

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202491360** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2024.07.10

(22) Дата подачи заявки
2021.11.26

(51) Int. Cl. *A61K 8/60* (2006.01)
A61K 8/9789 (2017.01)
A61K 36/185 (2006.01)
A61Q 17/04 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)

(54) **КОМПОЗИЦИЯ, В ЧАСТНОСТИ КОСМЕТИЧЕСКИЙ СОСТАВ, ВКЛЮЧАЮЩИЙ
ЭКСТРАКТ ВЕРБАСКОЗИДА**

(86) PCT/EP2021/083201
(87) WO 2023/093998 2023.06.01
(71) Заявитель:
МЕДЕНА АГ (СН)

(72) Изобретатель:
**Майер Вольфганг (СН), Коркина
Людмила (IT)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Композиция, в частности косметический состав, включающий экстракт, содержащий вербаскозид и/или его производные, и/или его структурные аналоги, где экстракт получен из надземных частей растений, выбранных из группы, состоящей из кунжута индийского (*Sesamum indicum*), *Lippia citriodora*, *Haerberlea rhodopensis*, *Cistanche tubulosa*, *Syringa vulgaris*, *Aiuga reptans*, *Buddleija davidii*, *Verbena officinalis* и *Olea europaea*, или где экстракт получен из культур каллусных клеток указанных частей растений.

A1

202491360

202491360

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-581289EA/55

КОМПОЗИЦИЯ, В ЧАСТНОСТИ КОСМЕТИЧЕСКИЙ СОСТАВ, ВКЛЮЧАЮЩИЙ ЭКСТРАКТ ВЕРБАСКОЗИДА

Настоящее изобретение относится к композиции, в частности косметическому составу, содержащему экстракт, содержащий вербаскозид и/или его производные и/или его структурные аналоги. Изобретение также относится к применению такой композиции в качестве солнцезащитного средства для наружного применения против УФА и УФВ излучения. Кроме того, настоящее изобретение относится к способу получения экстракта, содержащего вербаскозид, его производные и/или его структурные аналоги.

Солнцезащитная косметика для наружного применения (солнцезащитные кремы до и после загара) интенсивно разрабатывается и производится для защиты кожи человека от повреждений/патологий, связанных с солнечным излучением. К сожалению, известные косметические средства для защиты от солнечных лучей, содержащие синтетические органические и/или физические солнцезащитные средства, могут оказывать неблагоприятное воздействие на организм человека и способствовать нежелательным экологическим изменениям.

Кожа человека имеет особый фотохимический барьер, целью которого является детоксикация/выведение низкомолекулярных веществ, модифицированных солнечным излучением.

Внешним фотохимическим барьером, с которым сталкивается радиация окружающей среды, являются поверхностные липиды кожи, защитная гидрофобная пленка, которая более часто встречается в подверженных наибольшему воздействию света участках кожи (*De Luca, C.; Valacchi, G. Surface lipids as multifunctional mediators of skin responses to environmental stimuli. Mediators Inflamm. 2010, 2010, 321494; doi:10.1155/2010/321494*). Липидный барьер представляет собой смесь эпидермальных липидов, происходящих: (а) из отшелушивающегося рогового слоя, состоящего в основном из фосфолипидов обломков кератиноцитов и продуктов их гидролиза, и (b) из липидов, триглицеридов, стероидов и липофильных витаминов (витамина Е и коэнзима Q10), вырабатываемых сальными железами. Липиды, синтезируемые в себоцитах, богаты высокоокисляемым тритерпеноидом скваленом, высоколипофильной молекулой, присутствующей исключительно на коже человека, которая рассматривается не только как водоизолирующий и смягчающий кожу фактор, но, что наиболее важно, как защитный антиоксидант (*De Luca, C.; Picardo, M.; Breathnach, A.; Passi, S. Lipoperoxidase activity of *Pityrosporum*: characterisation of by-products and possible role in Pityriasis versicolor. Exp. Dermatol. 1996, 5, 49-56; Ekanayake Mudiyanselage, S.; Hamburger, M.; Elsner, P.; Thiele, J.J. Ultraviolet A induces generation of squalene monohydroperoxide isomers in human sebum and skin surface lipids in vitro and in vivo. J. Invest. Dermatol. 2003, 120, 915-922*). Под воздействием УФ-излучения, после быстрого разрушения липофильных антиоксидантов, сквален остается основным защитником, защищающим ценные эпидермальные

ненасыщенные фосфолипидные фрагменты от окислительного повреждения, вызванного УФ-излучением и свободными радикалами. Было доказано, что короткоживущие гидрофильные низкомолекулярные продукты окисления сквалена, которые способны быстро диффундировать в жизнеспособные эпидермальные и дермальные слои, являются ранним сигналом, запускающим адаптивный иммунный ответ кожи на УФ-излучение (Picardo, M.; Mastrofrancesco, A.; Biro, T. *Sebaceous gland-a major player in skin homeostasis. Exp. Dermatol.* 2015, 24, 485-486) и метаболический ответ кожи на имитирующее солнечное излучение УФ-излучение (Kostyuk, V.; Potapovich, A.; Stancato, A.; De Luca, C.; Lulli, D.; Pastore, S.; Korkina, L. *Photo-oxidation products of skin surface squalene mediate metabolic and inflammatory responses to solar UV in human keratinocytes. PLoS One* 2012, 7, e44472; doi:10.1371/journal.pone.0044472). Поэтому скорость расщепления сквалена, витамина Е и коэнзима Q10 была предложена в качестве возможного параметра для измерения эффективности солнцезащитных составов (Auffray, B. *Protection against singlet oxygen, the main actor of sebum squalene peroxidation during sun exposure, using Commiphora myrrha essential oil. Int. J. Cosmetic Sci.* 2007, 29, 1, 23-29). Подавляющее большинство синтетических солнцезащитных кремов не относятся к классу широкодиапазонных УФ-протекторов, поскольку они могут поглощать либо только УФВ, либо только УФА диапазона (Фигура 1).

ОРГАНИЧЕСКИЕ (СИНТЕТИЧЕСКИЕ) ХИМИЧЕСКИЕ СОЛНЦЕЗАЩИТНЫЕ СРЕДСТВА В ОСНОВНОМ ПОГЛОЩАЮТ ЛИБО УФВ, ЛИБО УФА		
Mexoryl SX		УФА
Mexoryl XL	УФВ	УФА
Parsol SLX	УФВ	
Uvasorb НЕВ	УФВ	
Tinosorb М	УФВ	
Neoheliopan AP		УФА
Tinosorb S	УФВ	УФА
Uvinul A plus		УФА

Таблица 1. Современные синтетические органические солнцезащитные средства

Обычно для достижения оптимального состава солнцезащитных средств для местного применения, маркированных как продукты с высокой широкодиапазонной защитой от УФА и УФВ, комбинируют несколько синтетических молекул, имеющих природные полифенольные группы (производные бензойной или коричной кислот) (Wolf, R.; Wolf, D.; Morganti, P.; Ruocco, V. *Sunscreens. Clin. Dermatol.* 2001, 9, 452-459; *Commission recommendation of 22 September 2006 on the efficacy of sunscreen products and the claims made relating thereto. Official J. of the European Union* 2006, L.265, 39-43). Для соответствия требованиям регулирующих органов по заявленным значениям SPF-В и SPF-А, такие синтетические вещества следует добавлять в солнцезащитную косметику/лекарственные препараты в высоких концентрациях, от 10 до 25% (*Commission recommendation of 22 September 2006 on the efficacy of sunscreen products and the claims made relating thereto.*

