

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2024-28(1)-03

УДК: 615 : 615.2 : 615.4 : 616-002 : 616-03

## ПРОТИЗАПАЛЬНА ТА АНАЛГЕТИЧНА ДІЯ МАЗІ, ЯКА МІСТИТЬ КАРОТИНОЇДИ ГЕКСАНОВОГО ЕКСТРАКТУ *CLADOPHORA AEGAGROPILA*

Александрова О. І., Грицук О. І., Еберле Л. В., Радаєва І. М., Устянська О. В., Цісак А. О.

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова (вул. Дворянська, 2, м. Одеса, Україна, 65026)

Відповідальний за листування:  
e-mail: aleksa713135@gmail.com

Статтю отримано 16 листопада 2023 р.; прийнято до друку 27 грудня 2023 р.

**Анотація.** Стаття присвячена дослідженню протизапальної й анальгетичної дії мазі, яка містить у своєму складі каротиноїди гексанового екстракту водорості *Cladophora aegagropila*. Протизапальну дію 2% мазі визначали на моделях каррагінан- та трипсин-індукованого запалення задніх кінцівок білих щурів. Досліди проводили на 10 білих лабораторних щурах, масою 150-170 г для кожного виду запалення. Для каррагінан-індукованого запалення першій групі тварин (5 щурів) вводили розчин каррагінану і терапію не надавали; другій групі тварин (5 щурів) аплікували мазь з каротиноїдами на уражену кінцівку протягом 3 днів експерименту після введення розчину флогогену. Для трипсин-індукованого запалення в першій групі тварин (5 щурів) мазь не використовували; другій групі тварин (5 щурів) аплікувалась мазь з каротиноїдами на задню кінцівку попередньо за годину до введенням розчину трипсину. Оцінку результатів лікування проводили на підставі динаміки зміни морфологічних показників - ширини та об'єму ураженої кінцівки. На моделі каррагінан-індукованого запалення вимірювання показників проводилось щодобово, протягом 6 днів експерименту; на моделі трипсин-індукованого запалення - через 0,5, 1, 2, 3, 4, 6 та 12 годин після введення флогогенного агента. Анальгетичну дію мазі вивчали на моделях гарячої пластини та хімічного подразнення кінцівок білих мишей вагою 20-22 г по 5 голів у групі. Контрольній групі тварин мазь на кінцівку перед відповідним подразненням не наносилась, другій групі тварин за 20 хвилин до проведення відповідного тесту наносилась на кінцівку 2% мазь з каротиноїдами, третій групі тварин - 2% мазь з анестезином. За тестом "гарячої пластини" вимірювали латентний період больової реакції тварин, за тестом "капсаїцинового подразнення" вимірювали час прояву больової реакції тварин. Результати експериментів обчислювали за допомогою програмного пакету Microsoft Excel з використанням значень середньої арифметичної величини ( $M$ ) і середнього відхилення середньої арифметичної величини ( $m$ ); достовірність відмінностей отриманих даних відносно контрольних значень розраховували за критерієм Ст'юдента. Було встановлено, що мазь з каротиноїдами виявляє протизапальну активність при лікуванні розвинутого запалення на моделі каррагінан-індукованого набряку, гальмуючи процес запалення задньої кінцівки щурів в середньому протягом експерименту на 17% за шириною та на 34% за об'ємом ураженої кінцівки відносно показників нелікованих тварин. Протизапальна дія мазі також спостерігається при профілактиці запальних реакцій, що було показано на моделі трипсин-індукованого набряку: зниження морфологічних показників становить в середньому протягом всього експерименту на 18% за шириною та на 27% за об'ємом ураженої кінцівки відносно показників нелікованих тварин. Було встановлено, що запропонована мазь, хоча й поступається дії мазі з референс-препаратом анестезином, але також володіє анальгетичним ефектом, збільшуючи латентний період больової реакції в 3 рази в тесті "гаряча пластина" та зменшуючи час прояву болю в 1,6 рази у тесті хімічного подразнення. Отже, каротиноїди *Cladophora aegagropila* в складі мазі володіють протизапальними та анальгетичними властивостями, що становить інтерес до подальшого вивчення їхньої фармакологічної дії з метою використання у медицині.

