

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА ХІМІЇ ЛІКІВ ТА ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему **“ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА ВПЛИВУ ПОХІДНОЇ
1,3-ОКСАЗОЛ-4-ІЛ-ФОСФОНОВОЇ КИСЛОТИ (ОВП-1)
НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ЕРИТРОЦИТІВ
КРОВІ ЩУРІВ З ГОСТРОЮ АЛКОГОЛЬНОЮ ІНТОКСИКАЦІЄЮ”**

Виконала: здобувачка вищої освіти 6 курсу,
групи 1082Б, напряму підготовки (спеціальності)
22 “Охорона здоров'я”, 226 «Фармація,
промислова фармація»

Освітньо-професійна програма «Фармація»

Деніскіна Єва Романівна

Керівник: к.біол.н., доцент Кузнецова О. В.

Рецензент: к.фарм.н., доцент Нароха В.П.

КИЇВ - 2026

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	4
ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	9
1.1. Клітинно-молекулярні механізми впливу етанолу на морфо-функціональні властивості еритроцитів крові.	9
1.2. Сучасні підходи до фармакотерапії гострої алкогольної інтоксикації. Вплив структурно-функціонального стану еритроцитів крові на фармакокінетику та фармакодинаміку лікарських засобів.....	13
1.3. Загальна характеристика, фармакологічна активність та біохімічні механізми дії похідної 1,3-оксазол-4-іл-фосфонової кислоти (ОВП-1).	16
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ	19
2.1. Прогнозування фармакологічної активності ОВП-1.....	19
2.2. Характеристика експериментальної моделі гострої алкогольної інтоксикації.	19
2.3. Приготування суспензії еритроцитів крові щурів.....	21
2.4. Визначення еритроцитарного індексу інтоксикації.	21
2.5. Визначення кислотної резистентності еритроцитів.....	22
2.6. Визначення пероксидної резистентності еритроцитів.	22
2.7. Статистичні методи дослідження.	23
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	24
3.1. Прогнозування фармакологічної активності ОВП-1.....	24
3.2. Дослідження структурно-функціонального стану еритроцитів крові щурів з гострою алкогольною інтоксикацією.....	28
3.3. Дослідження впливу 1,3-оксазол-4-іл-фосфонової кислоти (ОВП-1) на структурно-функціональний стан еритроцитів крові щурів з гострою алкогольною інтоксикацією.	36

ВИСНОВКИ	41
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	42
SUMMARY	51
Додаток А	53
Додаток Б	54

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ОВП – лабораторний шифр сполук ряду фосфорильованих похідних оксазолу

СУР2Е1 – цитохром P₄₅₀ 2Е1

НАД⁺ – нікотинамідаденіннуклеотид окиснена форма

НАДН – нікотинамідаденіннуклеотид відновлена форма

НАДФН – нікотинамідаденіндинуклеотид фосфат відновлена форма.

АТФ – аденозинтрифосфат

FAEEs – англ. Fatty acid ethyl esters, естери жирних кислот та етанолу

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

iNOS – англ. Nitric oxide synthase, індукцибельна NO-синтаза

eNOS – англ. Nitric oxide synthase, ендотеліальна NO-синтаза

LD50 – середньолетальна доза

ІЧ – інфрачервоне випромінювання

ЯМР – ядерний магнітний резонанс

ВСТУП

Актуальність теми. Алкогольна інтоксикація є однією з найпоширеніших форм токсичного ураження організму і становить серйозну загрозу для здоров'я людини. За умов зростання тенденції до вживання алкоголю у світі проблема зловживання етанолом набуває все більшого масштабу та охоплює різні вікові та соціальні категорії. Надходження етанолу в організм людини супроводжується порушенням діяльності нервової, серцево-судинної, дихальної та кровотворної систем [1]. Такий стан часто є причиною госпіталізації, реанімаційних втручань та має високу смертність. На молекулярному рівні етанол та його метаболіт ацетальдегід викликають посилення оксидативного стресу, порушення функції мітохондрій, дестабілізацію білків та пошкодження клітинних мембран [43].

Однією з мішеней алкогольної інтоксикації є клітини крові, саме еритроцити. Під впливом етанолу порушується їх цілісність мембран, змінюється проникність для іонів натрію та калію, що призводить до порушення осмотичного тиску крові, кислотно-лужного балансу організму, активації пероксидного окиснення ліпідів та зростання ризику гемолізу [40]. Крім того, змінюються реологічні властивості крові, знижується здатність еритроцитів транспортувати кисень, що призводить до тканинної гіпоксії [13]. Через це зростає ризик порушення згортання крові, активації тромбоутворення та судинних ускладнень.

Етанол надходить в організм не лише при вживанні алкогольних напоїв, але й через лікарські засоби, які містять його як допоміжну речовину. Настойки, сиропи, рідкі лікарські форми та антибіотики містять у своєму складі етанол, який при тривалому застосуванні здатний негативно впливати на еритроцити та інші клітини організму. Особливо актуальна ця проблема при лікуванні дітей, а також осіб з серцево-судинною або печінковою патологією, в яких порушена здатність організму до детоксикації.

Таким чином, гостра алкогольна інтоксикація та її негативний вплив на організм, зокрема еритроцити крові, підкреслюють нагальну потребу в розробці

нових ефективних лікарських засобів для профілактики та лікування. Пошук нових хімічних сполук, які можуть виконувати захисну функцію для клітин крові та організму при алкогольному ураженні, має надзвичайно важливе значення. Особливо актуальним є напрямок дослідження речовин, які можуть виступати як активні фармацевтичні інгредієнти для створення нових лікарських засобів. Науковий інтерес викликають похідні оксазолу – сполуки з широким спектром біологічної активності. Однією з таких молекул є 1,3-оксазол-4-іл-фосфонова кислота, яка проявляють різноманітну фармакологічну активність [15]. Дослідження похідних 1,3-оксазол-4-іл-фосфонова кислоти як перспективних сполук для пошуку та розробки лікарських засобів є актуальними та перспективним і мають важливе значення для фармації та медицини.

Мета роботи. Експериментальна оцінка впливу діетилового естеру 5-алкіламіно-2-{N-[N-бензоїл-(4-метилбензиліден) гліцил] амінометил}-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти (ОВП-1) на показники структурно-функціонального стану еритроцитів крові за умов експериментального моделювання гострої алкогольної інтоксикації у щурів.

Для реалізації визначеної мети необхідно вирішити наступні **завдання**:

1. Провести *in silico* прогнозування спектру фармакологічної активності ОВП-1.

2. Визначити показники структурно-функціонального стану еритроцитів (еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ), кислотну резистентність та пероксидну резистентність еритроцитів) крові щурів з гострою алкогольною інтоксикацією.

3. Оцінити вплив ОВП-1 на еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ), кислотну резистентність та пероксидну резистентності еритроцитів щурів за умов експериментального моделювання гострої алкогольної інтоксикації у щурів.

Об'єкт дослідження. Корекція структурно-функціонального стану еритроцитів крові за умов гострої алкогольної інтоксикації.

Предмет дослідження. Еритроцитарний індекс інтоксикації, кислотна та пероксидна резистентність еритроцитів крові інтактних щурів, щурів з гострою алкогольною інтоксикацією та за умов профілактичного введення ОВП-1.

Методи дослідження. Комп'ютерне моделювання *in silico*, токсикологічні методи (моделювання гострої алкогольної інтоксикації *in vivo*), гематологічні методи (визначення еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ), кислотної резистентності еритроцитів, пероксидної резистентності еритроцитів (ПРЕ) *in vitro*), статистичний метод (однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA).

Наукова новизна. У роботі отримано нові дані щодо наявності мембраностабілізуючої дії ОВП-1. Експериментально доведена здатність ОВП-1 знижувати еритроцитарний індекс інтоксикації, підвищувати кислотну та пероксидну резистентність еритроцитів крові щурів з гострою алкогольною інтоксикацією.

Практичне значення отриманих результатів. Результати дослідження впливу ОВП-1 на структурно-функціональну характеристику еритроцитів крові за умов споживання етанолу є підґрунтям для створення нових ефективних лікарських засобів для корекції порушень реологічних властивостей крові, зумовлених токсичною дією алкоголю на організм людини.

Апробація результатів дослідження. Результати магістерської роботи були викладені та обговорені на XII Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Об'єднані наукою: перспективи міждисциплінарних досліджень» (м. Київ, 20-21 листопада 2025 р.), ювілейній щорічній медичній науковій конференції молодих вчених AYMS Conf 2025 (м. Київ, 20-21 листопада 2025 р.), VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта» (23 січня 2026 р., м. Київ, Україна).

Публікації. 1. Деніскіна Є.Р., Кузнецова О.В. Структурно-функціональні зміни еритроцитів під дією етанолу. Матеріали XII Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Об'єднані наукою: перспективи міждисциплінарних досліджень» (20–21 листопада 2025). – Київ, 2025. – с.220-221.

2. Деніскіна Є. Р., Кузнецова О.В. Дослідження впливу похідного 1,3-оксазол-4-іл-фосфонової кислоти на стан мембран еритроцитів за умов споживання етанолу. Матеріали Ювілейної щорічної медичної наукової конференції молодих вчених 2025 (20-21 листопада 2025р.). Український науково-медичний молодіжний журнал, 2025, додаток 4 (159). – с. 139-140.

3. Деніскіна Є.Р., Кузнецова О.В. Прогнозування фармакологічної активності похідної 1,3-оксазол-4-іл-фосфонової кислоти (ОВП-1). PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА: матеріали VI науково-практичної конференції з міжнародною участю (Київ, 23 січня 2026 р.). Київ: Паливода А. В., 2026. Т.1. с.38-39.

Структура магістерської роботи складається зі вступу, 3 розділів, висновків, анотації англійською мовою, переліку умовних скорочень, 3 таблиць, 8 рисунків, списку використаних джерел, додатків. Обсяг роботи становить 56 сторінок.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Клітинно-молекулярні механізми впливу етанолу на морфофункціональні властивості еритроцитів крові.

Етанол (етилловий спирт) - насичений, аліфатичний, одноатомний первинний спирт, молекулярна формула C_2H_5OH (скорочено EtOH). Завдяки наявності полярного ковалентного зв'язку молекули етанолу взаємодіють з водою утворюючи неперервну випадкову тривимірну сітку водневих зв'язків. Присутність в молекулі спирту гідрофобного ядра дозволяє етанолу утворювати двохарові структури з ліпідами [37].

Токсична дія етанолу пов'язана з його місцевим впливом на слизові оболонки стравоходу, шлунку, кишківника, а також з системною дією його метаболітів, особливо ацетальдегіду [35]. Етанол проникає у клітину шляхом простої дифузії за градієнтом концентрації через іон-транспортні канали в мембранах [22].

В організмі людини метаболізм етилового спирту відбувається трьома окисними шляхами: за участю ензимів алкогольдегідрогенази (АДГ) та ацетальдегіддегідрогенази (АЛДГ), мікросомальної етанолокиснювальної системи (МЕОС) та пероксисом, а також двома неокисними шляхами [9].

При внутрішньошлунковому введенні 12-25% екзогенного етанолу окиснюється до ацетальдегіду під дією АДГ, що локалізується в слизовій оболонці шлунку [39], за рівнянням хімічної реакції 1.1:

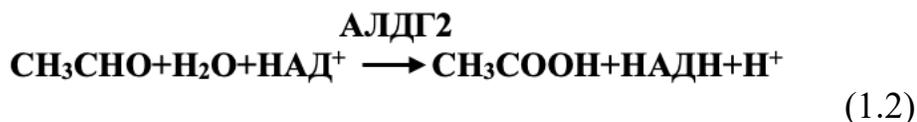


У кишківнику також відбувається метаболізм етанолу, причому активність АДГ в тонкому та товстому кишківнику вища, ніж активність АЛДГ. Це призводить до накопичення токсичного проміжного метаболіту — ацетальдегіду.

Крім того, присутність ензиму СУР2Е1 у травному каналі спричиняє ще більше накопичення ацетальдегіду в організмі після вживання алкоголю [14]. У результаті кількість етанолу, що надходить у систему портального кровотоку та печінку, знижується. Таким чином, травний канал виступає першим бар'єром на шляху метаболізму етанолу, але його ефективність залежить від дози вживаного алкоголю, фізіологічного стану організму, генетики та інших факторів [17].

Понад 90% етанолу, який транспортується кров'ю із травного каналу до печінки, окиснюється НАД⁺-залежною алкогольдегідрогеназою І класу до ацетальдегіду, а коензим НАД⁺ відновлюється до НАДН. При високій концентрації ацетальдегіду і НАДН реакція протікає у протилежному напрямі з утворенням етанолу (див. рівняння 1.1.). Високий вміст НАДН може спричинити порушення редокс-балансу, ацидоз, гіпоглікемію та стеатоз печінки [41].