Official J. of the European Union 2006, I.265, 39-43), что резко повышает риски возникновения побочных кожных реакций (воспаления, аллергии) на полиароматические синтетические соединения (*Korkina, L.G.; Pastore, S.; De Luca, C.; Kostyuk, V.A. Metabolism of plant polyphenols in the skin: beneficial versus deleterious effects. Curr. Drug Metab. 2008, 9, 710-729*) и может оказывать негативное воздействие на окружающую среду. Например, синтетические солнцезащитные кремы, нарушающие работу эндокринной системы, негативно влияют не только на человека, но и на водные и наземные организмы. Большой потенциальный перечень промышленных применений вторичных метаболитов растений обещает революционные солнцезащитные свойства с пониженной токсичностью и привлекательной экологической устойчивостью. Проблема фотостабильности солнцезащитных кремов уже давно привлекает пристальное внимание, поскольку она может серьезно повлиять на требуемую стойкую фотозащиту и рекомендации относительно частоты повторного применения. Предыдущие исследования показали, что синтетические солнцезащитные кремы теряют значительную часть своей защиты при воздействии УФ-излучения (*Maier, H.; Schauburger, G.; Brunnhofer, K.; Honigsmann, H. Change in ultraviolet absorbance of sunscreens by exposure to solar-simulated radiation. J. Invest. Dermatol. 2001, 117, 256-262; Marrot, L.; Belaidi, J.P.; Lejeune, F.; Maunier, J.R.; Asselineau, D.; Bernerd, F. Photostability of sunscreen products influences the efficiency of protection with regard to UV-induced genotoxic or photoageing-related endpoints. Br. J. Dermatol. 2004, 151, 1234-1244*). К сожалению, многие естественные фильтры УФА+УФВ на основе растительных экстрактов и масел растительного происхождения также могут подвергаться фоторазложению, главным образом, под воздействием солнечного излучения УФА диапазона (*Bianchi, A.; Marchetti, N.; Scalia, S. Photodegradation of (-)-epigallocatechin-3-gallate in topical cream formulations and its photostabilization. J. Pharm. Biomed. Anal. 2011, 56, 692-697; Kostyuk, V.; Potapovich, A.; Albuhaydar, A.R.; Mayer, W.; De Luca, C.; Korkina, L. Natural substances for prevention of skin photoageing: screening systems in the development of sunscreen and rejuvenation cosmetics. Rejuvenation Res. 2017, Epub ahead of print August 28; doi:10.1089/rej.2017.1931*). Органические (синтетические) и неорганические УФ-фильтры создают серьезные проблемы, связанные с их фотостабильностью *in vitro* и *in vivo* под воздействием УФ-излучения (*Maier, H.; Schauburger, G.; Brunnhofer, K.; Honigsmann, H. Change in ultraviolet absorbance of sunscreens by exposure to solar-simulated radiation. J. Invest. Dermatol. 2001, 117, 256-262; Marrot, L.; Belaidi, J.P.; Lejeune, F.; Maunier, J.R.; Asselineau, D.; Bernerd, F. Photostability of sunscreen products influences the efficiency of protection with regard to UV-induced genotoxic or photoageing-related endpoints. Br. J. Dermatol. 2004, 151, 1234-1244*), их равномерное распределение на коже (*Bianchi, A.; Marchetti, N.; Scalia, S. Photodegradation of (-)-epigallocatechin-3-gallate in topical cream formulations and its photostabilization. J. Pharm. Biomed. Anal. 2011, 56, 692-697; Lademann, J.; Rudolph, A.; Jacobi, U.; Weigmann, H.J.; Schaefer, H.; Sterry, W.; Meinke, M. Influence of nonhomogeneous distribution of topically applied UV filters on sun protection factors. J. Biomed. Opt. 2004, 9, 1358-1362; Sohn, M.; Heche, A.; Herzog, B.; Imanidis, G. Film thickness frequency*

distribution of different vehicles determines sunscreen efficacy. Biomed. Opt. 2014, 19, 115005; doi:10.1117/1.JBO.19.11.115005) и их достаточное накопление в роговом слое (Durand, L.; Habran, N.; Henschel, V.; Amighi, K. *In vitro evaluation of the cutaneous penetration of sprayable sunscreen emulsions with high concentrations of UV filters. Int. J. Cosmet. Sci. 2009, 31, 279-292*), избегая при этом их системного проникновения из-за широко распространенных опасений по поводу их токсичности (Freitas, J.V.; Praça, F.S.; Bentley, M.V.; Gaspar, L.R. *Trans-resveratrol and beta-carotene from sunscreens penetrate viable skin layers and reduce cutaneous penetration of UV-filters. Int. J. Pharm. 2015, 30, 131-137; Stiefel, C.; Schwack, W.; Nguyen, Y.-T. H. Photostability of Cosmetic UV Filters on Mammalian Skin Under UV Exposure. Photochem. Photobiol. 2015, 91, 84-91*). Несмотря на продолжающиеся интенсивные биологические исследования и технологические усовершенствования, до сих пор ни один полностью натуральный УФ-фильтр не был официально одобрен для рынка ЕС (Annex VI, Directive. EC-1223/2009). В случае обычных синтетических органических фильтров, многие из которых могут нарушать работу эндокринной системы, ингибирование их глубокого проникновения в дерму остается основной клинической целью. Это неотъемлемое свойство синтетических органических фильтров оказывает серьезное влияние на экологическую устойчивость из-за риска, связанного с высокой концентрацией химических УФ-фильтров, нарушающих работу эндокринной системы, в водной среде. Однако возникают опасения по поводу безопасности долгосрочного применения новых носителей и воздействия косметических микро- и наночастиц на окружающую среду (Baldisserotto, A.; Buso, P.; Radice, M.; Dissette, V.; Lampronti, I.; Gambari, R.; Manfredini, S.; Vertuani, S. *Moringa oleifera leaf extracts as multifunctional ingredients for "natural and organic" sunscreens and photoprotective preparations. Molecules 2018, 23(3). pii E664. doi: 10.3390/molecules23030664*).

В WO 2018/209449 предложено применение природных гликозилированных полифенолов, такие как вербаскозид, в качестве защитных средств от воздействия ультрафиолетового излучения. Эти известные средства включают гликозилированные полифенолы в концентрациях от 0,003% до приблизительно 6%. Вербаскозиды, содержащиеся в таких средствах, могут быть растительного происхождения. Растения, обычно используемые для получения вербаскозида, содержат очень небольшие количества вербаскозида. Вербаскозид и его аналоги обычно поглощают УФ-излучение в диапазоне длин волн от 290 до 400 нм (широкий диапазон УФВ и УФА солнечного спектра). Следовательно, их можно применять в качестве эффективных, экранирующих УФА-УФВ молекул. Вербаскозид и его аналоги могут защищать кожу от вредного воздействия УФВ и УФА излучения или подавлять кожные реакции на это излучение; например, они могут предотвращать/ингибировать образование свободных радикалов в коже, облученной УФВ и УФА, образование меланина, приводящее к загару кожи, стимуляцию матриксных металлопротеиназ (ММП), а также воспалительные и метаболические реакции в коже, которые приводят к преждевременному старению кожи от воздействия ультрафиолета.

Целью настоящего изобретения является создание композиции с улучшенными

свойствами в отношении поглощения УФВ и УФА, защиты кожи человека и экологической безопасности.

Данная задача решается с помощью композиции, включающей экстракт, содержащий вербаскозид и/или его производные, и/или его структурные аналоги, в частности теуполиозид и изовербаскозид, где экстракт получают из надземных частей растений, выбранных из группы, состоящей из кунжута индийского (*Sesamum indicum*), *Lippia citriodora*, *Haerberlea rhodopensis*, *Cistanche Tubulosa*, *Syringa vulgaris*, *Aiuga reptans*, *Buddleija davidii*, *Verbena officinalis* и *Olea europea*.

Предпочтительными структурными аналогами вербаскозида являются миконозид, эхинакозид, изовербаскозид, 2'-ацетилвербаскозид, цистанозид А, цистанозид С и тубулозид.

Неожиданно было обнаружено, что композиции, содержащие экстракты растений, перечисленных в пункте 1 формулы изобретения, обладают особенно улучшенными свойствами в отношении защиты кожи человека от солнечной радиации. Неожиданно было обнаружено, что эти растения содержат высокие концентрации вербаскозида. Из-за большого количества вербаскозида, содержащегося в этих растениях, не нужно добавлять дополнительные химические/неорганические солнцезащитные средства для достижения высокоэффективного поглощения УФА и УФВ. Особенно выгодные составы были неожиданно получены с использованием надземных частей растения кунжута.

Особенно предпочтительно содержание вербаскозида и/или его производных и/или его структурных аналогов составляет от 6,6 до 25 вес.%. При таком содержании вербаскозида в композиции согласно изобретению достигаются такие же солнцезащитные эффекты, что и при использовании обычных синтетических или физических солнцезащитных средств.

Солнечная энергия в виде ультрафиолетового излучения В и А диапазона больше не может реагировать с поверхностью кожи, поскольку вербаскозид и его аналоги эффективно поглощают широкодиапазонное УФВ и УФА излучение. Эффективно поглощая энергию УФВ и УФА, вербаскозид и его аналоги не разрушаются из-за высокой фотостабильности (солнцезащитная фотостабильность позволяет реже наносить на кожу солнцезащитные косметические средства). Солнцезащитная косметика, содержащая вербаскозид и его аналоги в качестве солнцезащитных средств, эффективно восстанавливает эндогенные антиоксиданты кожи (витамин Е, коэнзим Q10 и сквален), присутствующие в липидах на поверхности кожи (SSL), защищая тем самым естественный фотобарьер кожи. Такие солнцезащитные косметические средства безопасны для человека (отсутствие токсичности, фототоксичности и фотоаллергенности), водной и наземной среды.

