирования крыс на 30-е сутки ожога и терапии

Показатели	Интактная группа	Контроль	«Аргитос»	«Аргитос»	Триптофан-2 ПКА
		только ожог	ожог+спрей	ожог+инъекция	ожог+инъекция
МИ (‰)	20,35±2,5	14,2±1,9 $p_1<0.05$	15,4±1,7 $p_1>0.05$ $p_2>0.05$	15,8±1,9 $p_1>0.05$ $p_2>0.05$	17,2±2,1 $p_1>0.05$ $p_2>0.05$
ХА (%)	2,6±0,26	4,2±0,3 $p_1<0.05$	4,1±0,4 $p_1<0.05$ $p_2>0.05$	3,8±0,46 $p_1<0.05$ $p_2>0.05$	3,4±0,39 $p_1>0.05$ $p_2>0.05$
ПК (%)	0,5±0,08	3,3±0,36 $p_1<0.05$	3,0±0,31 $p_1<0.05$ $p_2>0.05$	2,8±0,33 $p_1<0.05$ $p_2>0.05$	2,9±0,35 $p_1<0.05$ $p_2>0.05$

p_1 – при сравнении группы интактных животных с группами «контроль», «ожог+спрей» и «ожог+инъекция»;

p_2 – при сравнении контрольной группы (только ожог) с группами «ожог+спрей» и «ожог+инъекция»

Как видно из табл. 3, при сравнении цитогенетических показателей клеток костного мозга подопытных крыс с интактной группой, пролиферативная активность (МИ) недостоверно ниже во всех группах, кроме контрольной, а в группе Триптофан-2 ПКА он приближается к норме. Аберрантность (ХА) достоверно выше в первых 3 группах кроме группы Триптофан-2 ПКА. Число ПК доверительно выше во всех четырех группах.

При сравнении результатов цитогенетики подопытных групп с контрольной (только ожог) МИ, хоть и имеет тенденцию (особенно в IV группе) к повышению, но статистически недостоверен. Частота хромосомных аберраций и число полиплоидных клеток при данном сравнении

имеют направленность к понижению, но остаются в пределах недостоверности. Суммируя данные цитогенетического анализа, можно заключить, что «Аргитос» в виде спрея и инъекции и Триптофан-2 ПКА существенно не улучшают цитогенетический статус подопытных крыс. Несколько предпочтительнее показатели химического соединения Триптофан-2 ПКА.

На основании результатов выживаемости, продолжительности жизни, цитогенетических и гематологических показателей можно сделать вывод о том, что исследуемые комплексы («Аргитос» и Триптофан-2 ПКА) проявляют хоть и слабовыраженные, но терапевтические свойства при ожогах. Подобный положительный эффект мы обнаружили на экспериментальных животных.

На основании полученных результатов можно считать, что наносеребро «Аргитос» и Триптофан-2 ПКА обладают возможностью заживления ожоговых поражений. Результаты этого исследования позволяют нам продолжать исследования веществ с новыми целебными свойствами, надеясь открыть новые соединения с высокой эффективностью. В наших исследованиях планируется выявить возможные синергетические свойства веществ.

Предполагается, что при комбинированном действии на организм вышеперечисленных веществ с другими, можем получить результат, при котором суммированный эффект превысит действие, оказываемое каждым компонентом в отдельности (синергизм). Результаты этих исследований позволяют нам продолжать работы, направленные на повышение эффективности этих комплексов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета по науке МОНКС РА в рамках научного проекта № 21T-1F126.

Поступила 27.01.22

Պիրիդին-2-կարբոքսալդեհիդ և նանոարծաթ «Արգիտոս» նյութերի համեմատական վերլուծությունը

Ա.Գ. Կարապետյան, Ա.Մ. Դալլաքյան, Ժ.Հ. Պետրոսյան, Վ.Ս. Գրիգորյան

Հետազոտության նպատակն էր ուսումնասիրել «Արգիտոս» սփրեյի և հեղուկի և պիրիդին-2-կալբոքսալդեհիդի (տրիպտոֆան-2 ПКА) նյութերի հնարավոր թերապևտիկ ազդեցությունը ջերմային այրվածքների դեպքում:

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ արյան ցուցանիշների մակարդակները այրվածք + «Արգիտոս» (սփրեյ) և այրվածք + «Արգիտոս» (ներորովայնային ներարկում (IP) խմբերում տարբերվում են ստուգիչ (միայն այրվածք) խմբից: Տրիպտոֆան-2ՊԿԱ-ի ներարկման դեպքում բոլոր ցուցանիշներով նկատվել է կարգավորման միտում: Նկատվել է տրիպտոֆան-2ՊԿԱ-ի ավելի բարձր արդյունավետությունը: Շնորհիվ մուլտիռեգրեսիոն վերլուծության հնարավոր եղավ ստանալ հավասարումներ, որոնց համաձայն՝ գործակիցները միայն այրվածքի դեպքում հակառակ ուղղվածություն ունեն՝ ի տարբերություն վերը նշված նյութերի կիրառման դեպքերի, ինչը վկայում է նյութերի դրական ազդեցության մասին:

Ամփոփելով բջջագենետիկ վերլուծության տվյալները՝ կարելի է եզրակացնել, որ և՛ «Արգիտոսը» սփրեյի ներարկման տեսքով, և՛ Տրիպտոֆան-2ՊԿԱ-ն էապես չեն բարելավում փորձարարական առնետների բջջագենետիկ կարգավիճակը: Տրիպտոֆան-2ՊԿԱ քիմիական միացության ցուցանիշները որոշ չափով նախընտրելի են:

Ելնելով ապրելունակության, կյանքի տևողության, բջջագենետիկ և հեմատոլոգիական ցուցանիշների արդյունքներից՝ կարելի է եզրակացնել, որ ուսումնասիրված համալիրները («Արգիտոս» և Տրիպտոֆան-2ՊԿԱ) այրվածքների դեպքում ցուցաբերում են մեղմ բուժիչ հատկություններ:

Ենթադրվում է, որ վերոնշյալ համալիրների և այլ բուժիչ նյութերի համատեղ կիրառությամբ հնարավոր է ստանալ այնպիսի ազդեցություն, որի դեպքում ընդհանուր ազդեցությունը գերազանցում է յուրաքանչյուր բաղադրիչի ազդեցությունն առանձին (սիներգիզմ):

Comparative Analysis of Substances: Pyridine-2-carboxaldehyde and Nanosilver «Argitos»

A. G. Karapetyan, A. M. Dallakyan, Zh. H. Petrosyan, V. S. Grigoryan

The aim of the research was to study the possible therapeutic effect of "Argitos" in the form of a spray and liquid and Pyridine-2-carboxaldehyde (Tryptophan2PKA) in thermal burns.

Studies have shown that the levels of blood parameters in the groups burn + "Argitos" (spray) and burn + "Argitos" (intraperitoneal injection -IP) differ from the control group (pure burn). With the IP administration of tryptophan-2PKA, a tendency towards normalization and higher efficiency were observed in all blood parameters. Thanks to multi-regression analysis, it became possible to obtain equations according to which the coefficients for a clean burn and with

the use of the above compounds are multidirectional which indicates a positive effect of the substances used.

Summarizing the data of cytogenetic studies, we can conclude that "Argitos" in the form of a spray and liquid (PI) and Pyridine-2-carboxaldehyde (PI) have little effect on the cytogenetic status of experimental animals. Indicators with the introduction of Tryptophan2PKA are more preferable.

Based on the survival rate, average life expectancy, cytogenetic and hematological parameters of rats, it can be concluded that the studied "Argitos" and Pyridine-2-carboxaldehyde in burns show little therapeutic effect.

It is assumed that with the combined use of the above compounds with other substances, a result can be obtained that is much greater than the effect of the individual components (synergism).

Литература

1. *Боровиков В.П.* Популярное введение в современный анализ данных в системе STATISTICA. М., Телеком, 2013, 288 с., ISBN 978-5-9912-0326-5.
2. *Вуколов Э.А.* Основы статистического анализа. Практикум по статистическим методам и исследованию операций с использованием пакетов Statistica и Excel, М., Форум-Инфра-М, 2004.
3. *Михин И.В., Кухтенко Ю.В.* Ожоги и отморожения, Волгоград, 2012.
4. *Парамонов Б.А., Порембский Я.О., Яблонский В.Г.* Ожоги. Практическое руководство, СПб., 2000.
5. *Синкичи С., Нанао В., Тосиаки К., Такаюки С., Нобуюки А., Синджи М., Хисао И. Пиридин и производные пиридина.* Энциклопедия Ульмана по промышленной химии. Weinheim: Wiley-VCH. 2000, doi:10.1002/14356007.a22_399.
6. *Славин М.Б.* Методы системного анализа, М., Медицина, 1989.
7. *Чаттерджея Д.,* Митра А. Синтез, характеристика и реакционная способность комплексов рутения (III) на основе Шиффа. J.Координация. 2004. Chem. 57: 175-182. doi:10.1080/00958970410001662435.