Низька концентрація ацетальдегіду в гепатоцитах підтримується за участю мітохондріальної НАД⁺-залежною ацетальдегіддегідрогенази (АЛДГ2), яка окиснює його до оцтової кислоти за хімічним рівнянням (1.2):



Ацетат виконує важливу функцію не лише в процесах енергетичного обміну, а й у регуляції метаболічних шляхів. За участі АТФ-залежної ацетил-КоА-синтетази, ацетат трансформується в ацетил-КоА [23].

У мітохондріях ацетил-КоА включається до циклу трикарбонових кислот і там піддається окисненню. На рівні клітини ацетил-КоА також бере участь в ацетилюванні білків, що впливає на активність окремих ензимів, і, через ацетилювання гістонів, регулює експресію генів [4].

10-15% екзогенного етанолу метаболізується у мікросомах гладкого ендоплазматичного ретикулуму гепатоцитів за участі мікросомальної етанолокиснювальної системи (МЕОС) [8]. Ключовим ензимом МЕОС слугує

СУР2Е1, до складу якого входить НАДФН. Цитохром Р450 за участі молекули кисню посилено генерує активні форми кисню (АФК) й радикали ЕtОН (1-оксиетил радикал тощо), що сприяє оксидативному стресу та ушкодженню гепатоцитів. МЕОС також відіграє роль у метаболізмі ліків, ксенобіотиків та токсичних сполук, тому її індукція алкоголем впливає на ефективність і токсичність фармакотерапії.

Менше 2% етанолу метаболізується в пероксисомах за участі ензиму каталази. Комплекс гідроген пероксиду (H_2O_2) і каталази окиснює етанол до ацетальдегіду з вивільненням молекули води [17]. Цей шлях активний лише при високій концентрації H_2O_2 і має певне значення у випадку сильного оксидативного стресу.

Неокисні шляхи метаболізму етанолу пов'язані з активністю ензимів FАЕЕ-синтази та фосфоліпази D. Під дією FАЕЕ-синтази етанол утворює етилові естери довголанцюгових жирних кислот, в основному пальмітинової, олеїнової і лінолевою кислот. Механізм токсичної дії естерів жирних кислот полягає у їхній здатності інгібувати Na^+/K^+ -АТФ-азу, пригнічувати мітохондріальне дихання, активувати процеси пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у мембранах мітохондрій. Утворені в ендоплазматичному ретикулумі етилові естери жирних кислот транспортуються до плазматичної мембрани та виходять із клітини зв'язуючись з альбуміном або ліпопротеїнами крові.

У присутності етанолу фосфоліпаза D каталізує синтез фосфатидилетанолу (PEth). На даний час механізм дії PEth до кінця нез'ясований, вважається, що хімічна схожість PEth з фосфатидною кислотою і фосфатидилінозитол-4,5-бісфосфатом сприяє порушенню ліпідної сигналізації. Накопичення PEth посилює алкогольну інтоксикацію через конкуренцію з ендогенними продуктами фосфоліпазу D у ділянках агоністів ліпід-залежних іонних каналів [11]. Рівень фосфатидилетанолу у крові використовується як маркер попереднього вживання алкоголю [25].

Токсичний вплив етанолу та його активного метаболіту ацетальдегіду поширюється на всі органи та системи організму. Насамперед, незворотні зміни відбуваються в системі крові. Етанол впливає на морфо-функціональні властивості еритроцитів завдяки своїй здатності проникати в клітини, змінювати фізико-хімічні властивості їх мембран та викликати метаболічні порушення. Ацетальдегід проявляє здібності до утворення стабільних сполук (аддуктів) з білками, ліпідами та ДНК, змінюючи їх функціональність та знижуючи ефективність клітинних процесів. Модифікація білків мембран еритроцитів під дією ацетальдегіду перетворює їх на антигени, що ініціює аутоімунні реакції та сприяє руйнуванню еритроцитів [45].

Зниження стабільності плазматичної мембрани еритроцитів за алкогольної інтоксикації пов'язане з інтенсифікацією вільнорадикальних процесів. Під дією вільних радикалів гемоглобін еритроцитів окиснюється до мет-гемоглобіну, що порушує нормальну функцію еритроцитів та знижує еластичність їх мембран і робить клітини більш вразливими до гемолізу. Зміни в структурі мембран еритроцитів зменшують їх здатність до деформації, що ускладнює їх прохід через капіляри. У результаті уповільнюється рух еритроцитів, за рахунок чого погіршується постачання кисню до тканин, що призводить до гіпоксії.

Таким чином, етанол та продукт його метаболізму ацетальдегід чинять виражений деструктивний вплив на морфо-функціональні властивості еритроцитів крові, що призводить до зниження життєздатності клітин, їх деформації й системних порушень у організмі. Вивчення цих механізмів є важливим для розробки профілактичних заходів і корекції наслідків дії алкоголю на кровоносну систему.

1.2. Сучасні підходи до фармакотерапії гострої алкогольної інтоксикації. Вплив структурно-функціонального стану еритроцитів крові на фармакокінетику та фармакодинаміку лікарських засобів.

Споживання алкоголю залишається одним із найважливіших причин глобальної смертності та хронічної захворюваності у світі. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), щорічно у світі помирає понад 3 мільйони осіб внаслідок вживання алкоголю, що становить близько 5,3% усіх смертей. Частка алкогольних отруєнь сягає до 25% усіх випадків гострих інтоксикацій, причому понад 60% летальних випадків мають алкоголь як основну або супутню причину. Етанол вважається одним із ключових факторів ризику передчасної смертності, хронічної захворюваності та причиною інвалідності. Алкоголь є чинником розвитку більше 200 захворювань і травматичних станів, серед яких цироз печінки, гіпертонічна хвороба, панкреатит, психічні та поведінкові розлади, а також онкологічні захворювання.

В Україні ситуація щодо поширеності вживання алкоголю та його наслідків відповідає загальноєвропейським тенденціям. За даними Міністерства охорони здоров'я України (МОЗ України), щороку в країні помирає 14000 осіб внаслідок хвороб і нещасних випадків, пов'язані із алкоголем. Рівень смертності становить 31,6 випадків на 100 тисяч населення, що є одним із найвищих у Європі. У 2023 році в Україні було госпіталізовано понад 8500 осіб з приводу гострого алкогольного отруєння, з яких близько 1000 перебували у тяжкому стані. У половини випадків пацієнти не звертаються за медичною допомогою вчасно, що підвищує ризик несприятливих наслідків.

Токсичний вплив етанолу на організм став важливою темою для досліджень і вивчення патофізіологічних мішеней та фармакологічних корекцій алкогольної інтоксикації. При гострих отруєннях чи тривалому зловживанні алкоголем застосовують неспецифічні сорбенти, такі як активоване вугілля, яке зв'язує

частину токсичних метаболітів етанолу у просвіті кишківнику та зменшує їх всмоктування.

Антиоксиданти та метаболітні препарати, наприклад комбінація глутатіону та цистеїну, стимулюють АДГ та АЛДГ, зменшують транскрипцію CYP2E1, що сприяє метаболізму етанолу та ацетальдегіду і знижує рівень маркерів оксидативного стресу – малонового альдегіду, супероксиддисмутази, каталази [10].

Перспективними препаратами є вітамін Е, аскорбінова кислота, N-ацетилцистеїн та мелатонін, які знижують рівень пошкодження тканин етанолом [6].

Для усунення алкогольної інтоксикації застосовуються препарати з аргініном. Амінокислота L-аргінін в якості субстрату ензиму NO-синтази сприяє утворенню оксиду нітрогену (NO), що покращує мікроциркуляцію та зменшує гіпоксію тканин. У фізіологічних концентраціях NO підвищує активність антиоксидантних ензимів, таких як каталаза, супероксиддисмутаза, що стабілізує мембрани еритроцитів. Завдяки впливу NO мембрана зберігає еластичність, що дозволяє еритроцитам проходити крізь вузькі капіляри без гемолізу. L-аргінін нормалізує біохімічні маркери печінки, має детоксикаційний ефект і підтримує енергетичний баланс клітин.

До гепатопротекторних засобів з антиоксидантними властивостями належать дієтичні добавки Силімарин, яка стабілізує мембрани гепатоцитів та пригнічує ПОЛ та Бетаїн, який слугує донором метильних груп та захищає печінку від стеатозу, викликаного етанолом. Оксазол та його похідні входять до структури деяких гепатопротекторних препаратів. Вони стабілізують клітинні мембрани гепатоцитів, зменшують ПОЛ, допомагають відновленню функцій печінки після токсичного ураження етанолом.

Отже, для сучасної фармакотерапії алкогольної інтоксикації використовують ряд лікарських засобів та дієтичних добавок, дія яких спрямована на нейтралізацію токсичних метаболітів етанолу, зменшення оксидативного стресу, стабілізацію мембран гепатоцитів, відновлення функціональної активності печінки, корекцію метаболічних порушень та підтримку антиоксидантних і коензимних систем організму.

Функціональний стан і структурна цілісність мембран еритроцитів опосередковує ефективність та безпеку фармакотерапії, особливо в умовах токсичного впливу алкоголю на організм. Мембрани еритроцитів не тільки слугують бар'єром для лікарських засобів, але й беруть участь у їх розподілі, транспортуванні, метаболізмі завдяки наявності специфічних білків-транспортерів, фосфоліпідів і ферментних систем, здатних до взаємодії з фармакологічно активними субстанціями [3]. У випадку пошкодження мембран еритроцитів внаслідок гемолізу, дії оксидативного стресу або токсичних агентів, спостерігаються суттєві зміни у фармакокінетичних та фармакодинамічних параметрах лікарських засобів, зокрема:

- розподілі лікарського засобу в організмі внаслідок порушення його зв'язування з мембранними структурами, такими як транспортні білки або фосфоліпіди;

- вищі пікові концентрації лікарського засобу в крові, інколи токсичної дози;

- накопичення лікарського засобу в еритроцитах, що в свою чергу впливає на його біодоступність;

- часу настання терапевтичного ефекту та його тривалості внаслідок модифікації швидкості проникнення лікарського засобу крізь клітинну мембрану.

Отже, за умов широкого поширення алкогольної інтоксикації та метаболічних порушень, пошук інноваційних і комплексних фармакологічних підходів до профілактики та терапії токсичної дії етанолу стає нагальною потребою.

1.3. Загальна характеристика, фармакологічна активність та біохімічні механізми дії похідної 1,3-оксазол-4-іл-фосфонової кислоти ОВП-1).

В останні роки значну увагу дослідників у сфері розробки нових лікарських засобів із різноманітною фармакологічною активністю привертають сполуки на основі 1,3-оксазолу. У структурі 1,3-оксазолів з вираженою біологічною активністю присутні аміно- та естерна групи. Наприклад, 5-аміно-1,3-оксазоли проявляють властивості селективних інгібіторів ензимів та рецепторів, що дає підставу для розгляду їх як потенційних лікарських засобів для лікування деяких захворювань нервової системи [31]. 1,3-оксазол представлений у структурі лікарських засобів з антимікробною дією [42], антиміотичною активністю, противірусними властивостями [21]. Разом з тим, 1,3-оксазол входить до складу цукрознижувальних препаратів [44], антидепресантів, лікарських засобів з фунгіцидною дією [28].

Починаючи з 1973 року синтезовано різноманіття похідних фосфорильованих оксазолів з різною фармакологічною активністю, а саме з антигіпертензивним ефектом [33], протипухлинною дією [5]. Співробітники відділу хімії біоактивних нітрогенвмісних гетероциклічних основ Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря НАМН України під керівництвом д.х.н., проф. В. С. Бровареця методом хімічного синтезу отримали ряд фосфорильованих похідних 1,3-оксазолу з лабораторним шифром ОВП. Об'єктом дослідницького інтересу стала сполука ОВП-1 (повна назва діетиловий естер 5-алкіламіно-2-{N-[N-бензоїл-(4-метилбензиліден)гліцил] амінометил}-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти, скорочена назва – похідне 1,3-оксазол-4-іл-фосфонової кислоти) (Рис.1.1).

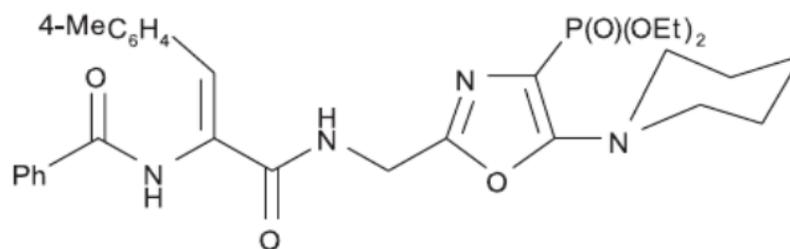


Рис. 1.1. Хімічна формула діетилового естеру 5-алкіламіно-2- $\{N-[N$ -бензоїл-(4-метил бензиліден) гліцил]амінометил}-1,3-оксазол-4-ілфосфонової кислоти (ОВП-1).

Фосфорильовані похідні 1,3-оксазолу є кристалічними порошками від світло-жовтого до оранжевого кольору, малорозчинні у воді, розчинні у органічних розчинниках, таких як диметилсульфоксиді (ДМСО) та Твін-80, що характеризуються низькою токсичністю та використовуються в якості розчинників у біомедичних дослідженнях.