Фенилэтаноид/фенилпропаноидные гликозиды представляют собой природные водорастворимые соединения. Структурно они характеризуются наличием групп коричной кислоты (С6-С3) и гидроксифенилэтильных (С6-С2) групп, которые присоединены к β-глюкопиранозе (апиозе, галактозе, рамнозе, ксилозе и т.д.) через гликозидную связь. В последние годы возрос интерес к ароматическим соединениям растительного

происхождения и, в частности, к фенилэтаноидным гликозидам из-за коллосально выросшего объема литературы, описывающей их очевидную роль при профилактике и лечении различных заболеваний и нарушений человека.

Вербаскозид (син. актеозид, кусагинин, оробанхин) представляет собой кофеил-фенилэтаноидный гликозид, в котором фенилпропаноидная кофейная кислота и фенилэтаноидный гидрокситирозол соединены сложноэфирной связью. Другая эфирная связь соединяет их с рамнозой и глюкозой (дисахаридом). Образующаяся молекула имеет химическое название β -(3',4'-дигидроксифенил)этил-О- α -L-рамнопиранозил(1 \rightarrow 3)- β -D-(4-О-кофеил)-глюкопиранозид и традиционное название вербаскозид (рекомендуется использовать вместо син. актеозида, кусагинина, оробанчина) (Alipieva et al., 2014). Химическая структура вербаскозида показана на Фигуре 1.

Предпочтительно композиция согласно изобретению содержит по меньшей мере одно соединение, выбранное из группы, состоящей из аминокислот, жирных кислот, полисахаридов, стероидов, витаминов, минералов и фитохимических соединений.

Обычно композиция согласно изобретению имеет форму крема, жидкой эмульсии или прозрачного лосьона, или сыворотки, или спрея. Предпочтительно композиция согласно изобретению характеризуется SPF *in vitro*, равным или больше 20. Предпочтительно композиция согласно изобретению демонстрирует SPF-B от 20 до 50+. Экстракт композиции согласно изобретению подвергают качественному анализу с помощью УФ-вид спектроскопии, высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) или их комбинации с использованием коммерческих стандартов вербаскозида, изовербаскозида и теуполиозида. Предпочтительно вербаскозид заключен в липосомы, липогели, гидрогели, наночастицы или любой другой внутрикожный носитель. Проникновение через кожу и трансдермальную доставку вербаскозида можно существенно увеличить путем его включения в липосомы или липогели. В качестве преимущества композиция согласно изобретению характеризуется водостойкостью и адгезией к поверхности кожи.

Настоящее изобретение дополнительно относится к композиции согласно изобретению в качестве солнцезащитного крема для наружного применения против УФА и УФВ излучения.

Настоящее изобретение также относится к способу получения экстракта, включающего вербаскозид, его производные и/или его структурные аналоги, такие как теуполиозид, изовербаскозид, 2'-ацилвербаскозид, эхинакозид, миконозид, тубулозид С, цистанозид А и цистанозид С, где способ включает следующие этапы:

а) отбор по меньшей мере одной надземной части или культуры каллусных клеток растения, выбранного из группы, состоящей из растения кунжута индийского (*Sesamum indicum*), *Lippia citriodora*, *Haerberlea rhodopensis*, *Cistanche Tubulosa*, *Syringa vulgaris*, *Aiuga Reptens*, *Buddleija davidii*, *Verbena officinalis*, и *Olea europea*;

б) экстракцию вербаскозида, его производных и/или его структурных аналогов, присутствующих в части растения, с помощью метода, выбранного из группы, состоящей

из промывки, отварки, мацерации, гомогенизации, перколяции и их любой комбинации;

с) отделение основной жидкой фазы, которая включает экстрагированные соединения, от твердых частиц размером больше чем приблизительно 2 мм путем естественного осаждения, фильтрации, центрифугирования или их комбинации;

d) осветление жидкой фазы, полученной на этапе с); и

e) концентрирование осветленной жидкой фазы.

Предпочтительно способ согласно изобретению включает дополнительный этап предварительной обработки части наземного растения перед этапом экстракции b), где предварительная обработка включает сушку наземной части растения до содержания влаги менее 80-60% и/или измельчение неиспользуемой части растительности до размера меньше 5 см.

Кроме того, стадию экстракции способа согласно изобретению проводят в воде или в смеси растворителя/воды, где растворитель выбран из группы, состоящей из метанола, этанола, ацетона и этилацетата.

Стадию экстракции способа согласно изобретению предпочтительно проводят при температуре от 25°C до 90°C, где стадию экстракции предпочтительно проводят в течение 20-60 минут, где стадию экстракции предпочтительно проводят в условиях непрерывного перемешивания на магнитной мешалке или на вортексе.

Предпочтительно твердые вещества, выделенные на стадии с) способа согласно изобретению, подвергают второй экстракции в тех же условиях, что и условия экстракции, проводимой на стадии b), где вторичную жидкую фазу отделяют от твердой фазы с частицами размером больше 2 мм, и где вторичную жидкую фазу смешивают с полученной ранее основной жидкой фазой.

Предпочтительно способ согласно изобретению включает дополнительную стадию f), в которой концентрированную жидкость со стадии e) превращают в порошок методом распылительной сушки.

Предпочтительно наземные части растений представляют собой растительные отходы, полученные в результате промышленного производства пищевых продуктов растительного происхождения, таких как кунжутное масло, оливковое масло или кунжутные отруби.

Фигуры:

Фиг. 1: Химическая структура вербаскозида

Фиг. 2: Репрезентативные спектры поглощения водных растворов *Haberlea rhodopensis*, содержащих миконозид

Фиг. 3: Репрезентативные спектры поглощения водного *Haberlea rhodopensis* с 0,001% миконозида без или после 2 мин, 10 мин, 20 мин и 40 мин УФ облучения

Фиг. 4: Репрезентативные спектры поглощения экстракта *Cistanche tubulosa*

Фиг. 5: Репрезентативные спектры поглощения 0,002% водных растворов экстрактов *Cistanche tubulosa* без и после 40 мин УФ облучения

Фиг. 6: Репрезентативные спектры поглощения водных растворов *Lippia citriodora*,

содержащих 40% вербаскозида

Фиг. 7: Репрезентативные спектры поглощения 0,002% водных растворов экстрактов *Lippia citriodora* без и после 5, 10 20 и 40 мин УФ облучения

Фиг. 8: Спектр поглощения 0,01% водо/спиртовых экстрактов различных растительных материалов (интенсивное перемешивание на вортексе в течение 20 мин)

Фиг. 9: Спектр поглощения 0,02% экстрактов листьев *Sesamum indicum* в воде или этаноле и 0,01% экстракта в водо/этанольной смеси, подвергнутого разному времени экстракции

Фиг. 10: Спектр поглощения 0,02% экстрактов листьев *Olea europaea* в воде или этаноле и 0,01% экстракта в водо/этанольной смеси, подвергнутого разному времени экстракции

Фиг. 11: Спектр поглощения 0,02% экстрактов пюре плодов *Olea europaea* в воде или этаноле и 0,01% экстракта в водо/этанольной смеси, подвергнутого разному времени экстракции

Фиг. 12: Зависимость значений солнцезащитного фактора (SPF) с начальным количеством измельченных листьев кунжута

Фиг. 13: Спектр поглощения 0,001% растворов жидких солнцезащитных средств

Фиг. 14: Дозозависимая кривая значений SPF

Фиг. 15: Дозозависимая кривая значений SPF-B

Фиг. 16: Дозозависимая кривая значений SPF-B

Фиг. 17: Спектр поглощения 0,001% растворов порошковых солнцезащитных средств

Фиг. 18: Дозозависимая кривая значений SPF-B

Фиг. 19: Дозозависимая кривая значений SPF-B

Фиг. 20: Дозозависимая кривая значений SPF-B

Фиг. 21: Спектр поглощения 0,0005% растворов бис-этилгексилоксибензол-метоксибензилтриамина в гептане

Фиг. 22: Дозозависимая кривая значений SPF-B

Фиг. 23: Репрезентативные спектры поглощения водных растворов химических веществ без и после 40 мин УФ облучения.