**Ключові слова:** *Cladophora aegagropila*, гексановий екстракт, мазь, протизапальна дія, анальгетична активність.

### Вступ

Незважаючи на великий асортимент лікарських синтетичних засобів, досить велика увага приділяється біологічно активним речовинам рослинного походження [15, 16], які надають широкий спектр фармакологічної активності (протизапальної, антиоксидантної, гепато- та кардіопротекторної тощо) завдяки унікальному комплексному складу [13, 20, 24]. Дуже багато захворювань супроводжують запальні процеси, що являють собою певний каскад метаболічних причинно-наслідкових процесів, у яких присутні елементи захисту та пошкодження. Для фармакотерапії запальних процесів досить успішно використовують біологічно активні речовини рослинного походження [7, 17] для створення відповідних лікарських засобів. Певний інтерес викликає куляста водорість *Chadophora aegagropila*, яка має розповсюджений ареал від Тихого океану до Атлантичного кризі

всю Євразію. Також вона дуже поширена в Чорному морі і є цінною сировиною для вилучення необхідних біологічно активних речовин. У попередніх дослідженнях нами було встановлено, що спиртово-водний екстракт водорості *Chadophora aegagropila* містить поліфенольні сполуки, які надають потужний протизапальний ефект [2], тому для створення комплексного екстракту із цієї сировини і підсилення протизапальної дії ми поставили завдання отримати каротиноїди з такої сировини та дослідити їхню фармакологічну активність у складі м'якої лікарської форми.

### Матеріали та методи

Для вилучення каротиноїдів використовували гексан [12, 14], який додавали до попередньо подрібненої (розмір часточок 2 мм) сухої сировини *Chadophora*

*aegagropila*. Співвідношення сировини до екстрагенту складало 1:5. Екстракція здійснювалась методом мацерації протягом 7 діб у темному скляному флаконі, у захищеному місці від світла за кімнатної температури. В отриманому екстракті спектрофотометричним методом визначали кількісний вміст каротиноїдів у перерахунку на  $\beta$ -каротин при довжині хвилі 450 нм і довжиною поглинаючого шару 10 мм. Отримання спектру поглинання гексанового екстракту *Cladophora aegagropila* та кількісне визначення каротиноїдів проводили на спектрофотометрі UV-2401PC (Shimadzu).

Для виготовлення мазі отриманий екстракт випаровували за підвищеного тиску та температури 50 °С, отриманий сухий екстракт додавали до мажевої основи, яка містила суміш поліетиленгліколю (ПЕГ 1500), поліетиленоксиду (ПЕО 400) і 1,2 пропіленгліколю у співвідношенні 4:2:3.

Як експериментальна модель запалення був обраний асептичний каррагінан-індукований набряк задньої кінцівки щурів [8]. Досліди проводили на білих лабораторних щурах масою 150-170 г, яких поділяли на 2 експериментальні групи по 5 голів у кожній. Перша група (контроль) - тварини, яким вводився флогогенний агент і терапія не надавалась, друга група (дослідна) - тварини, яким аплікували мазь з каротиноїдами на уражену кінцівку протягом 3 діб експерименту після введення розчину каррагінану. Гостру запальну реакцію викликали субплантарним введенням 0,2 мл 0,2% розчину каррагінану. Через 24 години після введення флогогенного агента проводили лікування індукованого набряку задньої кінцівки щурів шляхом аплікування на уражену кінцівку експериментальної мазі. Оцінку результатів лікування проводили на підставі динаміки зміни морфологічних показників - ширини та об'єму ураженої кінцівки щодобово, протягом 6 діб експерименту. Ширину ураженої кінцівки (мм) вимірювали за допомогою електронного штангенциркуля, об'єм (мл) - за допомогою плетизмометра. Збільшення ширини та об'єму ураженої кінцівки для кожного щура виражали у відсотках від вихідних розмірів ширини та об'єму їх кінцівки, що визначались на початку експерименту.

Також протиzapальну активність мазі вивчали на моделі трипсин-індукованого набряку задньої кінцівки щурів [18]. Попередньо, за годину до введення 0,1 мл 0,5% розчину трипсину, під плантарний апоневроз, на задню кінцівку тварин (5 щурів) наносилась експериментальна мазь (дослідна група), в іншій групі тварин (5 щурів) вводився розчин трипсину без застосування мазі (контроль). Морфологічні показники ураженої кінцівки вимірювали через 0,5, 1, 2, 3, 4, 6 та 12 годин після введення флогогенного агента.