Дослідження гострої та хронічної токсичності ОВП-1 *in vivo* засвідчує безпечність даної сполуки при пероральному, внутрішньошлунковому та внутрішньоочеревинному введенні, що дозволяє поглиблене вивчення її фармакологічної активності на моделях різних патологічних станів. За класифікацією К.К.Сидорова ОВП-1 при внутрішньошлунковому введенні мишам обох статей можна віднести до сполук V класу токсичності і «практично нетоксичні сполуки» ($LD_{50} > 5000$ мг/кг), при внутрішньоочеревинному введенні — VI класу токсичності «відносно нешкідливі сполуки» (LD_{50} становить $3350,67 \pm 54,62$ мг/кг) [51].

Аналіз наукових публікацій вітчизняних та закордонних авторів показує, що ОВП-1 виявляє мембраностабілізуючий ефект, шляхом інгібування вільнорадикального окиснення та зменшення ПОЛ у тканинах [52]. У роботі Ніженковської І.В. та Мацькевич К.В. описаний антигіпертензивний ефект за рахунок впливу на систему оксиду нітрогену (відновлення вмісту NO_2 та

активності iNOS, eNOS в аорті, серці та сироватці крові щурів, внаслідок зменшення вмісту мРНК) [51].

Вищезазначене стало підґрунтям для дослідження фосфорильованої похідної оксазолу ОВП-1 за умов гострої алкогольної інтоксикації. Поєднання 1,3-оксазолів в комплексі з антиоксидантами та сорбентами відкриває перспективи для створення лікарських засобів, здатних одночасно знижувати токсичний вплив етанолу, відновлювати структурно-функціональний стан клітинних мембран еритроцитів і підвищувати ефективність терапії.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

2.1. Прогнозування фармакологічної активності ОВП-1.

Комп'ютерне моделювання *in silico* дозволяє до проведення експериментів на тваринах передбачити, яку фармакологічну активність може мати досліджувана хімічна сполука. Для прогнозування фармакологічної активності ОВП-1 використовували програмне забезпечення SwissTargetPrediction [49]. Ця програма визначає потенційні біологічні мішені для молекули на основі структурної подібності до вже відомих лігандів, що скорочує тривалість та вартість пошуку нових перспективних фармакологічних кандидатів.

2.2. Характеристика експериментальної моделі гострої алкогольної інтоксикації.

Дослідження проводили на щурах-самицях лінії Вістар вагою 222 ± 24 г. Тварини утримувалися на стандартному водно-харчовому раціоні у віварії Національного медичного університету імені О.О.Богомольця. За добу до експерименту тварини не отримували їжі, доступ до води не обмежувався. Догляд за тваринами та їх евтаназію здійснювали з дотриманням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страбург, 1986) [53], а також згідно із Законом України від 21.02.2006 №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [54].

Для дослідження тварин відбирали за допомогою двопляшкового тесту з метою виявлення їх схильності до алкоголю [12]. Надалі використовували тварин, які надавали перевагу 50% водному розчину етанолу впродовж 2 тижнів. Методом випадкової виборки, тварини були розподілені на 3 групи: I група - інтактні тварини (n=6), II група – тварини з гострою алкогольною інтоксикацією (n=6), III група – тварини з гострою алкогольною інтоксикацією, яким з профілактичною метою внутрішньоочеревинно вводили ОВП-1 у дозі 25 мг/кг (n=6).

Гостру алкогольну інтоксикацію у щурів моделювали шляхом одноразового внутрішньошлункового введення за допомогою зонду 50 % етанолу у дозі 5 мл/кг [7]. Тваринам контрольної групи вводили еквівалентний об'єм фізіологічного розчину. Через 1 годину тварин декапітували під легким ефірним наркозом. Кров збирали у пробірки з гепарином і в подальшому використовували для приготування суспензії еритроцитів.

У роботі застосовували розчин ОВП-1 у суміші ДМСО та 0,9 % розчину NaCl у співвідношенні 1:10, який внутрішньоочеревинно вводили тваринам у дозі 25 мг/кг за 1 годину до введення 50% етанолу. Дозу ОВП-1 було вибрано на підставі даних літератури [51]. Склад та структура ОВП-1 підтверджені визначенням температури плавлення, ІЧ-спектроскопію та ЯМР-спектроскопію (табл. 2.1, Додаток А).

Таблиця 2.1.

Хімічна характеристика ОВП-1

Назва сполуки	Брутто-формула	T _{пл} °C	ІЧ-спектр, см ⁻¹ (KBr)	Спектр ЯМР ³¹ P (CDCl ₃) м.ч.	Спектр ЯМР ¹ P (CDCl ₃) м.ч.
ОВП-1	C ₃₀ H ₃₇ N ₄ O ₆ P	69-71	32550 (N-H) 1652 (C=O) 1625 (C-N) 1517 (C-N) 1278 (P=O) 1024 (P-O-C) 96 (P-O-C-C)	14,2	1.31 м (6H ₂ OH ₂ CH ₃), 2.34 с(3H,CH ₃), 3.58 м (4H,N(CH ₂) ₂ морфолін, 3.78 м(4H, O(CH ₂) ₂ морфолін, 4.10 м (4H,20CH ₂ CH ₃), 4.56 д (2H,CH ₂ , J _{HH} 5.2Гц), 7.05 ш.с (1H, NH), 7,15, 7.34, 7.48, 7.58, 7.87 м (9H, C ₆ H ₅ , n-C ₆ H ₄), 7.24с(1H,CH), 7.94 ш.с(1H,NH)

2.3. Приготування суспензії еритроцитів крові щурів.

Пробірки з гепаринізованою кров'ю центрифугували при 2000 об/хв протягом 10 хвилин при температурі 4°C. Після центрифугування плазму та шар лейкоцитів видаляли, а осад еритроцитів 3 рази промивали фосфатно-сольовим буферним розчином (0,9% розчином NaCl в 0,05 М фосфатному буфері, рН 7,4) з наступним центрифугування. Еритроцити зберігали у вигляді щільного осаду не більше двох годин за температури 0°C [38].

2.4. Визначення еритроцитарного індексу інтоксикації.

Еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ) оцінювали за здатністю мембрани еритроцитів поглинати і пропускати забарвлені речовини (метиленовий синій) [24]. 1 мл 1% суспензії еритроцитів змішували з 3 мл 0,9% розчину NaCl, що містить 0,025% метиленового синього, та інкубували впродовж 10 хвилин при кімнатній температурі. Пробірки центрифугували при 3000 об/хв протягом 10 хвилин. Супернатант переносили в кювету та вимірювали на спектрофотометрі екстинкцію при довжині хвилі 630 нм проти фізіологічного розчину. Кількість поглиненого барвника (у відсотках) розраховували за різницею між оптичною густиною вихідного розчину барвника та розчину барвника після інкубації з еритроцитами. Розрахунок кількості метиленового синього, сорбованого суспензією еритроцитів (С), проводили за формулою 2.1:

$$C = 100 - \frac{C \times 100}{B} \quad (2.1)$$

де С - кількість барвника, сорбованого еритроцитами (%);

В – екстинція розчину барвника;

С - екстинція надосадової рідини.

2.5. Визначення кислотної резистентності еритроцитів.

Кислотну резистентність еритроцитарних мембран визначали за методом Терскова і Гітельзона [29]. Відмиті еритроцити розводили фосфатно-сольовим буферним розчином до кінцевої екстинції в межах 0,700–750 при довжині хвилі 630 нм. У кювету спектрофотометра вносили по 2 мл суспензії еритроцитів та 0,002н HCl у 0,9 % NaCl і проводили реєстрацію зміни показника екстинції через кожні 30 секунд при довжині хвилі 630 нм поки значення екстинції не перестане зменшуватись. У контрольну кювету наливали 2 мл H₂O і додавали 2 мл 0,002 н розчину HCl у 0,9 % NaCl. Різницю між E - E 0' 30" після закінчення гемолізу приймали за 100% гемолізованих еритроцитів. Відсотковий розподіл еритроцитів за резистентністю зображали у вигляді еритрограми – кривої залежності між відсотком гемолізованих еритроцитів і часом гемолізу. Оцінювали час сферуляції (точка початку гемолізу у секундах), час появи максимуму (секунди), час закінчення гемолізу (секунди), частку максимально гемолізованих еритроцитів (%).

2.6. Визначення пероксидної резистентності еритроцитів.

Пероксидну резистентність еритроцитів (ПРЕ) визначали за методом, який описано у роботі [27]. Принцип методу полягає в тому, що під час 3-х годинної інкубації еритроцитів у NaCl-фосфатно-хлоридному буфері (рН=7,4) при 37 °С відбувається спонтанний гемоліз, інтенсивність якого пропорційна інтенсивності оксидативного стресу. У чотири пробірки вносили по 0,25 мл 1% суспензії еритроцитів. У три пробірки додавали по 0,25 мл 2,5% розчину гідроген пероксиду (H₂O₂), у четверту пробірку (негативний контроль) - 0,25 мл 0,9% розчину NaCl-фосфатного буфера. Всі чотири пробірки інкубували протягом 3 годин при температурі 37 °С при постійному струшуванні. До двох пробірок, що містили гідроген пероксиду, та негативного контролю додавали 5,0 мл 0,9% розчину NaCl, до решти пробірок додавали 5,0 мл дистильованої води, щоб

викликати повний гемоліз еритроцитів (позитивний контроль). Усі пробірки центрифугували при 3000 об/хв протягом 10 хвилин. Після центрифугування вимірювали екстинкцію надосадової рідини на спектрофотометрі при довжині хвилі 540 нм. Відсоток гемолізу розраховували за формулою 2.3:

$$\% \text{гемолізу} = \frac{OD_{\text{зразок}} - OD_{\text{негатив}}}{OD_{\text{позитив}} - OD_{\text{негатив}}} \times 100\% \quad (2.3)$$

де $OD_{\text{зразок}}$ – екстинкція досліджуваної проби;

$OD_{\text{негатив}}$ – екстинкція негативного контролю;

$OD_{\text{позитив}}$ – екстинкція позитивного контролю.

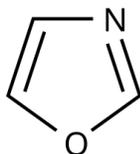
2.7. Статистичні методи дослідження.

Обробку та аналіз отриманих даних проводили за допомогою програмного забезпечення IBM SPSS Statistics 19.0. Порівняння показників між досліджуваними групами здійснювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA. Результати вважали вирогідними при рівні значущості $P < 0,05$.

РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1. Прогнозування фармакологічної активності ОВП-1.

Похідні 1,3-оксазолу становлять важливий клас гетероциклічних сполук, які різняться високою реакційною здатністю. Завдяки наявності у структурі активних центрів у положеннях C₂, C₄, C₅, N₁ та O₃ зумовлює можливість проведення широкого спектра хімічних перетворень, наприклад, реакцій алкілювання, ацилювання та фосфорилування (3.1). Подібна структура створює передумови для цілеспрямованої модифікації молекули з метою зміни її фізико-хімічних параметрів та біологічної активності. Саме тому похідні оксазолу посідають важливе місце у медичній та фармацевтичній хімії як потенційні фармакофорні структури для створення нових лікарських засобів.



(3.1)

Сучасні до клінічні дослідження базуються на поєднанні експериментальних та комп'ютерних методів аналізу, це допомагає прогнозувати фармакологічну активність нових сполук на етапі *in silico*. Застосування веб-інструмент для прогнозування фармакологічної активності SwissTargetPrediction [49] дозволило визначити потенційно біологічні мішені для ОВП-1 на основі порівняльного аналізу хімічної структури молекули з відомими біологічними мішенями, а саме ензимами та рецепторними білками (рис.3.1, табл.3.1). Отримані дані свідчать про широкий спектр передбачуваних взаємодій ОВП-1 з білковими структурами, що в свою чергу говорить про багатофакторний механізм дії цієї сполуки.