Фиг. 24: УФ-вид спектры поглощения водо/этанольного (1:1 вес/вес) раствора образцов (0,5 мг/мл)

Фиг. 25: Репрезентативные спектры поглощения (0,5 мг/мл) водо/спиртовых растворов Лосьона с SPF 30 (А), Лосьона с SPF 50 (В) и Крема с SPF 50 (С) без (0 минут) и после 40 мин УФ облучения

Фиг. 26: Репрезентативные спектры поглощения лосьонов, содержащих смеси вербаскозид- и миконозид-содержащих экстрактов в концентрациях 5%/5% (первая/верхняя линия), 4%/4% (вторая линия), 3,5%/3,5% (третья линия) и 2%/2% (четвертая/нижняя линия). Лосьоны разбавляли в 2500 раз растворами спирта:воды (4:1 вес/вес) для спектрофотометрии

Фиг. 27: Анализ ВЭЖХ экстракта *Cistanche tubulosa***Примеры**

Пять примеров композиций согласно изобретению представлены в таблицах ниже.

Пример 1

Название INCI/СТФА	%
ВОДА	64,22800000
МАСЛО GLYCINE SOJA/[GLYCINE SOJA (соевое) масло]	13,50000000
ВЕРБАСКОЗИД	12,00000000
ГЛИЦЕРИЛРОЗИНАТ	3,80000000
ГЛИЦЕРИЛ СТЕАРАТ ЦИТРАТ	2,00000000
ЦЕТЕАРИЛОВЫЙ СПИРТ	1,00000000
ЦЕТИЛОВЫЙ СПИРТ	0,90000000
КСАНТАНОВАЯ КАМЕДЬ	0,70000000
НАТРИЯ СТЕАРОИЛГЛУТАМАТ	0,50000000
ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA CAPRIFOLIUM/[ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA CAPRIFOLIUM (ЖИМОЛОСТИ ДУШИСТОЙ)]	0,45000000
ТОКОФЕРОЛ	0,40000000
ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA JAPONICA/[LONICERA JAPONICA (ЖИМОЛОСТЬ ЯПОНСКАЯ)ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ]	0,20000000
ДИНАТРИЯ ФОСФАТ	0,10000000
ТЕТРАНАТРИЯ ГЛУТАМАТ ДИАЦЕТАТ	0,09800000
ЦЕЛЛЮЛОЗА	0,08000000
НАТРИЯ СУЛЬФАТ	0,04000000
НАТРИЯ ГИДРОКСИД	0,00400000
Всего	100,0

Пример 2

Название INCI/СТФА	%
ВОДА	51,67300000
МАСЛО GLYCINE SOJA/[GLYCINE SOJA (СОЕВОЕ) МАСЛО]	12,00000000
ВЕРБАСКОЗИД	12,00000000
ЦЕТЕАРИЛОВЫЙ СПИРТ	6,20000000
ГЛИЦЕРИЛСТЕАРАТ	4,00000000
АЛКАНЫ КОКОСОВОГО МАСЛА	3,65000000
МАСЛО BUTYROSPERMUM PARKII/[BUTYROSPERMUM PARKII (МАСЛО ШИ)]	3,00000000
ГЛИЦЕРИН	3,00000000
КОКО-КАПРИЛАТ/КАПРАТ	1,25000000
ЦЕТЕАРИЛГЛЮКОЗИД	0,80000000
НАТРИЯ СТЕАРОИЛГЛУТАМАТ	0,50000000
ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA CAPRIFOLIUM/[ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA CAPRIFOLIUM (ЖИМОЛОСТИ ДУШИСТОЙ)]	0,45000000
ТОКОФЕРОЛ	0,40000000
ПАНТЕНОЛ	0,37500000

КСАНТАНОВАЯ КАМЕДЬ	0,30000000
ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA JAPONICA/[ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA JAPONICA (ЖИМОЛОСТИ ЯПОНСКОЙ)]	0,20000000
СОПОЛИМЕР ДИЛИНОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ/ПРОПАНДИОЛа	0,10000000
ТЕТРАНАТРИЯ ГЛУТАМАТ ДИАЦЕТАТ	0,09800000
НАТРИЯ ГИДРОКСИД	0,00400000
Всего	100,0

Пример 3

Название INCI/CTFA	%
ВОДА	56,97300000
МАСЛО GLYCINE SOJA/[GLYCINE SOJA (СОЕВОЕ) МАСЛО]	12,00000000
ВЕРБАСКОЗИД	6,70000000
ГЛИЦЕРИЛСТЕАРАТ	4,00000000
АЛКАНЫ КОКОСОВОГО МАСЛА	3,65000000
ЦЕТЕАРИЛОВЫЙ СПИРТ	3,20000000
BUTYROSPERMUM PARKII МАСЛО/[BUTYROSPERMUM PARKII (МАСЛО ШИ)]	3,00000000
ГЛИЦЕРИН	3,00000000
МАСЛО СЕМЯН ТНЕОВРОМА САСАО/[МАСЛО СЕМЯН ТНЕОВРОМА САСАО (КАКАО)]	3,00000000
КОКО-КАПРИЛАТ/КАПРАТ	1,25000000
ЦЕТЕАРИЛОВЫЙ ГЛЮКОЗИД	0,80000000
НАТРИЯ СТЕАРОИЛГЛУТАМАТ	0,50000000
ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA CAPRIFOLIUM/[ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA CAPRIFOLIUM (ЖИМОЛОСТИ ДУШИСТОЙ)]	0,45000000
ТОКОФЕРОЛ	0,40000000
ПАНТЕНОЛ	0,37500000
КСАНТАНОВАЯ КАМЕДЬ	0,30000000
ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA JAPONICA /[LONICERA JAPONICA (ЖИМОЛОСТИ ЯПОНСКОЙ)]	0,20000000
ДИЛИНОЛЕВАЯ КИСЛОТА/ПРОПАНДИОЛ СОПОЛИМЕР	0,10000000
ТЕТРАНАТРИЯ ГЛУТАМАТ ДИАЦЕТАТ	0,09800000
НАТРИЯ ГИДРОКСИД	0,00400000
Всего	100,0

Пример 4

Название INCI/CTFA	%
ВОДА	68,59300000
МАСЛО GLYCINE SOJA/[GLYCINE SOJA (СОЕВОЕ) МАСЛО]	11,00000000
ВЕРБАСКОЗИД	6,70000000
ГЛИЦЕРИЛ РОЗИНАТ	3,80000000
КОКО-КАПРИЛАТ	3,00000000
ГЛИЦЕРИЛСТЕАРАТ ЦИТРАТ	2,00000000
ЦЕТЕАРИЛОВЫЙ СПИРТ	1,50000000

ЦЕТИЛОВЫЙ СПИРТ	1,00000000
КСАНТАНОВАЯ КАМЕДЬ	0,70000000
НАТРИЯ СТЕАРОИЛГЛУТАМАТ	0,50000000
ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA CAPRIFOLIUM/[ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA CAPRIFOLIUM (ЖИМОЛОСТИ ДУШИСТОЙ)]	0,45000000
ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA JAPONICA/[ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA JAPONICA (ЖИМОЛОСТИ ЯПОНСКОЙ)]	0,20000000
ЛЕЦИТИН	0,10500000
ДИНАТРИЯ ФОСФАТ	0,10000000
ТЕТРАНАТРИЯ ГЛУТАМАТ ДИАЦЕТАТ	0,09800000
ЛИМОННАЯ КИСЛОТА	0,08500000
ЦЕЛЛЮЛОЗА	0,08000000
НАТРИЯ СУЛЬФАТ	0,04000000
АСКОРБИЛПАЛЬМИТАТ	0,03750000
ТОКОФЕРОЛ	0,00750000
НАТРИЯ ГИДРОКСИД	0,00400000
Всего	100,0

Пример 5

Название INCI/СТФА	%
ВОДА	64,72800000
МАСЛО GLYCINE SOJA/[GLYCINE SOJA (СОЕВОЕ) МАСЛО]	13,00000000
ГЛИЦЕРИЛСТЕАРАТ	5,00000000
ЭКСТРАКТ КАЛЛУСА HABERLEA RHODOPENISIS	4,00000000
ЭКСТРАКТ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ ЛИСТЬЕВ SYRINGA VULGARIS	4,00000000
ГЛИЦЕРИЛРОЗИНАТ	3,80000000
ГЛИЦЕРИЛСТЕАРАТ ЦИТРАТ	2,00000000
ЦЕТИЛОВЫЙ СПИРТ	0,90000000
КСАНТАНОВАЯ КАМЕДЬ	0,70000000
НАТРИЯ СТЕАРОИЛГЛУТАМАТ	0,50000000
ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA CAPRIFOLIUM/[ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA CAPRIFOLIUM (ЖИМОЛОСТИ ДУШИСТОЙ)]	0,45000000
ТОКОФЕРОЛ	0,40000000
ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA JAPONICA/[ЭКСТРАКТ ЦВЕТКОВ LONICERA JAPONICA (ЖИМОЛОСТИ ЯПОНСКОЙ)]	0,20000000
ДИНАТРИЯ ФОСФАТ	0,10000000
ТЕТРАНАТРИЯ ГЛУТАМАТ ДИАЦЕТАТ	0,09800000
ЦЕЛЛЮЛОЗА	0,08000000
НАТРИЯ СУЛЬФАТ	0,04000000
НАТРИЯ ГИДРОКСИД	0,00400000
Всего	100,0