У тестах для вивчення анальгетичної дії каротиноїдів у складі мазі використовували білих мишей вагою 20-22 г. Для вимірювання порогу больової реакції були обрані тест "гаряча пластина", який дозволяє дослідити аналгетичну активність експериментальної мазі в умовах

термічного подразнення кінцівок білих мишей [5] та тест "хімічного подразнення", у якому субплантарно вводився розчин капсаїцину у 1,2-пропіленгліколі (6 мкг/кінцівку) у задню кінцівку миші [22]. При термічному подразненні використовували гарячу пластину, яку нагрівали до 55°C (Hot plate-метр, Columbus Instruments, США). Аналгетична дія мазі визначалась за здатністю змінювати поріг больової чутливості експериментальних тварин до відповідних подразнень. Аналгетична активність мазі в тесті "гаряча пластина" вимірювалась як час (с) перебування мишей на гарячій пластині до появи оборонного рефлексу - віднімання від поверхні та облизування кінцівок. При хімічному подразненні, одразу після введення розчину капсаїцину у задню кінцівку, яка попередньо була оброблена маззю, тварина поміщалась у прозору камеру та протягом 5 хвилин реєструвався час (с), який тварина витратила на облизування ураженої кінцівки. У дослідах використовували 3 групи тварин (по 5 мишей) для кожного тесту: перша група - контрольна група, тварини без застосування мазей; друга група - тварини, яким за 20 хвилин до відповідного подразнення наносилась на кінцівки 2% мазь з каротиноїдами; третя група - тварини, яким наносили препарат порівняння анестезин (2% мазь). Для тесту "гаряча пластина" зазначені мазі наносились на всі кінцівки мишей. Для тесту "капсаїцинового подразнення" попередньо наносилась відповідна мазь на ліву задню кінцівку та через 20 хвилин в цю кінцівку субплантарно вводився розчин капсаїцину (0,03% розчин в 1,2-пропіленгліколі, 20 мкл (6 мкг/кінцівку)).

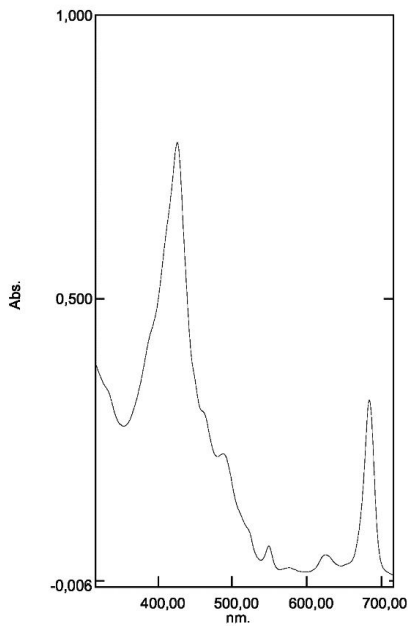
Усі експериментальні тварини, які використовувались в дослідах, перебували в стандартних умовах у вільному доступі до їжі й води. Усі дослідження відповідали правилам "Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях" (Страсбург, 1986) [11], принципам Національного конгресу України з біоетики (Київ, 2003 г.) [19] та нормам Закону України про захист тварин від жорстокого поводження [23].

Експериментальні дані були оброблені за допомогою програмного пакету Microsoft Excel з використанням значень середньої арифметичної величини (M) і середнього відхилення середньої арифметичної величини (m). Кожне значення представлено як  $M \pm m$ . Достовірність відмінностей отриманих даних відносно контрольних значень розраховували за критерієм Ст'юдента.

*Надані матеріали є частиною НДР "Фармакологічна корекція змодельованих патологічних станів шляхом застосування розроблених лікарських форм" (Номер державної реєстрації НДР: 0122U200545).*

### Результати. Обговорення

Полієнові структури каротиноїдів обумовлюють інтенсивне поглинання електромагнітного випромінювання в інтервалі від 400 до 500 нм, що відповідає забарвленню, яке залежить від структури сполуки. Максимум по-



**Рис. 1.** Спектр поглинання гексанового екстракту *Chadophora aegagropila*.

глинання на дослідженому спектрі (рис. 1) реєструється при 425 нм, що відповідає спектру поглинання β-каротину в гексані [21].