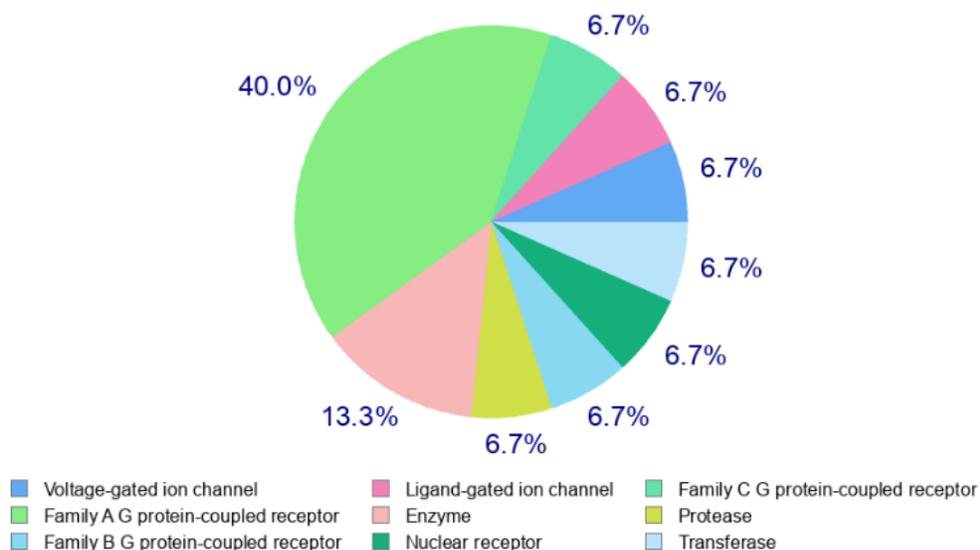


Рис.3.1. Потенційні класи біологічних мішеней для ОВП-1

Таблиця 3.1

Потенційні біологічні мішені для ОВП-1

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class
1	2	3	4	5
Vanilloid receptor (by homology)	Trpv1	O35433	CHEMBL5102	Voltage-gated ion channel
Coagulation factor X	F10	Q63207	CHEMBL3755	Ligand-gated ion channel
Oxytocin receptor	Oxtr	P70536	CHEMBL3996	Family C G protein-coupled receptor
Cyclooxygenase-2 (by homology)	Ptgs2	P35355	CHEMBL2977	Family A G protein-coupled receptor

<i>Продовження таблиці 3.1.</i>				
1	2	3	4	5
Muscarinic acetylcholine receptor M3	Chrm3	P08483	CHEMBL320	Family A G protein-coupled receptor
Platelet activating factor receptor	Ptafr	P46002	CHEMBL4127	Enzyme
Type-1A angiotensin II receptor	Agtr1	P25095	CHEMBL329	Family A G protein-coupled receptor
Type-1B angiotensin II receptor	Agtr1b	P29089	CHEMBL263	Family A G protein-coupled receptor
Orexin receptor 2 (by homology)	Hcrtr2	P56719	CHEMBL1275216	Protease
Orexin receptor 1 (by homology)	Hcrtr1	P56718	CHEMBL1075232	Family A G protein-coupled receptor
Angiotensin II type 2 (AT-2) receptor	Agtr2	P35351	CHEMBL257	Family B G protein-coupled receptor
Ghrelin receptor (by homology)	Ghsr	O08725	CHEMBL3278	Family A G protein-coupled receptor
cAMP and cAMP-inhibited cGMP 3',5'- cyclic Phosphodiesterase 10A	Pde10a	Q9QYJ6	CHEMBL6140	Enzyme

<i>Продовження таблиці 3.1.</i>				
1	2	3	4	5
Histone deacetylase 1	Hdac1	Q4QQW4	CHEMBL2915	Nuclear receptor
Arachidonate 5-lipoxygenase	Alox5	P12527	CHEMBL312	Transferase
Neurokinin 1 receptor	Tacr1	P14600	CHEMBL4027	Phosphodiesterase
Serine/threonine-protein kinase mTOR	Mtor	P42346	CHEMBL1075134	Protease

Серед визначених біологічних мішеней особливу увагу привертає можливий зв'язок ОВП-1 з рецепторами ангіотензину II типу 1A/1B (Type-1A/1B angiotensin II receptor). Відомо, що ці рецептори відіграють ключову роль у регуляції судинного тонуусу, клітинної проліферації, оксидативного стресу та водно-сольового балансу. Ймовірна спорідненість ОВП-1 до рецепторів ангіотензину II типу 1A/1B може свідчити про здатність сполуки впливати на ключові механізми регуляції серцево-судинної системи, що відкриває перспективи для дослідження фармакологічного потенціалу у контексті нормалізації тонуусу судин та поліпшенню трофіки тканин.

Однією з потенційних мішеней ОВП-1 є ванілоїдний рецептор Trpv1 (Transient Receptor Potential Vanilloid 1, by homology). Trpv1 це ліганд-керований неселективний канал, який відіграє важливу роль у процесах запалення та клітинної відповіді на хімічні чи фізичні стресові фактори. Афіність ОВП-1 та Trpv1 свідчить про здатність сполуки впливати на сенсорні сигнальні шляхи, регуляцію клітинної збудливості та адаптацію до ушкоджувальних стимулів, це

робить рецептор перспективною біологічною мішенню для реалізації протизапальних та аналгетичних ефектів.

Біологічною мішенню для ОВП-1 може бути серин/треонінова протеїнкіназа mTOR (Serine/threonine-protein kinase mTOR, by homology). Оскільки mTOR є центральним регулятором клітинного росту, проліферації, аутофагії та метаболічної активності, потенційна спорідненість ОВП-1 до даного ензиму може свідчити про здатність сполуки впливати на ключові сигнальні шляхи, що визначають клітинний гомеостаз і реакції на стрес.

Також відзначено потенційною мішенню для ОВП-1 протеїнкіназу А (анг. Protein Kinase A, PKA) — ключовий ензим цАМФ-залежного сигнального шляху, що регулює численні метаболічні процеси в клітині. Ймовірна спорідненість ОВП-1 до PKA може говорити про здатність сполуки модулювати внутрішньоклітинну передачу сигналів, що пояснює її потенційну здатність впливати на клітинні механізми адаптації та стрес-відповіді.

Таким чином, результати комп'ютерного прогнозування свідчать про комплексний фармакологічний профіль фосфорильованої похідної 1,3-оксазолу ОВП-1, яка поєднує в собі антиоксидантні, мембранопротекторні, антигіпоксичні властивості та може брати участь в регуляції судинного тонуусу, оксидативного стресу, клітинного гомеостазу і стрес-реакції організму. Це дає підстави розглядати ОВП-1 як перспективну сполуку для подальших експериментальних досліджень фармакологічної активності за умов гострої алкогольної інтоксикації.

3.2. Дослідження структурно-функціонального стану еритроцитів крові щурів з гострою алкогольною інтоксикацією.

Гостра алкогольна інтоксикація є серйозним патологічним станом, який супроводжується порушенням гомеостазу, оксидативним стресом та змінами в системі крові. Особливу увагу заслуговує роль еритроцитів - клітин, що забезпечують транспорт кисню і підтримують кислотно-лужну рівновагу. Їх

структурно-функціональний стан чутливо реагує на токсичну дію етанолу, що може призводити до змін у мембранній проникності, активності ферментів, морфології та здатності до деформації. Дослідження таких змін у моделі гострої алкогольної інтоксикації на щурах є актуальним, оскільки дозволяє глибше зрозуміти механізми порушень у кровоносній системі, що мають значення як для фундаментальної науки, так і для клінічної практики. Оцінка параметрів структурно-функціонального стану еритроцитів може виявити біомаркери токсичного впливу етанолу та потенційні мішені для корекції порушень, спричинених алкогольними інтоксикаціями. Регуляція структурно-функціонального стану еритроцитів базується на взаємодії трансмембранного іонного транспорту, змін форми, об'єму та механічних властивостей клітин. Через складну та динамічну систему, еритроцити можуть підтримувати стабільний обсяг, адаптуватись під фізичні умови мікроциркуляції та зберігати життєздатність під час проходження капілярів [46].

В даний час однією з найбільш складних проблем є синдром ендогенної інтоксикації (SEI), який супроводжує значну кількість патологічних станів. SEI обумовлений накопиченням в тканинах і біологічних рідинах організму продуктів порушеного обміну речовин, метаболітів деструктивних клітинних і тканинних структур, зруйнованих білкових молекул, і супроводжується функціональними і морфологічними ураженнями органів і систем організму.

Токсичні метаболіти етанолу викликають деструкцію плазматичних та цитоплазматичних мембран, що призводить до розвитку гіпоксії [32]. Разом із розвитком тканинної гіпоксії розвивається порушення енергозабезпечення клітин і тканин, розлади водно-електролітного обміну та кислотно-основного стану, як наслідок розвивається ряд гуморальних і функціональних розладів.

Інформативними показниками для дослідження розвитку ендогенної інтоксикації є еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІ) [36]. Ендогенна інтоксикація супроводжується накопиченням токсичних метаболітів, що

перевищують детоксикаційні можливості систем організму, призводять до деструкції плазматичних і цитоплазматичних мембран. Мембрани еритроцитів є чутливими до токсичних метаболітів, чим обумовлений вибір дослідження ЕП в нашій роботі.

З огляду на вищезазначене, нами виміряно еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІ) у інтактних тварин та тварин з гострою алкогольною інтоксикацією. У групі інтактних тварин ЕІ дорівнював $32,26 \pm 2,12$, у групі тварин з алкогольною інтоксикацією – $55,07 \pm 2,33$. Отже, одноразове внутрішньошлункове введення 50% етанолу спричинило зростання ЕІ на 70,71% відносно групи інтактних тварин ($P < 0,05$) (рис. 3.2).

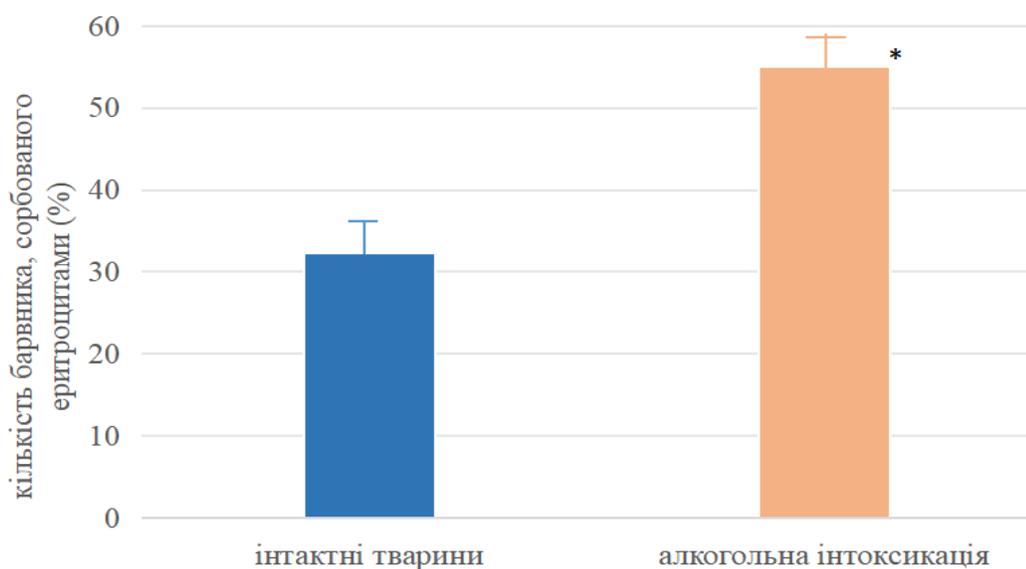


Рис. 3.2. Показник ендогенної інтоксикації еритроцитів крові щурів з алкогольною інтоксикацією

Примітка: * – порівняно з показниками інтактних тварин, $P < 0,05$

За даними літератури, порушення ЕІ є показником зниження стійкості мембран еритроцитів за умов кислотного середовища, їх пошкодженні та накопичення продуктів метаболізму з нейротоксичним впливом, що відображається у підвищенні значень ЕІ [19].

Таким чином, зростання ЕП вказує на підвищення проникності мембран еритроцитів і потенційний цитоліз під дією 50% етанолу. Зміни, що виникають у результаті порушення метаболізму еритроцитів, зниження антиоксидантного захисту, можуть викликати утворення білок-білкових зшивок у мембрані еритроцитів, що зумовлює збільшення жорсткості мембрани та її деформації [36]. Підтримка нормального об'єму клітини залежить не лише від іонного транспорту, але й від механічних властивостей мембрани та білкових структур під нею. Структурні зміни в мембранах еритроцитів призводять до прискороного процесу їх старіння. Порушення цілісності мембран еритроцитів може вплинути на баланс оксигемоглобіну, метгемоглобіну, сульфгемоглобіну та дезоксигемоглобіну, що спричиняє розвиток гіпоксії [18].

Швидкість відповіді клітини на стресовий вплив залежить від функціонального стану системи еритрону. Особливу увагу привертають методи оцінки функціонального стану організму, що ґрунтуються на визначенні резистентності еритроцитів до дії гемолітичних агентів різного походження. Резистентність еритроцитів - це властивість зберігати структурну цілісність під впливом механічних, хімічних, осмотичних, або фізичних подразників [48]. Цей показник визначається властивостями мембрани, яка виконує бар'єрну та селективно-транспортну функції. Під час алкогольної інтоксикації порушується кислотно-лужний баланс крові із зсувом у бік ацидозу. Клітинна мембрана еритроцитів виступає критичною мішенню в механізмах рН-індукованого гемолізу, так як підвищена концентрація іонів гідрогену сприяє протонуванню гемоглобіну та агрегації мембранних протеїнів, що, у висновку веде до руйнування клітинної оболонки [47]. У кислому середовищі лізис еритроцитів починається з проникнення іонів гідрогену до цитозолу, протонування гемоглобіну й руйнування мембран із подальшою агрегацією мембранних протеїнів [20]. Етанол та метаболіти опосередковують цей процес, цим самим підсилюючи проникність мембрани. Враховуючи, що мембрани дозрілих

еритроцитів розглядаються як прототип плазматичних мембран усіх клітин організму, то підвищення їх проникності можна вважати характерним для клітин організму, що проявляється цитолізом їх та виходом з цитоплазми органо- та органелоспецифічних ферментів.