Примеры экстрактов согласно изобретению и известных химических солнцезащитных средств:

А. Водо/спиртовые экстракты культур клеток *Haberlea rhodopenisis*,

содержащих 36% миконозида в качестве широкодиапазонных УФВ+УФА протекторов с высокой светостойкостью и низкой цитотоксичностью

Габерлея *Haberlea rhodopensis* Friv. (Порядок: Ясноткоцветные; Семейство: Геснериевые) - редкое эндемическое и доледниковое реликтовое растение, растущее на Балканском полуострове, в основном в Родопских горах в Болгарии и Греции. *H. rhodopensis* является цветущим растением, которое очень устойчиво к высыханию при замораживании и ветре. *H. rhodopensis* называют воскресающим растением, потому что она может восстанавливаться при регидратации даже после длительных периодов (сотни лет) полного обезвоживания. Листья *H. rhodopensis* использовались в народной медицине в качестве противовоспалительного лекарственного средства и для ускорения заживления ран. Чай из листьев и цветов *H. rhodopensis* обычно используется в стимулирующих, омолаживающих и восстановительных целях. Водо/спиртовые экстракты надземных частей растений и культур растительных клеток *H. rhodopensis* улучшают эластичность кожи.

Основными биологически активными молекулами, обнаруженными в *H. rhodopensis*, являются фенилэтаноидные гликозиды миконозид, пауцифлорозид и вербаскозид. Миконозид [β -(3,4-дигидроксифенил)-этил-3,6-ди-О- β -D-апифуранозил-4-О- α , β -дигидрокафеоил-О- β -D-глюкопиранозид] состоит из 3,4-дигидроксифенильной группы, присоединенной к основному сахару глюкозы, дигидрокофеоильной структуры, соединенной с положением С-4 глюкозы, и двух β -апиозильных групп, соединенных с положениями С-3 и С-6 глюкозы. Содержание миконозидов в надземных частях *H. rhodopensis* может достигать 88,8% от всех полифенольных вторичных метаболитов. В абсолютных значениях содержание миконозида в дикорастущем растении составляет приблизительно 6,5 мг/г сухого веса, тогда как его количество в культивируемых *in vitro* растительных клетках может достигать 84-87 мг/г сухого веса (*Amirova, K.M. et al. Biotechnologically-produced myconoside and calceolarioside E induce Nrf2 expression in neutrophils. Int J Mol Sci 2021, 22(4), 1759*). Химическая структура миконозида аналогична вербаскозиду (см. Фигуру 1 и Таблицу 2 подраздела *Cistanche Tubulosa*). В положениях R2 и R5 молекулы миконозида присутствуют 2 D-апифуранозильных остатка сахара.

Цель исследования заключалась в определении, обладает ли водоспиртовой экстракт культуры клеток *H. rhodopensis*, содержащий 36% вербаскозида, природными SPF-B и SPF-A, сравнимыми с SPF синтетических солнцезащитных средств, широко используемых в солнцезащитной косметике, при использовании спектрофотометрических методов *in vitro* для предсказания результатов исследований с участием человека *in vivo*, соответствующих требованиям Комиссии ЕС по солнцезащитной косметике (COLIPA) (*Matts PJ, et al. COLIPA in vitro UVA method: a standard and reproducible measure of sunscreen UVA protection. Int J Cosmet Sci 2010, 32(1); 35-46; COLIPA (European Cosmetics Association) method for the in vitro determination of UVA protection provided by sunscreen products (2009)*).

Подготовка образцов для спектрофотометрии:

Культуры клеток *H. rhodopensis in vitro*, полученные из листьев растений, выращивали на питательной среде для растений в соответствии с описанным методом

(Amirova, K.M. et al. *Biotechnologically-produced myconoside and calceolarioside E induce Nrf2 expression in neutrophils. Int J Mol Sci* 2021, 22(4), 1759) и субкультивировали каждые 2 месяца. Двухмесячные культуры клеток *H. rhodopensis in vitro* лиофилизировали и экстрагировали 50% водным этанолом при обработке ультразвуком в течение 20 минут при комнатной температуре. Экстракты фильтровали, концентрировали в вакууме при 40°C, лиофилизировали до сухого состояния и хранили при -20°C до использования. Содержание миконозида определяли с помощью ВЭЖХ, используя коммерческий миконозид в качестве стандарта.

Образец экстракта *H. rhodopensis* (36% миконозида), полученного предложенным способом, разбавляли дистиллированной водой с получением 1%, 2,5%, 5,0%, 7,5%, 10% и 20% растворов.

Спектрофотометрия образцов:

Каждый образец (1 мл) помещали в кварцевую 1 см кювету. Оптическую плотность измеряли при 250-600 нм с шагом 1 нм при использовании УФ/вид спектрофотометра Varian (Cary 50 Scan). Для каждого образца измеряли и вычисляли следующие параметры при условии стандартного нанесения на кожу - 2 мг/см²:

- значения SPF
- критическая длина волны λ_c
- соотношение УФА/УФВ

1. Определение значений SPF водных растворов *Haberlea rhodopensis*.

Серию водных растворов экстрактов *Haberlea rhodopensis* с концентрацией миконозида от 0,001 до 0,004% приготавливали в двойной повторности и регистрировали спектры поглощения в УФ-видимой области при 250-600 нм (**Фиг. 2**). Из этих спектров пропускание солнцезащитного средства (Т) определяли по значениям монохроматического поглощения на длине волны λ : $T=10^{-A(\lambda)}$.

В водных растворах *Haberlea rhodopensis* с основным фенилпропаноидным гликозидом - миконозидом при 282 нм и 328-330 нм выделяются два пика, амплитуды которых линейно зависят от концентрации миконозида.

Значения SPF водных растворов *Haberlea rhodopensis* с определенными концентрациями миконозида вычисляли с использованием уравнения Eq 1 для двух условий нанесения: раствор, наносимый в количестве 2 мг/см² (стандартное нанесение) и 10 мг/см². Расчетные данные (среднее значение±стандартное отклонение) показаны в **Таблице 2**. В той же **Таблице 2** показаны критическая длина волны и отношения УФА/УФВ.

Номер	Количество миконозида в водных растворах <i>Haberlea rhod.</i>	Значения SPF		Критическая длина волны (λ_c)	УФА/УФВ
		2 мг/см ²	10 мг/см ²		
1	0,05%	1,03	1,14	371 нм	0,58
2	0,1%	1,06	1,32	372 нм	0,58
3	0,2%	1,11	1,71	372 нм	0,58
4	0,25%	1,12	1,75	371 нм	0,58

5	0,5%	1,25	3,0	371 нм	0,57
6	1,0%	1,6	10,8	372 нм	0,58
7	2,5%	3,0	119	371 нм	0,57
8	5,0%	11	974	371 нм	0,57
9	7,5%	27	ND	371 нм	0,57
10	10,0%	60	ND	371 нм	0,57

Таблица 2. Значения SPF, критической длины волны (λ_c) и отношения УФА/УФВ для водных растворов *Haberlea rhodopensis* с определенными концентрациями миконозида

Критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ также были вычислены на основе спектров поглощения и сведены в **Таблице 2**. По данным Boots the Chemist Ltd, низкая защита от УФА соответствует соотношению УФА/УФВ $<0,2$ (0 звезд по системе UVA Star Rating), средняя защита соответствует отношению 0,21-0,40 (1 звезда по системе UVA Star Rating), хорошая защита соответствует отношению 0,41-0,6 (2 звезды по системе UVA Star Rating), превосходная защита соответствует отношению 0,61-0,8 (3 звезды по системе UVA Star Rating) и максимальная защита достигается при отношении $>0,8$ (4 звезды по системе UVA Star Rating). Согласно этим международным показателям водные растворы *Haberlea rhodopensis* с различной концентрацией миконозида можно отнести к группе хорошей защиты (2 звезды UVA Star Rating).