Вміст суми каротиноїдів у гексановому екстракті (у перерахунку на вміст β-каротину, за біхроматом калію) *Chadophora aegagropila* в перерахунку на 100 г сухої сировини складає 18,62±0,11 мг.

Каррагінан-індукований набряк дозволяє визначити протизапальну активність мазі з екстрактом *Chadophora aegagropila* в основному на стадії ексудації, коли розвивається запалення внаслідок активності простагландинів та лейкотриєнів [8].

При лікуванні запалення експериментальною маззю було встановлено, що інтенсивність запалення знижується вже на другу добу експерименту за двома морфологічними показниками, відповідно на 22 та 30%

відносно контролю запалення (рис. 2).

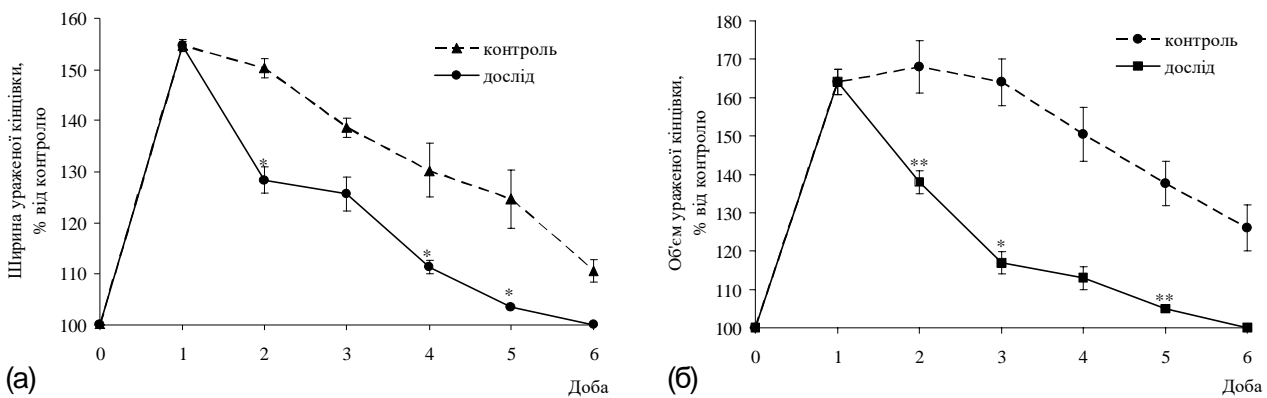
Використання мазі протягом трьох діб з моменту розвитку запалення призводить до значного зниження запальної реакції, а вихідні розміри кінцівок тварин досягаються вже на 6-ту добу експерименту.

Мазь з каротиноїдами можна також використовувати для профілактики розвитку запальних процесів, що було показано на моделі трипсин-індукованого запалення. Так, попереднє нанесення мазі на кінцівку перед введенням розчину флогогену дозволяє зменшити запалення вже через 0,5 годин після введення розчину трипсину: за шириною ураженої кінцівки зменшення відбувається на 32%, за об'ємом - на 23% відносно показників контролю запалення (рис. 3). Треба зазначити, що протягом 12 годин експерименту профіль динаміки прояву запальної реакції у щурів, яким попередньо наносили мазь, значно нижчий, ніж у тварин, яким профілактичне нанесення мазі не здійснювали. Вихідні показники кінцівок тварин досягаються через 6 годин для ширини і через 12 годин - для об'єму.