Резистентність еритроцитів визначають за допомогою тестів на кислотний, переокисний, механічний, сечовинний та гліцеринний гемоліз, а також через моделювання впливу гіпо- або гіпертонічного середовища. Тривалість гемолізу пов'язана з тим, скільки часу потрібно гемолітичному агенту, аби подолати мембранний бар'єр та скільки часу мембрана може зберігати цілісність за умов підвищеного внутрішньоклітинного осмотичного тиску [16]. Ці підходи дозволяють вивчити динаміку включення до гемолізу різних популяцій еритроцитів.

Виходячи з наведеного вище, у даній роботі ступінь ушкодження еритроцитів визначали за кінетикою гемолізу, що індукується зниженням рН середовища. Швидкість HCl-індукованого гемолізу взаємопов'язаний із швидкістю перенесення кислотних еквівалентів у цитозоль. Гемоліз відслідковували за допомогою спектрофотометрії – вимірювали кількість гемоглобіну в кюветі, що дозволяє оцінити число зруйнованих клітин у певні часові інтервали.

Результати дослідження кислотної резистентності еритроцитарних мембран крові інтактних щурів та тварин з гострою алкогольною інтоксикацією представлені на рисунку 3.3.

Еритрограма кислотної резистентності включає три часові інтервали, які відображають віковий склад еритроцитарної популяції. Інтервал 0-180 секунд відповідає еритроцитам із зниженою або низькою стійкістю до кислотного гемолітика. Проміжок 210-270 секунд описує еритроцити середньої стійкості. Ділянка 300-450 секунд відповідає молодим еритроцитам, що мають підвищену кислотну резистентність [50].

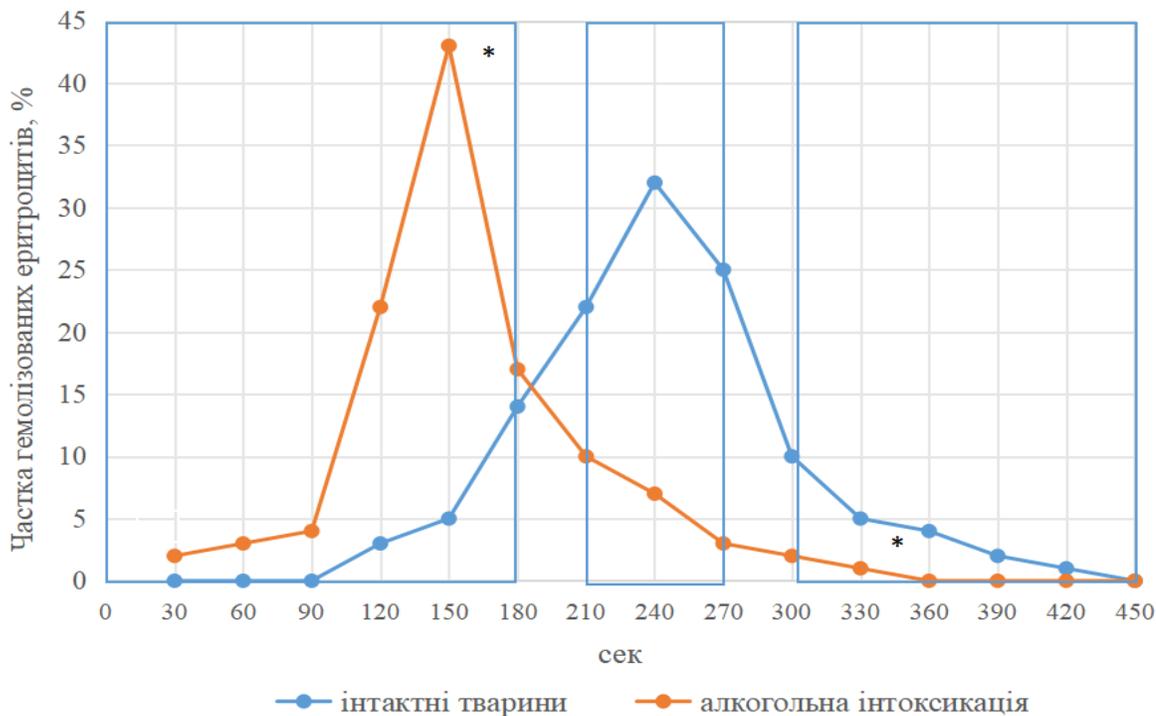


Рис. 3.3. Еритрограма кислотної резистентності еритроцитів крові щурів з алкогольною інтоксикацією

Примітка: * – порівняно з показниками інтактних тварин, $P < 0,05$

Аналіз еритрограми кислотної резистентності еритроцитів крові інтактних тварин свідчить, що гемоліз розпочався на 90-й секунді, основний пік руйнування клітин спостерігався на 240-й секунді з амплітудою 32,5% і завершився повним руйнування еритроцитів на 450-й секунді (рис.3.3). Крива кислотної резистентності еритроцитів групи інтактних тварин має коротку ліву частину, що вказує на невелику кількість старих, малостійких еритроцитів. Центральна частина формується внаслідок лізису еритроцитів середньої стійкості та включає основний пік, а подовжена права частина графіка свідчить про значну кількість молодих, резистентних до кислотного гемолізу еритроцитів.

Після внутрішньошлункового введення 50% етанолу тваринам кислотна еритрограма зазнала суттєвих змін. Отриманні дані вказують на зростання частки

еритроцитів з низькою стійкістю до 0,002 н НСІ за умов впливу 50% етанолу. У групі щурів з гострою алкогольною інтоксикацією скоротився час повного гемолізу у 1,25 рази, а час настання максимуму гемолізу – у 1,6 рази відносно групи інтактних тварин ($P < 0,05$). Як показано на рисунку 3.3, пік еритрограми змістився вліво, став вищим та досягнув 43,7% гемолізованих клітин. Отже, кількість гемолізованих клітин у точці максимуму зросла на 34,46% порівняно з інтактними тваринами ($P < 0,05$).

Спираючись на порівняльний аналіз кислотних еритрограм, можна констатувати, що за умов гострої алкогольної інтоксикації у щурів знижується стійкість мембран еритроцитів до кислотного гемолітика, що зумовлює скорочення часу їхньої циркуляції у крові. Таким чином, зниження кислотної резистентності еритроцитів свідчить про порушення цілісності їх мембран, що проявляється підвищенням проникності, зменшенням стійкості до дії агресивного середовища, а саме закислення, призводить до активації окислювальних процесів, ушкодження фосфоліпідного шару мембран та білкових структур, що у загальному порушує рівновагу гемоглобінів та сприяє гіпоксії.

Для оцінки структурно-функціонального стану мембрани еритроцитів важливе значення має визначення пероксидної резистентності еритроцитів. Показник ПРЕ дозволяє описати стійкість організму до оксидативного стресу, яку пов'язують із стабільністю фосфоліпідів [26]. Рівень ПРЕ визначається співвідношенням насичених і ненасичених жирних кислот у мембранному фосфоліпідному біслої, балансом прооксидантних та антиоксидантних факторів, що впливають на мембрани еритроцитів, кількістю макроергічних фосфатних зв'язків, що підтримають заряд клітинної мембрани та доступність місць вільнорадикального окислення ліпідів до впливу АФК. Високий рівень ПРЕ вказує на деградацію гліцерофосфоліпідів біліпідного шару мембрани еритроцитів, що призводить до підвищення індексу сферичності, зменшення еластичності, збільшення осмотичної крихкості та фрагментації

цитоплазматичної мембрани [34]. Внаслідок чого відбувається порушення проникності мембрани еритроцитів для гемоглобіну, що впливає на ефективність транспорту кисню [2].

У ході дослідження встановлено, що за умов гострої алкогольної інтоксикації рівень пероксидного гемолізу еритроцитів крові щурів в 1,95 рази перевищував значення у групі інтактних тварин ($4,13 \pm 0,75$ та $8,07 \pm 0,31$ відповідно, $P < 0,001$) (рис.3.4).

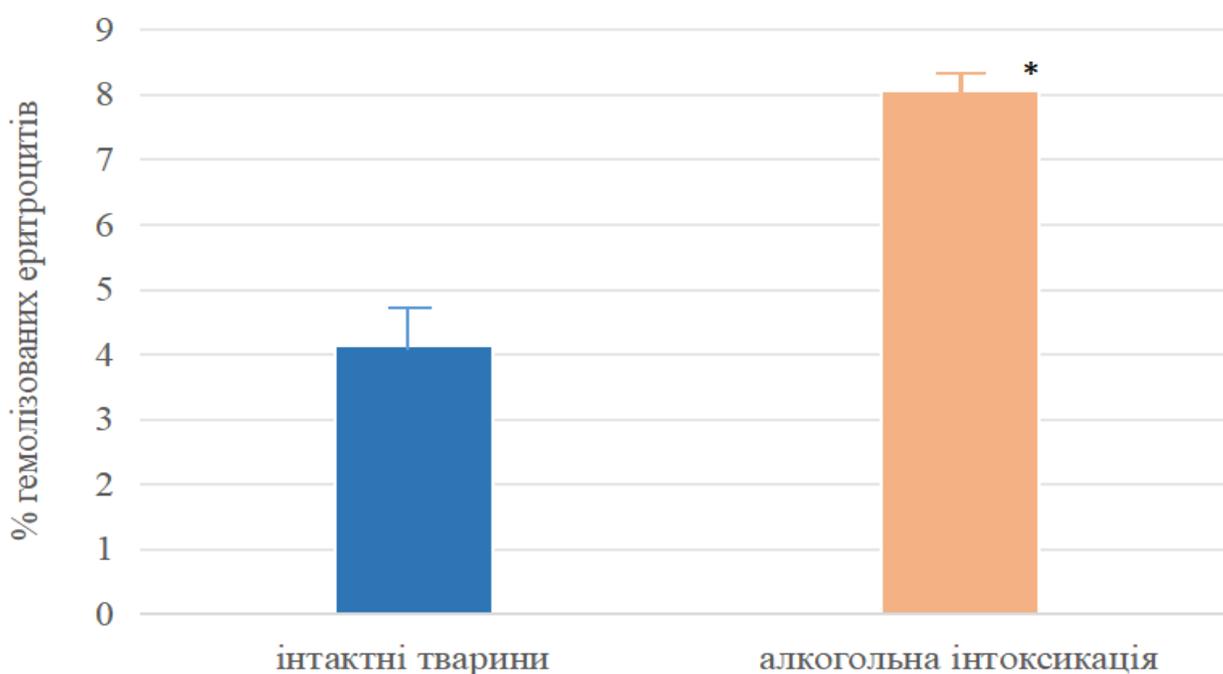


Рис. 3.4. Показник пероксидної резистентності еритроцитів крові щурів з алкогольною інтоксикацією

Примітка: * - порівняно з показниками інтактних тварин, $P < 0,001$

Отже, у щурів з гострою алкогольною інтоксикацією виявлено порушення структури гліцерофосфоліпідів біліпідного шару цитоплазматичної мембрани еритроцитів крові.

Таким чином, результати всіх трьох тестів оцінки цілісності мембран еритроцитів крові свідчать про наявність змін у структурно-функціонального

стану цих клітин крові щурів з гострою алкогольною інтоксикацією. Зафіксовані прояви впливу 50% етанолу на морфо-функціональні показники еритроцитів крові щурів пов'язані з механізмами адаптації до екстремальних умов, які включають активацію метаболічних процесів та посилення ПОЛ, а також окиснення білків. Подібна активація відбувається через мембрану клітин, яка виступає ключовою мішенню в інтеграції як адаптивних, так і або ушкоджуючих реакцій організму.

3.3. Дослідження впливу 1,3-оксазол-4-іл-фосфонової кислоти (ОВП-1) на структурно-функціональний стан еритроцитів крові щурів з гострою алкогольною інтоксикацією.

Проблема патогенезу гострої алкогольної інтоксикації, профілактики алкогольного отруєння і лікування алкоголізму за останні десятиліття набула особливої гостроти і є актуальною через те, що прогресує вживання алкоголю, яке спричинює ряд ускладнень і важко піддається профілактиці та терапії [30].

Враховуючи результати комп'ютерного прогнозування біологічних мішеней для ОВП-1 (див. підрозділ 3.1.), доцільно експериментально оцінити вплив ОВП-1 на структурно-функціональний стан еритроцитів за еритроцитарним індексом інтоксикації, кислотною резистентністю та пероксидною резистентністю, адже це ключові маркери ушкодження мембран за умов гострої алкогольної інтоксикації.