2. Фотостабильность водных растворов *Haberlea rhodopensis* с миконозидом под действием УФ-облучения, имитирующего солнечный свет, в течение 2-40 минут

В этих экспериментах спектры поглощения в УФ-видимой области водного раствора *Haberlea rhodopensis* с 0,001% миконозида регистрировали при 250-450 нм без или после от 2 до 40 минут УФ-облучения (**Фиг. 3**). Суммарная доза составила 4,8 (УФВ 1,6+УФА 3,2) Дж/см². Было обнаружено, что растворы не разрушались под действием (УФА+УФВ) света. УФ-облучение не влияло на значения SPF растворов, и спектры поглощения даже после 40 мин облучения не изменились (**Фиг. 3**).

Выводы:

1. Защита от УФВ-излучения достигала SPF 11 при 5% миконозида, SPF 27 при 7,5% миконозида и SPF 60 при 10,0% миконозида из расчета нанесения 2 мг/см². Когда плотность нанесения была увеличена до 10 мг/см², значения SPF резко увеличились.

2. Защита от УФА-излучения, оцениваемая по отношению УФА/УФВ и критической длине волны, соответствует хорошей защите от УФА с 2 звездами UVA Star Rating (в соответствии с международными стандартами) для всего диапазона изученных концентраций миконозида (0,05%-10%) и оценке по критической длине волны (>370 нм)

3. Фотостабильность водных растворов экстрактов *Haberlea rhodopensis* с 0,001% миконозида как уникального природного фотозащитного фактора была очень высокой, поскольку миконозид не разрушался при интенсивном УФВ+УФА-облучении, имитирующем солнечный свет, в течение по меньшей мере 40 минут. Поэтому применение солнцезащитных средств, содержащих миконозид, не нужно повторять очень часто.

В. Водные и водо/спиртовые экстракты *Cistanche tubulosa* в качестве

широкодиапазонных УФВ+УФА протекторов с высокой фотостабильностью и низкой фотоцитотоксичностью

Циستانхе трубчатая *Cistanche tubulosa* (Schenk) R. Wight - растение, паразитирующее на корнях тамарикса. Она растет, поглощая питательные вещества из растений, на которых растет. Относится к *Cistanche*, *Orobanchaceae*. Циستانхе трубчатая растет в пустыне Такла-Макан в Синьцзян-Уйгурском автономном районе, Китай. Она обладает сильной способностью цвести и плодоносить в суровых условиях пустыни.

В Китае *Cistanche tubulosa* известна как редкий Panax женьшень, встречающийся в пустынях и используемый в качестве фармацевтического препарата для лечения болезни Альцгеймера. А в Японии *Cistanche Tubulosa* употребляют в пищу.

Согласно Китайскому полному фармацевтическому словарю, *Cistanche tubulosa* улучшает функцию почек, увеличивает половую силу и разглаживает кишечник. В Словаре также описано, что она лечит импотенцию, бесплодие, нарушения менструального цикла и боли в спине и коленях. Недавние исследования показали, что водозатанольный экстракт *Cistanche tubulosa*, вводимый перорально экспериментальным животным, оказывает антивозрастное действие на кожу и мозг, предотвращает возрастную утомляемость, ускоряет жировой обмен и укрепляет иммунную систему.

Основными активными компонентами (вторичными растительными метаболитами) *Cistanche tubulosa* являются фенилпропаноид/фенилэтаноидные гликозиды, в особенности вербаскозид и его близкие аналоги, такие как эхинакозид, изовербаскозид, 2'-ацетилвербаскозид, цистанозид А, цистанозид С и тубулозид А. Суммарно они составляют более 93% всех полифенольных вторичных метаболитов *Cistanche tubulosa*. Небольшие различия в их химической структуре представлены в **Таблице 3**.

Соединение	R1	R2	R3	R4	R5
Вербаскозид	H	Rha	Cf	H	OH
2'-ацетилвербаскозид	Ac	Rha	Cf	H	OH
Изовербаскозид	H	Rha	H	Cf	OH
Эхинакозид	H	Rha	Cf	Glc	OH
Цистанозид А	H	Rha	Cf	Glc	OMe
Цистанозид С	H	Rha	Cf	H	OMe
Тубулозид А	Ac	Rha	Cf	Glc	OH

Таблица 3: Химическая структура фенилпропаноидных гликозидов, обнаруженных в *Cistanche tubulosa*

R1-R5 - заменители в химической структуре вербаскозида. Сокращения: Ac - ацетил; Glc - β-D-глюкопираноза; Cf - транс-кофеил; и Rha - α-L-рамнопираноза.

Изовербаскозид является оптическим изомером вербаскозида.

ВЭЖХ-анализ экстракта *Cistanche tubulosa*, полученного предложенным способом, показал, что содержание вербаскозида (**Vb**) составило 50,3%, эхинакозида (**Ech**) - 7,3%, изовербаскозида (**Ivb**) - 18,9% и содержание 2'-ацетилвербаскозида (**Avb**) составило 4,5%

Цель исследования состояла в определении, обладает ли водоспиртовой экстракт

Cistanche tubulosa, содержащий 50% вербаскозида, природными SPF-B и SPF-A, сравнимыми с SPF синтетических солнцезащитных средств, широко используемых в солнцезащитной косметике, при использовании спектрофотометрических методов *in vitro* для прогнозирования результатов. Исследования с участием человека *in vivo* соответствуют требованиям Комиссии ЕС по солнцезащитной косметике (COLIPA).

Подготовка образцов для спектрофотометрии:

Образец экстракта *Cistanche tubulosa* объемом 100 мкл (0,1 мл) растворяли в 20 мл дистиллированной воды с получением 5 мкл/мл экстракта/воды или 5 мг/мл. Образец (1 мл) смеси *Cistanche tubulosa* после 1-го разведения (5 мкл/мл экстракта/воды) смешивали с 19 мл дистиллированной воды с получением раствора, содержащего 0,25 мг/мл экстракта *Cistanche tubulosa*.

Спектрофотометрия образцов:

Каждый образец (1 мл) помещали в кварцевую 1 см кювету. Оптическую плотность измеряли при 250-600 нм с шагом 1 нм при использовании УФ/вид спектрофотометра Varian (Cary 50 Scan). Для каждого образца были измерены и вычислены следующие параметры при стандартном нанесении на кожу - 2 мг/см²:

- значения SPF
- критическая длина волны λ_c
- отношение УФА/УФВ

Значения SPF *in vitro* вычисляли в соответствии с методом, описанным Sayre et al. (Sayre, RM; Agin, PP; LeVee, GJ; Marlowe, E. *A comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreens formulas*, *Photochem. Photobiol.* 1979, 29, 559-566). Вычисление производили по Уравнению 1:

$$SPF = \frac{\sum_{290}^{400} Ser(\lambda) \times Ss(\lambda)}{\sum_{290}^{400} Ser(\lambda) \times Ss(\lambda) \times T(\lambda)} \quad (1)$$

где $Ss(\lambda)$ - спектральная плотность падающего излучения, $Ser(\lambda)$ - спектр действия эритемы Международной комиссии по освещению (CIE), а $T(\lambda)$ - пропускание солнцезащитного средства. Значения $Ss(\lambda)$ и $Ser(\lambda)$ были взяты из литературы (B. L. Diffey, J. Robson. *A new substrate to measure sunscreen protection factors throughout the ultraviolet spectrum*, *J. Soc. Cosmet. Chem.* 1989, 40, 127-133).

Критическая длина волны λ_c - длина волны, при которой площадь под спектром поглощения для облученного продукта от 290 нм до λ_c равна 90% интегрального значения спектра поглощения от 290 до 400 нм и вычисляется с использованием уравнения Eq. 2:

$$\int_{290}^{\lambda_c} A(\lambda) d\lambda = 0.9 \int_{290}^{400} A(\lambda) d\lambda \quad (2)$$

где $A(\lambda)$ = значения монохроматического поглощения при длине волны λ . Критическая длина волны была определена для всех образцов с целью оценки степени защиты от УФА. В случаях, когда критическая длина волны ниже 370 нм, защита от УФА

менее выраженная.