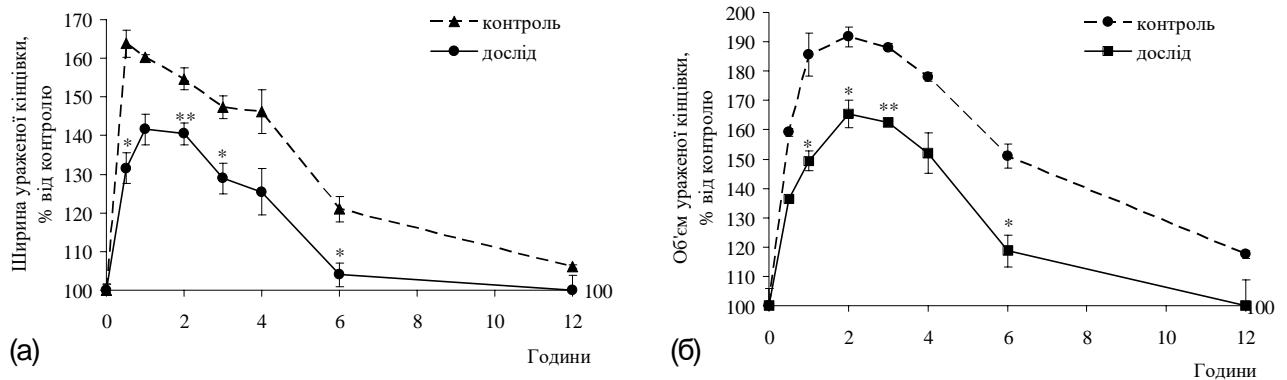
За весь час експерименту попереднє нанесення мазі призвело до зниження морфологічних показників ураженої кінцівки відносно значень контролю запалення в середньому на 18% та 27% за шириною та об'ємом відповідно.

Субплантарна ін'єкція трипсину (фізіологічного агоністу PAR-2) призводить до запалення через активацію рецептора протеїнази (PAR-2) та продукцію метаболітів циклооксигенази. Попереднє аплікування мазі з каротиноїдами дозволяє зменшити набряк, що свідчить про зниження запальних реакцій, викликаних введенням трипсину.

Утворення набряку при введенні каррагінану та трипсину відбувається також за участю активації С-волокна та ванілоїдного рецептора (TRPV1) [10], а отже, каротиноїди, потрапляючи до шкірних шарів, також можуть впливати на TRP канали та гальмувати больові відчуття тварин, що було встановлено протягом експерименту, коли тварини вставали на уражену кінцівку, на відміну



**Рис. 2.** Протизапальна дія мазі з каротиноїдами *Chadophora aegagropila* на моделі каррагінан-індукованого набряку за (а) - шириною та (б) - об'ємом ураженої кінцівки щурів, відсоток від вихідних показників кінцівок (M ± m, n=5; \*p<0,05, \*\*p<0,01 відносно контрольної групи запалення).



**Рис. 3.** Протизапальна дія мазі з каротиноїдами *Cladophora aegagropila* на моделі трипсин-індукованого набряку за (а) - шириною та (б) - об'ємом ураженої кінцівки щурів, відсоток від вихідних показників кінцівок ( $M \pm m$ ,  $n=5$ ; \* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$  відносно контрольної групи запалення).

від тварин, яким мазь не наносили.

Багатьма дослідженнями було встановлено, що каротиноїди є потужними антиоксидантами завдяки блокуванню окислювального стресу та впливу на кількість активних форм кисню [1, 3]. Частково механізм протизапальної активності каротиноїдами пов'язують саме з антиоксидантною дією, результатом якої є пригнічення вивільнення певних цитокінів запалення та нейтралізація вільних радикалів медіаторів запалення, які додатково індукують і підтримують процес запалення. Результати досліджень підтверджують захисну дію  $\beta$ -каротину та інших каротиноїдів через пригнічення запальних процесів, але їх механізм досі з'ясовується [4].

Для визначення анальгетичної активності мазі використовувались фармакологічні моделі больової реакції, що пов'язана з активацією відповідних TRP рецепторів. Оскільки каротиноїди здатні впливати на ванілоїдні рецептори як больове подразнення кінцівки, ми обрали гарячу пластину та розчин капсаїцину. TRPV1 є ноцицептивним катіонним каналом, який реагує на високу температуру та може бути активований природним агоністом - капсаїцином. Висока температура ( $>43\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) і капсаїцин активують сенсорику нервових закінчень та викликають нейрогенне запалення шляхом вивільнення певних нейропептидів [9]. Використання мазі дозво-

ляє зменшити больовий поріг, викликаний двома видами подразників (табл. 1).

Запропонована мазь в цих фармакологічних тестах поступається за анальгетичною дією мазі, яка містить референс-препарат анестезин, але також надає певну анальгетичну активність, підвищуючи латентний період прояву болю на гарячій поверхні в 3 рази відносно значень контролю, та зменшуючи час прояву больової реакції, яка викликана введенням капсаїцину, в 1,6 раза. Отже, анальгетичний ефект може бути частково пов'язаний із впливом каротиноїдів на TRPV1 та TRPV2 рецептори шкіри, які також здатні активуватись від застосування надзвичайно високих температур ( $>52\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) [6], але не можна виключати наявність інших механізмів реалізації анальгетичної дії каротиноїдів, що потребує подальших поглиблених досліджень.