Для оцінки впливу ОВП-1 на ступінь пошкодження еритроцитів за умов гострої алкогольної інтоксикації розчин ОВП-1 у дозі 25 мг/кг внутрішньоочеревинно вводили щурам за 1 годину до внутрішньошлункового введення 50% етанолу через зонд. Через 1 годину після введення етанолу суспензію еритроцитів використовували в подальших дослідженнях.

Аналіз отриманих даних показав, що введення ОВП-1 щурам достовірно понизило ЕП з $55,07 \pm 2,33$ до $38,51 \pm 3,03$, що на 30,07% менше порівняно з групою

тварин з гострою алкогольною інтоксикацією ($P < 0,05$) (рис.3.5). Слід зауважити, що показник ЕП у групі тварин, яким з профілактичною метою вводили ОВП-1, достовірно був вище, ніж у інтактних тварин ($32,26 \pm 2,12$ та $38,51 \pm 3,03$ відповідно, $P < 0,05$).

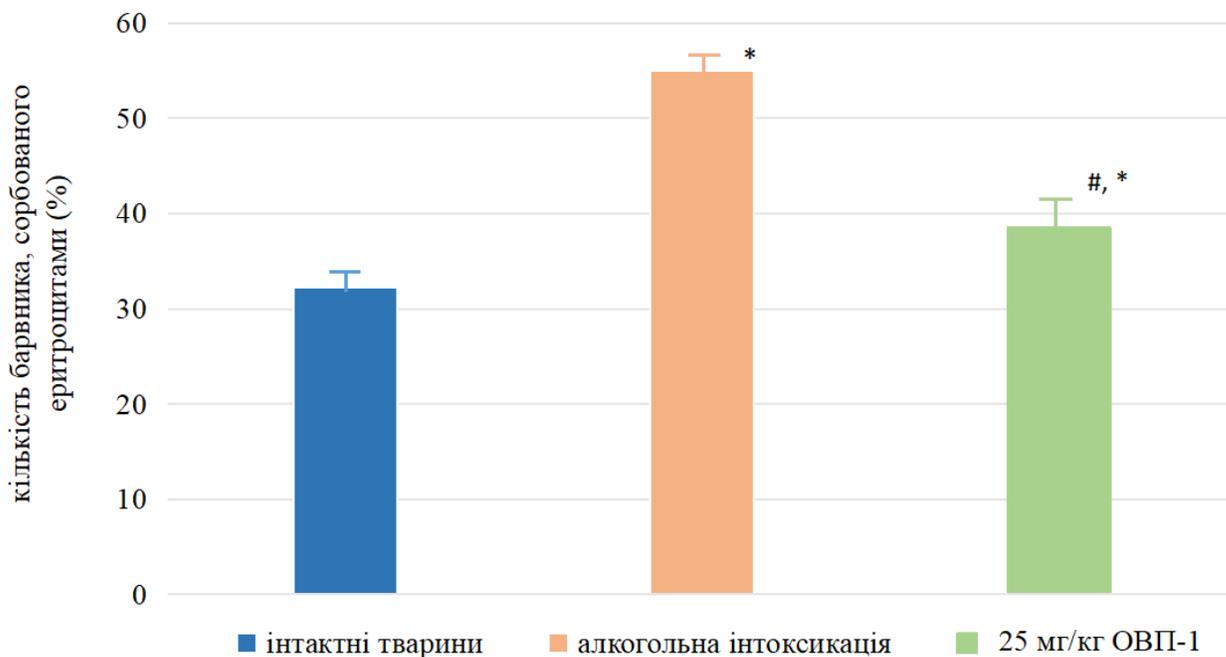


Рис.3.5. Вплив ОВП-1 на еритроцитарний індекс інтоксикації у щурів з гострою алкогольною інтоксикацією

Примітка: * - порівняно з показниками інтактних тварин, $P < 0,05$; # - порівняно з показниками щурів з гострою алкогольною інтоксикацією, $P < 0,05$.

Отже, зниження ЕП свідчить про виражений протекторний вплив ОВП-1, який відображає стабілізацію клітинних мембран та нормалізацію метаболічних процесів внаслідок послаблення інтенсивності ПОЛ, зменшення оксидативного стресу та відновленням функціональної активності еритроцитів,

Результати дослідження впливу ОВП-1 на стійкість еритроцитів до кислотного гемолізу, який відображає динаміку різновікових популяцій

еритроїдних клітин у кровообігу та характеризує стабільність їх мембран, представлені в таблиці 3.2 та рисунку 3.6.

Таблиця 3.2.

**Зміни параметрів кислотних еритрограм за умов корекції ОВП-1
гострої алкогольної інтоксикації у щурів, $M \pm m$**

Показники	Інтактні тварини	Гостра алкогольна інтоксикації	ОВП-1 25 мг/кг
Тривалість гемолізу, сек	450±17,12	360±15,05*	450±20,04 [#]
Час максимального гемолізу, сек	240±13,11	150±7,09*	210±11,03 ^{*,#}
Максимальна частка гемолізованих еритроцитів, %	32,5±1,02	43,7±1,4*	35,2±1,25 ^{*,#}

Насамперед, необхідно відмітити суттєве зміщення вправо еритрограми щурів, яким внутрішньоочеревинно вводили ОВП-1, порівняно з групою тварин з гострою алкогольною інтоксикацією, що свідчить про появу стійких та високостійких еритроцитів. У групі тварин з корекцією ОВП-1 частка прогемолізованих еритроцитів зменшилася на 19,45% відносно показників щурів з гострою алкогольною інтоксикацією, проте залишалася на 8,31% вищою, ніж у інтактних тварин. Тоді як, під впливом ОВП-1 час повного гемолізу достовірно не відрізнявся від групи інтактних тварин, а час максимального гемолізу збільшився в 1,4 рази порівняно з групою тварин з гострою алкогольною інтоксикацією. Виявлені відмінності між показниками кислотної резистентності еритроцитів крові щурів всіх дослідних груп є статистично достовірними на етапах початку, піку та завершення гемолізу (рис.3.6).

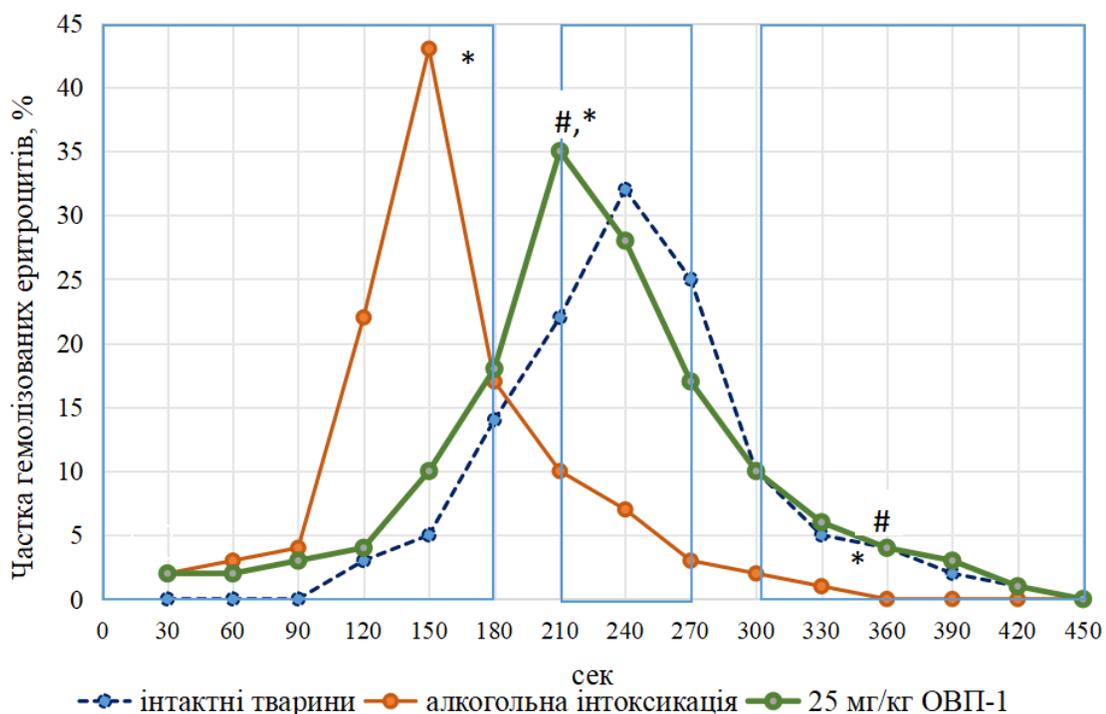


Рис.3.6.Криві кислотної резистентності еритроцитів крові щурів за умов гострої алкогольної інтоксикації та введення ОВП-1

Примітка: * - порівняно з показниками інтактних тварин, $P < 0,05$; # - порівняно з показниками щурів з гострою алкогольною інтоксикацією, $P < 0,05$.

Таким чином, результати порівняльного аналізу кривих кислотної резистентності еритроцитів крові щурів демонструють, що ОВП-1 чинить виражений стабілізуючий вплив на мембрани еритроцитів за умов гострої алкогольної інтоксикації. Це проявляється у зменшенні частки прогемолізованих еритроцитів, подовженні часу максимального гемолізу та формуванні більш стійких популяцій еритроцитів.

У нашому дослідженні встановлено, що у крові щурів з гострою алкогольною інтоксикацією морфо-функціональний стан еритроцитів характеризувався майже двократним зростання значення ПРЕ, що свідчить про високу чутливість еритроцитів до пероксидного гемолізу та АФК при споживанні

50% етанолу. Внутрішньоочеревинне введення тваринам ОВП-1 (25 мг/кг) з профілактичною метою спричинило зниження ПРЕ у 1,2 раза ($6,97 \pm 0,72$ проти $8,07 \pm 0,31$ у групі тварин з гострою алкогольною інтоксикацією, $P < 0,05$), що підтверджує мембранопротекторний потенціал досліджуваної сполуки (рис.3.7).

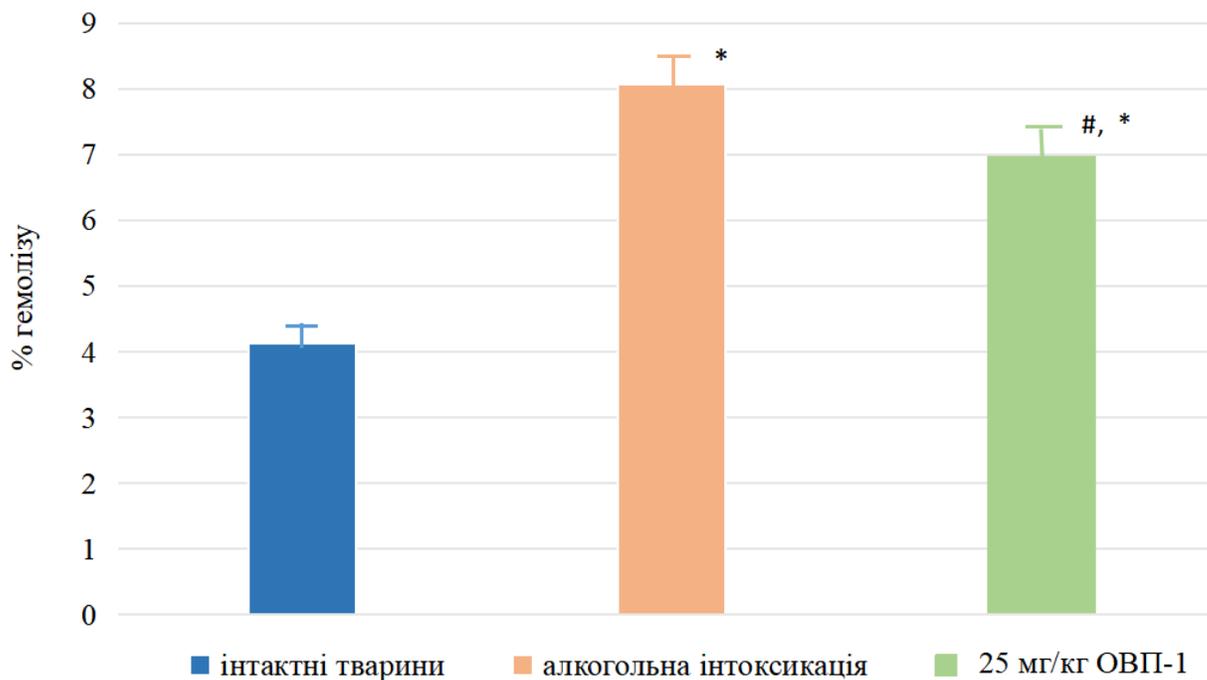


Рис.3.7. Вплив ОВП-1 на пероксидну резистентність еритроцитів крові щурів з гострою алкогольною інтоксикацією

Примітка: * - порівняно з показниками інтактних тварин, $P < 0,05$; # - порівняно з показниками щурів з гострою алкогольною інтоксикацією, $P < 0,05$.

Узагальнюючи вищевикладене, можна стверджувати, що похідна 1,3-оксазол-4-іл-фосфонової кислоти (ОВП-1) захищає клітин крові від токсичного впливу етилового спирту, підтримуючи їх структурну цілісність та функціональну активність. Отримані результати мають важливе значення для розробки ефективних підходів до профілактики та корекції патологічних змін, спричинених гострою алкогольною інтоксикацією.