Для дополнительного исследования растворов в качестве фотопротекторов кожи от УФА, отношение УФА/УФВ вычисляли с использованием уравнения Eq. 3:

$$\text{УФА/УФВ} = \frac{\int_{320}^{400} A(\lambda)d\lambda}{\int_{290}^{320} A(\lambda)d\lambda} \quad (3)$$

Определение УФ-стабильности:

Стабильность растворов при воздействии (УФВ+УФА) облучения, имитирующего солнечное излучение, регистрировали спектрофотометрически следующим образом: образцы, содержащие 3 мл водных растворов *Cistanche tubulosa* с конечной концентрацией 0,002%, подвергали воздействию УФ-излучения интенсивностью 2 мВт/см² (лампа G6T5E УФ-В, испускающая УФ-излучение с длиной волны 280-360 нм (на пике 306 нм) УФВ 0,7 мВт/см²+УФА 1,3 мВт/см²) в чашках Петри диаметром 3,5 см. Расстояние до поверхности образца составляло 5,5 см, толщина слоя составляла примерно 3 мм. Продолжительность воздействия составляла 40 мин. Излучение измеряли с помощью цифрового радиометра UVX, оборудованного сенсорами UVX-31 300 нм и UVX-36 365 нм (Canadawide Scientific). Затем измеряли оптическую плотность растворов при 250-450 нм с использованием кварцевой кюветы 1 см. Контрольные образцы измеряли так же, за исключением УФ-облучения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Значения SPF вычисляли с использованием спектров и Eq. 1 для следующих растворов, содержащих порошок *Cistanche tubulosa* в количестве 2%, 5%, 15%, 30% и 40%. Предполагали нанесение этих растворов из расчета 2 мг на см² кожи (стандартное нанесение).

Критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ растворов с порошком *Cistanche tubulosa* также были вычислены из спектров поглощения и представлены на **Фигуре 4**. Согласно Boots the Chemist Ltd, низкая защита от УФА соответствует отношению УФА/УФВ <0,2 (0 звезд по системе UVA Star Rating), умеренная защита соответствует отношению 0,21-0,40 (1 звезда по системе UVA Star Rating), хорошая защита соответствует отношению 0,41-0,6 (2 звезды по системе UVA Star Rating), превосходная защита соответствует отношению 0,61-0,8 (3 звезды по системе UVA Star Rating) и максимальная защита соответствует отношению >0,8 (4 звезды по системе UVA Star Rating). Таким образом, растворы, содержащие различную концентрацию порошка *Cistanche tubulosa*, можно отнести к группе хорошей защиты (2 звезды UVA Star Rating).

Номер	Содержание экстракта <i>Cistanche tubulosa</i> в растворах (%)	Значения SPF	Критическая длина волны (λ_c)	УФА/УФВ
1	Раствор 2%	2,6	352 нм	0,51
2	Раствор 5%	5,9	352 нм	0,51
3	Раствор 15%	35	352 нм	0,51

4	Раствор 30%	60	352 мм	0,51
5	Раствор 40%	81	352 мм	0,51

Таблица 4: Значения SPF, критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ для растворов, содержащих различные концентрации порошка *Cistanche tubulosa*

Фотостабильность порошка *Cistanche tubulosa* в готовых растворах, выраженная в значениях SPF, показана на следующей **Фигуре 5** и в **Таблице 5**.

Количество экстракта <i>Cistanche tubulosa</i> в готовых растворах (%)	Первоначальные значения SPF без облучения УФА+УФВ	Значения SPF после 40 мин облучения УФА+УФВ
2	2,6	2.5
5	5,9	5.8
15	35	34
30	60	60
40	81	80

Таблица 5. Фотостабильность суспензии порошка *Cistanche tubulosa*, выраженная в значениях SPF

С. Тесты на защиту от УФВ (солнцезащитный фактор (SPF)), защита от УФА (УФА/УФВ) и фотостабильность водных растворов экстрактов *Lippia citriodora*

Экстракты вербены лимонной *Lippia citriodora* (лекарственного растения из Европейской Фармакопеи) были получены предложенным способом, и содержание вербаскозида составило 40%. Каждый образец (1 мл) помещали в кварцевую кювету с длиной пути 1 см. Оптическую плотность измеряли при 250-600 нм с шагом 1 нм при использовании УФ/вид спектрофотометра Varian (Cary 50 Scan). Следующие параметры были измерены и вычислены для каждого образца при двух различных способах нанесения на кожу - 2 мг/см² и 4 мг/см²: значения SPF, критическая длина волны и отношение УФА/УФВ.

Определение значений SPF водных растворов *Lippia citriodora*

Водные растворы экстракта *Lippia citriodora* с концентрациями 0,002 и 0,001% приготавливали в двойной повторности и регистрировали спектры поглощения в УФ-видимой области при 250-600 нм (Фиг. 1). Из этих спектров пропускание солнцезащитного средства (Т) определяли по значениям монохроматического поглощения при длине волны λ : $T=10^{-A(\lambda)}$.

Значения SPF водных растворов *Lippia citriodora* вычисляли по формуле 1 для лосьонов с 1,0%, 5,0%, 10,0%, 15,0% и 30,0% экстракта *Lippia citriodora*, наносимых в количестве 2 мг/см² (стандартное нанесение) и 4 мг/см².

Номер	Конечная концентрация экстракта <i>Lippia citriodora</i> и (вербаскозида)	Значения SPF		Критическая длина волны (λ_c)	УФА/УФВ
		2 мг/см ²	4 мг/см ²		
5	1,0% (0,4%)	1,5	3,1	353 нм	0,49

6	5,0% (2,0%)	4,8	29	353 нм	0,49
7	10% (4,0%)	6,9	55	353 нм	0,49
8	15,0% (6,0%)	26,0	124	353 нм	0,49
9	30,0% (12,0%)	58,0	183	353 нм	0,49

Таблица 6. Значения SPF, критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ для водных растворов *Lippia citriodora* с высокими концентрациями вербаскозида (VB, 40%)

Критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ также были вычислены из спектров поглощения и сведены в **Таблице 6**. Согласно Boots the Chemist Ltd, низкая защита от УФА соответствует отношению УФА/УФВ $<0,2$ (0 звезд по системе UVA Star Rating), средняя защита соответствует отношению 0,21-0,40 (1 звезда по системе UVA Star Rating), хорошая защита соответствует отношению 0,41-0,6 (2 звезды по системе UVA Star Rating), превосходная защита соответствует соотношению 0,61-0,8 (3 звезды по системе UVA Star Rating), и максимальная защита соответствует отношению $>0,8$ (4 звезды по системе UVA Star Rating). Согласно этим международным показателям водные растворы *Lippia citriodora* с высокими концентрациями вербаскозида можно отнести к группе хорошей защиты (2 звезды UVA Star Rating).

2. Фотостабильность водных растворов экстракта *Lippia citriodora* под воздействием УФ-излучения, имитирующего солнечное излучение, в течение 2-40 минут

В этих экспериментах спектры поглощения в УФ-видимой области 0,002% водного раствора *Lippia citriodora* регистрировали при 250-450 нм без или после от 2 до 40 минут УФ-облучения (**Фиг. 7**). Суммарная доза составила 4,8 (УФВ 1,6+УФА 3,2) Дж/см². Было обнаружено, что растворы не разрушаются под действием света (УФА+УФВ). УФ-облучение не влияло на значения SPF растворов, а спектры поглощения даже после 40 мин облучения не изменились (**Фиг. 7**). Было обнаружено, что экстракт *Lippia citriodora* устойчив к (УФА+УФВ) свету. В частности, после 10 минут облучения было обнаружено лишь очень небольшое влияние УФ-облучения на спектры поглощения 0,002% водных растворов экстракта *Lippia citriodora*. Впрочем, последующее облучение (20 и 40 мин) не повлияло на спектры поглощения (**Фиг. 7**).

D. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ *IN VITRO* СОЛНЦЕЗАЩИТНОГО ФАКТОРА (SPF, УФВ), ЗАЩИТЫ ОТ УФА (УФА/УФВ И КРИТИЧЕСКОЙ ДЛИНЫ ВОЛНЫ) И ФОТОСТАБИЛЬНОСТИ ЭКСТРАКТОВ ЛИСТЬЕВ *SESAMUM INDICUM* И ЛИСТЬЕВ И ПЛОДОВ *OLEA EUROPEA*

Экстракты листьев и плодового пюре, оставшихся после экстракции оливкового масла, приготавливали разными методами, используя воду или воду:этанол (1:1 об:об) или 96% этанол. Время экстракции либо было короче предложенного (2 минуты), либо было предложенным (20-30 минут). Образцы листьев и плодового пюре (по 10 мг каждый) разводили либо холодной, либо горячей (75°C) водой (5 мл), либо 5 мл смеси этанола и воды, либо 5 мл чистого этанола (96%). 0,2% суспензии приготавливали в двойной

повторности. Процедуру экстракции проводили вручную в течение 2 минут, либо на вортексе в течение 20-30 минут. После экстракции твердое нерастворенное вещество осаждали с помощью центрифугирования, собирали супернатант, а осадок подвергали вторичной экстракции таким же способом. Оба супернатанта, полученные после первой и второй экстракции, объединяли и использовали для исследований *in vitro*. Для спектрофотометрии водные и этанольные суспензии разбавляли дистиллированной водой до концентрации 0,02%, а водно-этанольные экстракты разбавляли дистиллированной водой до концентрации 0,01%.