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Отримані дані демонструють, що 2% мазь, яка містить каротиноїди *Cladophora aegagropila*, надає протизапальну активність як в умовах лікування, так і в умовах профілактики розвитку запальної реакції протягом всього часу експерименту.

2. Також було встановлено, що каротиноїди в складі м'якої лікарської форми надають певну анальгетичну дію, але вона поступається дії референс-препарату анестезину.

*Cladophora aegagropila* містить багатий комплекс біоактивних сполук. Каротиноїди є одним із найпоширеніших компонентів водоростей, які в складі мазі та інших лікарських формах є перспективними компонентами для подальшого вивчення спектру їхньої фармакологічної дії з використанням інших фармакологічних методів для більш детального вивчення механізму їхнього впливу на організм та кращої оцінки їхньої ефективності й безпеки, розробки рекомендацій щодо оптимальних доз для профілактики та лікування різних запальних захворювань з метою застосування в медицині.

**Таблиця 1.** Анальгетична активність мазі за тестом "гаряча пластина" та капсаїцинового подразнення.

№	Мазь	Гаряча пластина	Подразнення капсаїцином
		Латентний період больової реакції, с	Час прояву больової реакції, с
1	Контроль	4,2 $\pm$ 0,6	50,2 $\pm$ 1,1
2	Мазь з каротиноїдами, 2%	12,6 $\pm$ 0,7**	31,3 $\pm$ 1,0*
3	Мазь з анестезином, 2%	17,0 $\pm$ 0,8**	25,7 $\pm$ 0,7*