ВИСНОВКИ

1. Комп'ютерне прогнозування за допомогою веб-сервісу SwissTargetPrediction засвідчило, що похідна 1,3-оксазол-4-іл-фосфонової кислоти (ОВП-1) потенційно здатна проявляти мембранопротекторну дію шляхом регуляції антиоксидантного балансу й підтримання цілісності клітинних мембран. Отриманні дані дозволяють розглядати хімічну сполуку ОВП-1 як перспективний об'єкт для фармакологічних досліджень за умов гострої алкогольної інтоксикації.

2. За умов гострої алкогольної інтоксикації у щурів еритроцитарний індекс інтоксикації виріс на 70% порівняно з інтактними тваринами. Профілактичне введення ОВП-1 (25 мг/кг) спричинило зниження ЕП на 30%, що підтверджує виражений мембранопротекторний ефект сполуки.

3. У щурів з гострою алкогольною інтоксикацією виявлено збільшення частки еритроцитів із низькою кислотною резистентністю та скорочення тривалості повного гемолізу в 1,25 рази. Профілактичне введення ОВП-1 (25 мг/кг) відновило час повного гемолізу до значення інтактних тварин та знизило амплітуду піку еритрограми на 14,28%, що свідчить про підвищення стійкості еритроцитів до дії кислотного середовища.

4. За умов гострої алкогольної інтоксикації у щурів показник пероксидної резистентності еритроцитів крові зріс в 1,95 рази порівняно з інтактними тваринами, що свідчить про високу чутливість еритроцитів до пероксидного гемолізу та АФК при споживанні 50% етанолу. Введення ОВП-1 (25 мг/кг) сприяло зниженню ПРЕ в 1,2 рази, що підтверджує мембранопротекторний потенціал досліджуваної сполуки.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Anderson P. The Impact of Alcoholic Beverages on Human Health // *Nutrients*. — 2021. — Vol. 13, No. 12. — Art. 4417. — DOI: 10.3390/nu13124417. — Available from: <https://doi.org/10.3390/nu13124417>
2. Bettiol A., Galora S., Argento F.R. Erythrocyte oxidative stress and thrombosis // *Expert Review of Molecular Medicine*. — 2022. — Vol. 24. — Art. e31. — Режим доступу: <https://doi.org/10.1017/erm.2022.25>.
3. Biagiotti S., Perla E., Magnani M. Drug transport by red blood cells // *Frontiers in Physiology*. — 2023. — Vol. 14. — Art. 1308632. — Режим доступу: <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1308632>.
4. Bradshaw P.C. Acetyl-CoA Metabolism and Histone Acetylation in the Regulation of Aging and Lifespan // *Antioxidants*. — 2021. — Vol. 10, No. 4. — Art. 572. — Режим доступу: <https://doi.org/10.3390/antiox10040572>.
5. Brusnakov M.Y., Golovchenko O.V., Potikha L.M., Brovarets V.S. 1,3-Oxazoles as precursors of phosphorylated amino acids and peptidomimetics // *Bioorganica*. — 2022. — № 1. — P. 72–?. — Режим доступу: <https://doi.org/10.15407/bioorganica2022.01.072>.
6. Cano-Cebrián M.J., Fernández-Rodríguez S., Hipólito L., Granero L., Polache A., Zornoza T. Efficacy of N-acetylcysteine in the prevention of alcohol relapse-like drinking: study in long-term ethanol-experienced male rats // *Journal of Neuroscience Research*. — 2021. — Vol. 99. — P. 638–648. — Режим доступу: <https://doi.org/10.1002/jnr.24736>.
7. Clabough E., Ingersoll J., Reekes T., Gleichsner A., Ryan A. Acute ethanol exposure during synaptogenesis rapidly alters medium spiny neuron morphology and synaptic protein expression in the dorsal striatum // *International Journal of Molecular Sciences*. — 2021. — Vol. 23, No. 1. — Art. 290. — Режим доступу: <https://doi.org/10.3390/ijms23010290>.

8. Contreras-Zentella M.L., Villalobos-García D., Hernández-Muñoz R. Ethanol metabolism in the liver, the induction of oxidant stress, and the antioxidant defense system // *Antioxidants*. – 2022. – Vol. 11, No. 7. – Art. 1258. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/antiox11071258>.
9. Edenberg H.J., McClintick J.N. Alcohol dehydrogenases, aldehyde dehydrogenases, and alcohol use disorders: a critical review // *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. — 2018. — Vol. 42, No. 12. — P. 2281–2297. — DOI: 10.1111/acer.13904. — Режим доступа: <https://doi.org/10.1111/acer.13904>.
10. Ferreira da Vinha A., Silva C.S., Costa C. Oxidative stress, antioxidants and biomarkers: Appreciation for analytical methods for health promotion // *International Academic Research Journal of Internal Medicine and Public Health*. – 2023. – Vol. 4. – P. 47–55. – Режим доступа: <https://www.iarjimh.com>.
11. Helander A., Hansson T. Alkoholmarkören fosfatidyletanol (PEth) – så bedöms testresultatet [The alcohol biomarker phosphatidylethanol (PEth) – recommendations for use and interpretation of test results] // *Lakartidningen*. – 2023. – Vol. 120. – P. 23029.
12. Hou S., Arce Soto N.M., Glover E.J. Modelling alcohol consumption in rodents using two-bottle choice home cage drinking and optional lickometry-based microstructural analysis [Preprint] // *bioRxiv*. – 2024. – 2024.07.19.604367. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1101/2024.07.19.604367>.
13. İ. İ. Boşgelmez, G. Güvendik, N. Dilbaz, and M. Esen, *Differential Expression of Erythrocyte Proteins in Patients with Alcohol Use Disorder*, *Int. J. Mol. Sci.* 26, 8199 (2025), <https://doi.org/10.3390/ijms26178199>.
14. Innes H., Crooks C.J., Aspinall E., Card T.R., Hamill V., Dillon J., Guha N.I., Hayes P.C., Hutchinson S., West J., Morling J.R. Characterizing the risk interplay between alcohol intake and body mass index on cirrhosis morbidity // *Hepatology*. – 2022. – Vol. 75, No. 2. – P. 369–378. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/hep.32123>.

15. I. V. Nizhenkovska, K. H. Sedko, O. V. Kuznetsova. Study of influence of 1,3-oxazole-4-yl-phosphonic acid derivative on nitric oxide system indicators in rats with arterial hypertension // *Česká a slovenská farmacie*. – 2018. – Vol. 67, No. 4. – P. 154–159. – Режим доступа: <https://doi.org/10.36290/csf.2018.022>.

16. Islamzada E., Matthews K., Lamoureux E.S., Duffy S.P., Scott M.D., Ma H. Red blood cells with reduced deformability are selectively cleared from circulation in a mouse model // *Blood Advances*. – 2025. – Vol. 9, No. 12. – P. 2988–2996. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2024014100>.

17. Jiang Y., Zhang T., Kusumanchi P., Han S., Yang Z., Liangpunsakul S. Alcohol metabolizing enzymes, microsomal ethanol oxidizing system, cytochrome P450 2E1, catalase, and aldehyde dehydrogenase in alcohol-associated liver disease // *Biomedicines*. – 2020. – Vol. 8. – Art. 50. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/biomedicines8030050>.

18. Jin X., Zhang Y., Wang D., Zhang X., Li Y., Wang D., Liang Y., Wang J., Zheng L., Song H., Zhu X., Liang J., Ma J., Gao J., Tong J., Shi L. Metabolite and protein shifts in mature erythrocyte under hypoxia // *iScience*. – 2024. – Vol. 27, No. 4. – Art. 109315. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.109315>.

19. Jomova K., Raptova R., Alomar S.Y., Alwasel S.H., Nepovimova E., Kuca K., Valko M. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging // *Arch Toxicol*. – 2023. – Vol. 97, No. 10. – P. 2499–2574. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03562-9>.

20. Kandrashina S., Sherstyukova E., Shvedov M., Inozemtsev V., Timoshenko R., Erofeev A., Dokukin M., Sergunova V. The effect of the acid-base imbalance on the shape and structure of red blood cells // *Cells*. – 2024. – Vol. 13, No. 21. – P. 1813. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11545479>.

21. Katariya K.D., Vennapu D.R., Shah S.R. Synthesis and molecular docking study of new 1,3-oxazole clubbed pyridyl-pyrazolines as anticancer and antimicrobial

agents // Journal of Molecular Structure. – 2021. – Art. 130036. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130036>.

22. Kim K.W., Suh B.C. Ethanol inhibits Kv7.2/7.3 channel open probability by reducing the PI(4,5)P2 sensitivity of Kv7.2 subunit // *BMB Reports*. — 2021. — Vol. 54, No. 6. — P. 311–316. — DOI: 10.5483/BMBRep.2021.54.6.231. — Режим доступа: <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2021.54.6.231>.

23. Lin Y., de Bruin G., Demont D., de Zwart E., Verkaik S., Hoogenboom N., van de Kar B., van Lith B., Emmelot-van Hoek M., Gulrajani M., Covey T., Kaptein A., Barf T. Discovery of quinoline-based irreversible BTK inhibitors // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2020. – Vol. 30, No. 15. – Art. 127261. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127261>.

24. Lototska O., Bandrivska Yu. Endogenous intoxication syndrome in rats consuming drinking water with different phosphate contents // *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series “Medicine”*. – 2023. – Vol. 47. – P. 4–11. – Режим доступа: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2023-47-01>.

25. Luginbühl M., Wurst F.M., Stöth F., Weinmann W., Stove C.P., Van Uytvanghe K. Consensus for the use of the alcohol biomarker phosphatidylethanol (PEth) for the assessment of abstinence and alcohol consumption in clinical and forensic practice (2022 Consensus of Basel) // *Drug Testing and Analysis*. – 2022. – Vol. 14, No. 10. – P. 1800–1802. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1002/dta.3340>.

26. Massaccesi L., Galliera E., Corsi Romanelli M.M. Erythrocytes as markers of oxidative stress related pathologies // *Mechanisms of Ageing and Development*. – 2020. – Vol. 191. – P. 111333. – Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32814082/>.

27. Masuoka N., Zukeran A., Takemoto K., Wang D.H., Ishihara K. Effect of hydrogen peroxide on normal and acatalasemic mouse erythrocytes // *Toxicology Reports*. – 2020. – Vol. 7. – P. 282–287. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.02.001>.

28. Metelytsia L.O., Trush M.M., Kovalishyn V.V., Hodyna D.M., Kachaeva M.V., Brovarets V.S., Pilyo S.G., Sukhoveev V.V., Tsyhankov S.A., Blagodatnyi V.M., Semenyuta I.V. 1,3-Oxazole derivatives of cytosine as potential inhibitors of glutathione reductase of *Candida* spp.: QSAR modeling, docking analysis and experimental study of new anti-*Candida* agents // *Computational Biology and Chemistry*. – 2021. – Vol. 90. – Art. 107407. – Режим доступу: <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2020.107407>.

29. Mikaelyan M.S., Shahinyan M.A., Poghosyan G.H., Sargsyan E.G., Nerkararyan A.V. Study of aspirin effect on stability of membranes of rat blood erythrocytes by acidic hemolysis method // *Proceedings of the Yerevan State University. Chemistry and Biology*. – 2022. – Vol. 56, No. 1. – P. 56–62. – Режим доступу: <https://doi.org/10.46991/PYSU:B/2022.56.1.056>.

30. Mirijello A., Sestito L., Antonelli M., Gasbarrini A., Addolorato G. Identification and management of acute alcohol intoxication // *European Journal of Internal Medicine*. – 2023. – Vol. 108. – P. 1–8. – Режим доступу: <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2022.08.013>.

31. Mudireddy R.R., Gundla R., Koraboina C.P., Velavalapalli V.M., Sarma Dhulipalla V.V., Burle G.S., Jonnalagadda S.B., Katari N.K. Novel and efficient synthesis of 5-chloro-6-methoxy-3-(2-((1-(aryl)-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methoxy)ethyl)benzo[d]isoxazole derivatives as new α -glucosidase inhibitors // *Biochemical and Biophysical Reports*. – 2025. – Vol. 43. – Art. 102074. – Режим доступу: <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2025.102074>.

32. Nakayama K., Hasegawa H. Blood vessels as a key mediator for ethanol toxicity: implication for neuronal damage // *Life (Basel)*. – 2022. – Vol. 12, No. 11. – Art. 1882. – Режим доступу: <https://doi.org/10.3390/life12111882>.

33. Nizhenkovska I.V., Matskevych K.V., Golovchenko O.I., Golovchenko O.V., Kustovska A.D., Van M. New prospective phosphodiesterase inhibitors: phosphorylated oxazole derivatives in treatment of hypertension // *Advanced*

Pharmaceutical Bulletin. – 2023. – Vol. 13, No. 2. – P. 399–407. – Режим доступа: <https://doi.org/10.34172/apb.2023.044>.