**Примітка.**  $M \pm m$ ,  $n=5$ ; \* $p<0,1$ ; \*\* $p<0,05$  відносно контрольної групи.

## Список посилань - References

- [1] Akifumi, K., Murakami, Y., Suzuki, S., & Fujisawa S-i. (2018). Anti-inflammatory Activity of  $\beta$ -Carotene, Lycopene and Tri-n-butylborane, a Scavenger of Reactive Oxygen Species. *In vivo*, 32(2), 255-264. doi:10.21873/invivo.11232
- [2] Aleksandrova, A., Nesterkina, M., Gvozdi, S., & Kravchenko, I. (2020). Phytochemical analysis and antiinflammatory activity of *Cladophora aegagropila* extract. *J Herbmед Pharmacol.*, 9(1), 81-85. doi: 10.15171/jhp.2020.12
- [3] Amaro, H. M., Barros, R., Tavares, T., Almeida, R., Pinto, I. S., Malcata, F. X., & Guedes, A. C. (2021). Gloeothecae sp. - Exploiting a New Source of Antioxidant, Anti-Inflammatory and Antitumor Agents. *Mar. Drugs*, 19(11), 623-641. doi: 10.3390/md19110623
- [4] Avila-Roman, J., Garcia-Gil, S., Rodriguez-Luna, A., Motilva, V., & Talero, E. (2021). Anti-Inflammatory and Anticancer Effects of Microalgal Carotenoids. *Mar. Drugs*, 19(10), 531-580. doi: 10.3390/md19100531
- [5] Bannon, A. W., & Malmberg, A. B. (2007). Models of Nociception: Hot-Plate, Tail-Flick, and Formalin Tests in Rodents. *Curr. Protoc. Neurosci.*, 8(1), Unit 8.9. doi: 10.1002/0471142301.ns0809s41
- [6] Caterina, M. J., & Pang, Z. (2016). TRP Channels in Skin Biology and Pathophysiology. *Pharmaceuticals* (Basel), 9(4), 77-105. doi: 10.3390/ph9040077
- [7] Furst, R., & Zundorf, I. (2014). Plant-derived anti-inflammatory compounds: hopes and disappointments regarding the translation of preclinical knowledge into clinical progress. *Mediators Inflamm*, 2014, 1-9. doi: 10.1155/2014/146832
- [8] Gorchakova, N. O., Chekman, I. S., & Zupanets, I. A. (2001). О. V. Stefanov (Ed.). *Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації [Preclinical studies of medicinal products: methodical recommendations]*. Київ: Авіцена - Kyiv: Avicenna.
- [9] Gouin, O., L'Herondelle, K., Lebonvallet, N., Le Gall-Ianotto, C., Sakka, M., Buhe, V., & Le Garrec, R. (2017). TRPV1 and TRPA1 in cutaneous neurogenic and chronic inflammation: pro-inflammatory response induced by their activation and their sensitization. *Protein Cell*, 8(9), 644-661. doi: 10.1007/s13238-017-0395-5
- [10] Horvath, G., Kemeny, A., Bartho, L., Molnar, P., Deli, J., Szente, L., ... & Helyes, Z. (2015). Effects of Some Natural Carotenoids on TRPA1- and TRPV1-Induced Neurogenic Inflammatory Processes In Vivo in the Mouse Skin. *J Mol Neurosci.*, 56, 113-121. <https://doi.org/10.1007/s12031-014-0472-7>
- [11] International documents (Council of Europe). (1986, March 18). Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей [European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Research or Other Scientific Purposes]. URL: [https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994\\_137#Text](https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137#Text)
- [12] Kanno, K. Y. F., Karp, S. G., Rodrigues, C., de Andrade Tanobe, V. O., Socol, C. R., & da Costa Cardoso, L. A. (2021). Influence of organic solvents in the extraction and purification of torularhodin from *Sporobolomyces ruberrimus*. *Biotechnol Lett*, 43(1), 89-98. doi: 10.1007/s10529-020-03023-8
- [13] Khan, I. A., Hussain, M., Hussain, N., Alqahtani, A. M., & Alqahtani, T. (2022). Cardioprotective Effect of *Rumex vesicarius* Linn. Leaf Extract against Catecholamine-Induced Cardiotoxicity. *Molecules*, (27), 3383-3402. <https://doi.org/10.3390/molecules27113383>
- [14] Kultys, E., & Kurek, M. A. (2022). Green Extraction of Carotenoids from Fruit and Vegetable Byproducts: A Review. *Molecules*, (27), 518-532. <https://doi.org/10.3390/molecules27020518>
- [15] Liao, W., Huang, L., Han, S., Hu, D., Xu, Y., Liu, M., ... & Li, P. (2022). Review of Medicinal Plants and Active Pharmaceutical Ingredients against Aquatic Pathogenic Viruses. *Viruses*, 14(6), 1281-1311. doi: 10.3390/v14061281
- [16] Minarchenko, V. M., & Butko, A. Yu. (2017). Дослідження вітчизняного ринку лікарських засобів рослинного походження [Research of the domestic market of medicinal products of herbal origin]. *Фармацевтичний журнал - Pharmaceutical journal*, (1), 30-36. ISSN 0367-3057
- [17] Nunes, C. D. R., Arantes, M. B., de Faria Pereira, S. M., da Cruz, L. L., de Souza Passos M., Pereira de Moraes, L., ... & Barros de Oliveira, D. (2020). Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. *Molecules*, 25(16), 3726-3748. doi: 10.3390/molecules25163726
- [18] Paszcuk, A. F., Quintao, N. L. M., Fernandes, E. S. & Calixto, J. B.. (2008). Mechanisms underlying the nociceptive and inflammatory responses induced by trypsin in the mouse paw. *European Journal of Pharmacology*, (581), 204-215. doi: 10.1016/j.ejphar.2007.11.025
- [19] Reznikov, O. G. (2003). Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Перший національний конгрес з біоетики [General ethical principles of animal experiments. First National Congress on Bioethics]. *Ендокринологія - Endocrinology*, 8(1), 142-145.
- [20] Rodriguez-Yoldi, M. J. (2021). Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties of Plant Extracts. *Antioxidants* (Basel), 10(6), 921-925. doi: 10.3390/antiox10060921
- [21] Saleba, L. V., Saribekova, D. G., Кунук, О. М., Saribekov, G. S., & Мукытенко, К. Е. (2016). Дослідження процесу екстрагування каротиноїдів [Study of the process of extraction of carotenoids]. *Вісник ХНТУ - KhNTU Bulletin*, 2(57), 178-182.
- [22] Sumikura, H., Andersen, O. K., Drewes, A. M., & Arendt-Nielsen, L. (2003). Spatial and temporal profiles of flare and hyperalgesia after intradermal capsaicin. *Pain*, (105), 285-291. doi: 10.1016/s0304-3959(03)00243-4
- [23] Verkhovna Rada of Ukraine (2006). Закон України № 3447-IV. "Про захист тварин від жорстокого поводження" [Law of Ukraine No. 3447-IV. "On the protection of animals from cruel treatment"]. Відомості Верховної Ради України. Офіц. вид. - Information of the Verkhovna Rada of Ukraine. officer ed., (27), 990.
- [24] Zhou, C., Liu, A., Liu, G., Yang, C., Zhou, Q., Li, H., ... & Si, H. (2022). Protective Effects of *Sophora tonkinensis* Gagnep. (Fabaceae) Radix et Rhizoma Water Extract on Carbon Tetrachloride-Induced Acute Liver Injury. *Molecules*, (27), 8650-8665. <https://doi.org/10.3390/molecules27248650>