34. Orrico F., Laurance S., Lopez A.C., Lefevre S.D., Thomson L., Möller M.N., Ostuni M.A. Oxidative stress in healthy and pathological red blood cells // *Biomolecules*. – 2023. – Vol. 13. – Art. 1262. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/biom13081262>.

35. Osna N.A., Ganesan M., Seth D., Wyatt T.A., Kidambi S., Kharbanda K.K. Second hits exacerbate alcohol-related organ damage: an update. *Alcohol and Alcoholism*. 2021. Vol. 56, No. 1. P. 8–16. DOI: <https://doi.org/10.1093/alcalc/agaa085>.

36. Partsei K., Ersteniuk H., Valishkevych B., Tokaryk H. Erythrocyte indices under conditions of energy drink consumption in Ukraine // *Tanzania Journal of Health Research*. – 2024. – Vol. 25, No. 3. – P. 1150–1162. – Режим доступа: <https://doi.org/10.4314/thrb.v25i3.13>.

37. Pothoczki S., Pethes I., Pusztai L., Temleitner L., Ohara K., Bakó I. Properties of hydrogen-bonded networks in ethanol-water liquid mixtures as a function of temperature: diffraction experiments and computer simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2021. Vol. 125, No. 23. P. 6272–6279. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c03122>.

38. Pulliam K.E., Joseph B., Makley A.T., Caldwell C.C., Lentsch A.B., Goodman M.D., Pritts T.A. Washing packed red blood cells decreases red blood cell storage lesion formation // *Surgery*. – 2021. – Vol. 169, No. 3. – P. 666–670. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.surg.2020.07.022>.

39. Qin S., Yin J., Huang S., Lin J., Fang Z., Zhou Y., Huang K. Astragaloside IV protects ethanol-induced gastric mucosal injury by preventing mitochondrial oxidative stress and the activation of mitochondrial pathway apoptosis in rats // *Frontiers in Pharmacology*. — 2019. — Vol. 10. — Art. 894. — DOI:

10.3389/fphar.2019.00894. — Режим доступа:
<https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00894>.

40. S. Bulle, V. D. Reddy, P. Padmavathi, P. Maturu, P. K. Puvvada, and V. Nallanchakravarthula, *Association between alcohol-induced erythrocyte membrane alterations and hemolysis in chronic alcoholics*, *J. Clin. Biochem. Nutr.* 60, 63–69 (2017), <https://doi.org/10.3164/jcbn.16-16>.

41. Seitz H.K., Moreira B., Neuman M.G. Pathogenesis of alcoholic fatty liver: a narrative review // *Life*. – 2023. – Vol. 13. – Art. 1662. – Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/life13081662>.

42. Tiwari D., Narang R., Sudhakar K., Singh V., Lal S., Devgun M. 1,3,4-oxadiazole derivatives as potential antimicrobial agents // *Chemical Biology & Drug Design*. – 2022. – Vol. 100, No. 6. – P. 1086–1121. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1111/cbdd.14100>.

43. Tsermpini E.E., Plemenitaš Ilješ A., Dolžan V. Alcohol-Induced Oxidative Stress and the Role of Antioxidants in Alcohol Use Disorder: A Systematic Review // *Antioxidants (Basel)*. — 2022. — Vol. 11, No. 7. — Art. 1374. — DOI: 10.3390/antiox11071374. — Режим доступа: <https://doi.org/10.3390/antiox11071374>.

44. Wang R., Chen K., Liu S., Ren R., Hou H., Zeng Q., Zhang Y., Liu Y. Design, synthesis and biological evaluation of novel oxazole derivatives as potential hypoglycemic agents // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2024. – Vol. 114. – Art. 117961. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2024.117961>.

45. Waris S., Patel A., Ali A., Mahmood R. Acetaldehyde-induced oxidative modifications and morphological changes in isolated human erythrocytes: an in vitro study // *Environmental Science and Pollution Research International*. – 2020. – Vol. 27, No. 14. – P. 16268–16281. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08044-4>.

46. Zhang X., Lin Y., Xin J., Zhang Y., Yang K., Luo Y., Wang B. Red blood cells in biology and translational medicine: natural vehicle inspires new biomedical applications // *Theranostics*. – 2024. – Vol. 14, No. 1. – P. 220–248. – Режим доступу: <https://doi.org/10.7150/thno.87425>.

47. Zheng C., Li S., Mueller J., Chen C., Lyu H., Yuan G., Zamalloa A., Adofina L., Srinivasan P., Menon K., Heaton N., Immenschuh S., Silva I., Rausch V., Hammad S., Dooley S., Chokshi S., Riva A., He S., Mueller S. Evidence for alcohol-mediated hemolysis and erythrophagocytosis // *Redox Biology*. – 2025. – Vol. 85. – Art. 103742. – Режим доступу: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2025.103742>.

48. Erythrocyte fragility [Електронний ресурс] – Режим доступу: https://en.wikipedia.org/wiki/Erythrocyte_fragility.

49. SwissTargetPrediction. Predict target for job 146202734 (organism: *Rattus norvegicus*) [Електронний ресурс] // SwissTargetPrediction. – 2025. – Режим доступу: https://www.swisstargetprediction.ch/result.php?job=146202734&organism=Rattus_norvegicus.

50. Король Т., Вивірка М. Морфологічні особливості та показники кислотного гемолізу еритроцитів алкоголізованих щурів за дії таурину // Науковий вісник Східноєвропейського національного університету ім. Лесі Українки. Серія: Біологічні науки. – 2019. – № 3(387).

51. Мацькевич К.В. Експериментальне дослідження фосфорильованих похідних оксазолу як потенційних антигіпертензивних засобів: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук: 14.03.05 – фармакологія / Нац. фарм. ун-т, м. Харків. – Харків, 2019. – 0 с. – Режим доступу: <https://nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2015/06/Автореферат-Мацькевич-КВ.pdf>.

52. Седько К.В., Ніженковська І.В., Кузнецова О.В., Кривой І.І. Дослідження впливу похідного 1,3-оксазол-4-іл-фосфонової кислоти на рівень іонів кальцію в сироватці крові щурів з артеріальною гіпертензією // *Advances of*

Science: International Scientific Conference, Czech Republic – Ukraine, 1 June 2018.
– Karlovy Vary ; Kyiv: MCNIP, 2018. – С. 95–96.

53. Конвенція Ради Європи про захист прав людини та основоположних свобод (Страсбург, 1986) [Електронний ресурс] // Ліга: Закон. – 1986. – Режим доступу: https://ips.ligazakon.net/document/mu86324?ed=1986_03_18.

54. Про ратифікацію Конвенції про захист прав людини і основоположних свобод 1950 року, Першого протоколу та протоколів № 2, 4, 7 і 11 до Конвенції : Закон України від 17.07.1997 № 475/97 ВР [Електронний ресурс] // База даних «Законодавство України» / Верховна Рада України. – Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/go/475/97%20%D0%B2%D1%80>.

SUMMARY

Deniskina Yeva

EXPERIMENTAL ASSESSMENT OF THE EFFECT
OF THE 1,3-OXAZOL-4-YL-PHOSPHONIC ACID DERIVATIVE (OVP-1)
ON THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES
OF RAT RED BLOOD CELLS UNDER ACUTE ALCOHOL INTOXICATION

Department of Medicinal Chemistry and Toxicology

Scientific supervisor: Candidate of Biological Sciences, Associate Professor
Kuznetsova O.V.

Keywords: 1,3-oxazol-4-yl-phosphonic acid derivative, acute alcohol intoxication, red blood cells, erythrocyte intoxication index, acid hemolysis.

Introduction. Acute alcohol intoxication is accompanied by the development of oxidative stress and disruption of the structural and functional properties of cell membranes, in particular red blood cells. A promising direction of pharmacological research is the search for compounds with membrane-protective and antioxidant properties, including 1,3-oxazol-4-yl-phosphonic acid derivative (OVP-1) .

Materials and methods. Female Wistar rats with 222 ± 24 g body weight were used for the experiment. *In silico* computer modeling methods (SwissTargetPrediction), toxicological methods (*in vivo* modeling of acute alcohol intoxication by intragastric administration of a 50% ethanol solution at a dose of 5 ml/kg), hematological methods (*in vitro* determination of the erythrocyte intoxication index, acid and peroxide resistance of erythrocytes), as well as statistical processing of the results by the one-factor analysis of variance (ANOVA) method were used. Rats received an intraperitoneal injection of OVP-1 (25 mg/kg) 60 minutes prior to EtOH exposure.

Results. Computer-based prediction indicated a potential membrane-protective effect of OVP-1. Under acute alcohol intoxication in rats, the erythrocyte intoxication index increased by 70%, whereas prophylactic administration of OVP-1 reduced it by

30%. Acute alcohol intoxication was associated with a decrease in the acid and peroxide resistance of erythrocytes, while OVP-1 treatment normalized these parameters.

Conclusions. The obtained results demonstrate a pronounced membrane-protective and antioxidant effect of the 1,3-oxazol-4-yl-phosphonic acid derivative (OVP-1). This compound is a promising for therapeutic development in alcohol-induced red blood cell dysfunction.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Заступник директора з наукової роботи Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря НАН України д.х.н., професор Броварець В.С.
 « 10 » жовтня 2017 р.



У відділі хімії біоактивних азотовмісних гетероциклічних основ Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря НАН України був синтезований хімічний ряд сполук фосфорильованих похідних оксазолу (лабораторний шифр ОВП-1, ОВП-2, ОВП-3, ОВП-4, ОВП-5, ОВП-6, ОВП-7, ОВП-8, ОВП-9, ОВП-10).

Означені сполуки були синтезовані із похідних діетилових естерів 5-аміно-2-фтальмідо-1,3-оксазол-4-ілфосфонових кислот для одержання сполук із розщепленим у кислому середовищі оксазоліним кільцем, які містять всередині пептидного ланцюга залишок фосфогліцину, та із похідних діетилових естерів 2-аміноалкіл-5-алкіламіно-1,3-оксазол-4-ілфосфонових кислот взаємодією з ненасиченими азлактонами, які містять фрагменти дегідроамінокислот.

Фосфорильовані похідні 1,3-оксазолу є кристалічними порошками від світло-жовтого до оранжевого кольору, поганорозчинними у воді, добрерозчинними в органічних розчинниках. Всі БАР без запаху, негігроскопічні.

Для доказу складу та структури речовин було використано визначення температури плавлення, ІЧ-спектроскопію та ЯМР-спектроскопію. Встановлені результати підтвердили відповідність синтезованих сполук заявленим формулам (Табл. 1).

Таким чином, проведені всі необхідні дослідження будови БАР, які підтверджують аутентичність зазначених сполук. Синтезовані сполуки віддані для вивчення фармако-токсикологічного профілю на кафедрі фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету імені О. О. Богомольця дисертанту Седько Катерині Володимирівні.

Заступник директора з наукової роботи Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря НАН України д.х.н., професор



В.С. Броварець

Київський національний університет
імені Тараса Шевченка

Рада молодих вчених Університету
Студентський парламент Університету
Науковий парк Університету
Наукове товариство студентів та аспірантів Університету

СЕРТИФІКАТ

засвідчує, що

Деніскіна Єва Романівна

є учасником

XII Всеукраїнської науково-практичної конференції
студентів, аспірантів та молодих вчених

Об'єднані наукою:

перспективи міждисциплінарних досліджень

З доповіддю на тему:

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ЕРИТРОЦИТІВ
ПІД ДІЄЮ ЕТАНОЛУ**

Голова організаційного комітету
Проректор з наукової роботи
Київського національного
університету
імені Тараса Шевченка
доктор біологічних наук, професор

Ганна ТОЛСТАНОВА



20-21 листопада 2025 року



CERTIFICATE

№2410171

IS AWARDED TO

YEVA DENISKINA

SCIENTIFIC SUPERVISOR:

OLENA KUZNETSOVA

for presentation of student's scientific work in the section of

**MEDICINAL CHEMISTRY AND TOXICOLOGY,
AND PHARMACOGNOSY**

Kobyliak N.
Vice-rector for research and
innovations, professor, MD. DSC

Kostiuk I.
Associate professor, CPSC
Head of SYSS

Syrvatka R.
Head of Kysil SSS



СЕРТИФІКАТ №073/2026

Цим засвідчується, що

Деніскіна Є. Р.

брав(-ла) участь у VI Науково-практичній конференції з міжнародною участю
«PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА»

Тривалістю 6 годин (0,2 кредита ЄКТС)

23 січня 2026 р.,
м. Київ, Україна



Конференція зареєстрована у ДНУ «Український інститут науково-технічної експертизи та інформації» (Посвідчення УкрІНТЕІ № 741 від 28 жовтня 2025 р.)

PLANTA+

НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА

Ректор Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, д. м. н., професор

В. о. завідувача кафедри фармакогнозії та ботаніки, д. фарм. н., професор



Юрій КУЧИН

Уляна КАРПЮК