## ANTI-INFLAMMATORY AND ANALGESIC EFFECT OF AN OINTMENT CONTAINING CAROTENOIDS OF THE HEXANE EXTRACT OF CLADOPHORA AEGAGROPILA

Aleksandrova O. I., Gritsuk A. I., Eberle L. V., Radaieva I. M., Ustianska O. V., Tsisak A. O.

**Annotation.** This article is dedicated to the study of the anti-inflammatory and analgesic effect of the ointment, which contains carotenoids from the hexane extract of the algae *Cladophora aegagropila*. Experiments were conducted on 10 white laboratory rats weighing 150-170 g for each type of inflammation. For carrageenan-induced inflammation, the first group of animals (5 rats) was injected with carrageenan solution and did not receive therapy; to the second group of animals (5 rats) ointment with carotenoids was applied to the affected limb within 3 days of the experiment after the introduction of the phlogogen solution. No ointment was used for

*trypsin-induced inflammation in the first group of animals (5 rats); the second group of animals (5 rats) had an ointment with carotenoids applied to the hind limb one hour before the trypsin solution was injected into it. The evaluation of treatment results was carried out on the basis of the dynamics of changes in morphological indicators - the width and volume of the affected limb. On the model of carrageenan-induced inflammation, parameters were measured daily for 6 days of the experiment; on the model of trypsin-induced inflammation - after 0.5, 1, 2, 3, 4, 6 and 12 hours after the introduction of the phlogogenic agent. The analgesic effect of the ointment was studied on models of a hot plate and chemical irritation of the limbs of white mice weighing 20-22 g, 5 heads in a group. The control group of animals did not have ointment applied to their limbs before the respective irritation, the second group of animals had 2% ointment with carotenoids applied to their limbs 20 minutes before the corresponding test, the third group of animals - 2% ointment with anesthesin. According to the "hot plate" test, the latency period of the animals' pain reaction was measured, according to the "capsaicin irritation" test, the time of the manifestation of the animals' pain reaction was measured. The results of the experiments were calculated using the Microsoft Excel software package using the values of the average arithmetic value (M) and the average deviation of the average arithmetic value (m); the reliability of the differences of the obtained data relative to the control values was calculated according to the Student's criterion. It was established that carotenoid ointment exhibits anti-inflammatory activity in the treatment of developed inflammation in the carrageenan-induced edema model, inhibiting the inflammation process of the rear limb of rats during the experiment by an average of 17% in width and 34% in volume of the affected limb compared to the parameters of untreated animals. The anti-inflammatory effect of the ointment is also observed in the prevention of inflammatory reactions, which was shown on the model of trypsin-induced edema: the decrease in morphological indicators is on average during the entire experiment by 18% in width and by 27% in volume of the affected limb compared to the indicators of untreated animals. It was found that the proposed ointment, although it is inferior to the effect of the ointment with the reference drug anesthesin, but also has an analgesic effect, increasing the latent period of the pain reaction by 3 times in the "hot plate" test and reducing the time of pain manifestation by 1.6 times in the test chemical irritation. Thus, the carotenoids of *Cladophora aegagropila* in the composition of the ointment have anti-inflammatory and analgesic properties, which is of interest in further studying their pharmacological action for the purpose of use in medicine.*

**Keywords:** *Cladophora aegagropila*, hexane extract, ointment, anti-inflammatory action, analgesic activity.

---