1. Определение значений SPF экстрактов

Спектры поглощения в УФ-видимой области экстрактов, приготовленных согласно разделу "Подготовка образцов", регистрировали в диапазоне 250-600 нм (примеры приведены на **Фиг. 8-11**). Из этих спектров пропускание солнцезащитного средства (Т) определяли по значениям монохроматического поглощения при длине волны λ : $T=10^{-A(\lambda)}$.

Значения SPF вычисляли с использованием Eq. 1 для солнцезащитной косметики, наносимой в количестве 2 мг/см² (стандартное нанесение).

Тип экстракции	Количество измельченных листьев кунжута, используемое для экстракции (г/100 мл растворителя, %)			
	10%	25%	50%	100%
Водная экстракция при встряхивании вручную 2 мин	2,3	8	46	282
Спиртовая экстракция при встряхивании вручную 2 мин	1,5	2,6	6,5	36
Водоспиртовая экстракция при встряхивании вручную 2 мин	3,2	16	117	600
Водоспиртовая экстракция при интенсивном встряхивании 20 мин	3,9	25	195	1040

Таблица 7. Значения SPF солнцезащитных лосьонов, содержащих экстракты листьев *Sesamum indicum*

Тип экстракции	Количество измельченных оливковых листьев, используемое для экстракции (г/100 г растворителя, %)			
	10%	25%	50%	100%
Водная экстракция при встряхивании вручную 2 мин	1,5	2,7	7,3	44
Спиртовая экстракция при встряхивании вручную 2 мин	1,3	1,9	3,5	12
Водоспиртовая экстракция при встряхивании вручную	1,7	3,6	12	91

2 мин				
Водоспиртовая экстракция при интенсивном встряхивании 20 мин	1,8	4,1	15	112

Таблица 8. Значения SPF для солнцезащитных лосьонов, содержащих экстракт листьев *Olea europaea*

Тип экстракции	Количество готовых экстрактов оливкового плодового пюре, используемое для экстракции (г/100 г растворителя, %)			
	10%	25%	50%	100%
Водная экстракция при встряхивании вручную 2 мин	1,1	1,3	1,8	3,2
Спиртовая экстракция при встряхивании вручную 2 мин	1,2	1,6	2,5	6,0
Водоспиртовая экстракция при встряхивании вручную 2 мин	1,1	1,4	1,9	3,6
Водоспиртовая экстракция при интенсивном встряхивании 20 мин	1,5	2,6	6,6	41

Таблица 9. Значения SPF для солнцезащитных лосьонов, содержащих экстракты плодового пюре *Olea europaea*

Номер	Растительные экстракты	Критическая длина волны (λ_c)	УФА/УФВ
1	Экстракт листьев <i>Sesamum indicum</i>	368 нм	0,67
2	Экстракт листьев <i>Olea europaea</i>	373 нм	0,56
3	Экстракт плодового пюре <i>Olea europaea</i>	386 нм	0,77

Таблица 10. Критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ для солнцезащитных продуктов, содержащих растительные экстракты

Критическую длину волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ лосьонов также были вычислены из спектров поглощения и приведены в таблицах 7-10. Согласно Boots the Chemist Ltd, низкая защита от УФА достигается при отношении УФА/УФВ <0,2 (0 звезд UVA Star Rating), умеренная защита соответствует отношению 0,21-0,40 (1 звезда UVA Star Rating), хорошая защита соответствует отношению 0,41-0,6 (2 звезды UVA Star Rating), превосходная защита соответствует отношению 0,61-0,8 (3 звезды UVA Star Rating) и максимальная защита соответствует отношению >0,8 (4 звезды UVA Star Rating). Таким образом, **экстракт оливковых листьев** можно отнести к группе с 2 звездами UVA Star Rating, а **экстракт оливкового плодового пюре и экстракт листьев кунжута** можно отнести к группе с 3 звездами UVA Star Rating.

Используя спектры различных экстрактов листьев кунжута (Фиг. 12), значения SPF

были рассчитаны в предположении стандартного нанесения растворов, содержащих экстракты листьев кунжута, на кожу человека в дозе 2 мг/см². Данные показаны в **Таблице 11**.

Тип экстракции	Количество листьев кунжута (г), добавляемое к 100 мл солнцезащитного лосьона			
	10%	25%	50%	100%
Водная экстракция при встряхивании вручную 2 мин	2,3	8	46	282
Спиртовая экстракция при встряхивании вручную 2 мин	1,5	2,6	6,5	36
Водоспиртовая экстракция при встряхивании вручную 2 мин	3,2	16	117	600
Водоспиртовая экстракция с интенсивным встряхиванием 20 мин	3,9	25	195	1040
Экстракция горячей водой при 80-90°C и интенсивным встряхиванием 20 мин	3	14	92	432
Экстракция горячей водой при 80-90°C и интенсивным встряхиванием 30 мин	3,1	15	94	363

Таблица 11. Значения SPF растворов, содержащих различные экстракты порошка листьев кунжута

Для экстракции горячей водой при интенсивном встряхивании в течение 20 мин, которая является наиболее перспективным видом экстракции с промышленной точки зрения, была построена кривая зависимости SPF от исходного количества листьев кунжута (**Фиг. 12**).

где X - количество измельченных листьев кунжута, а Y - значение SPF, вычисленное по уравнению Сэйра.

Из этой экспоненциальной кривой можно легко определить, что:

100 г измельченных листьев кунжута, добавленных в 100 мл горячей воды, дают SPF 432.

50 г измельченных листьев кунжута, добавленных в 100 мл горячей воды, дают SPF 92.

40 г измельченных листьев кунжута, добавленных в 100 мл горячей воды, дают SPF 49.

34 г измельченных листьев кунжута, добавленных в 100 мл горячей воды, дают SPF 31.

25 г измельченных листьев кунжута, добавленных в 100 мл горячей воды, дают SPF 15.

Экстракты листьев *Sesamum indicum* и *Olea europea* были чрезвычайно стабильны при воздействии излучения УФА+УФВ, имитирующего солнечного излучение, в течение не менее 40 минут.

Е. ОПРЕДЕЛЕНИЕ *IN VITRO* СОЛНЦЕЗАЩИТНЫХ СВОЙСТВ ХИМИЧЕСКИХ СОЛНЦЕЗАЩИТНЫХ СРЕДСТВ

Химические УФ-фильтры

Этилгексилметоксициннамат, **жидкость**, нерастворимая в воде (Мол.масса 290,4);
 Бензотриазолилдодецил-п-крезол, **жидкость**, нерастворимая в воде (Мол.масса 393,6);

Октокрилен, **жидкость**, нерастворимая в воде (Мол.масса 361,48);

Авобензон (бутилметоксидибензоилметан), **порошок**, нерастворимый в воде (Мол.масса 310,39);

Диэтилгексилбутамидотриазон, **порошок**, нерастворимый в воде (Мол.масса 766,0);

Этилгексилтриазон, **порошок**, нерастворимый в воде (Мол.масса 823,1);

Бис-этилгексилоксифенолметоксифенилтриазин, **порошок**, нерастворимый в воде (Мол.масса 627,8).

Подготовка образцов

Жидкие водонерастворимые солнцезащитные средства (образцы 1-3)

1-е разведение: 50 мг жидкости растворяют в 25 мл диметилсульфоксида (ДМСО).

2-е разведение: 0,05 мл раствора в ДМСО добавляют в 10 мл воды.

3-е разведение: 0,05 мл раствора в ДМСО/воде добавляют в 10 мл этилового спирта (96%).

Порошковые водонерастворимые солнцезащитные средства (образцы 4-6)

1-е разведение: 50 мг порошка растворяли в 25 мл диметилсульфоксида (ДМСО).

2-е разведение: 0,05 мл раствора ДМСО добавляли в 10 мл воды.

Порошок, нерастворимый в воде и нерастворимый в ДМСО (образец 7)

1-е разведение: 50 мг порошка растворяли в 25 мл гептана.

2-е разведение: 0,05 мл раствора в гептане смешивали с 5 мл гептана и инкубировали в течение 24 часов.

В случае определения SPF, критической длины волны (λ_c) и соотношения УФА/УФВ

Применяли те же методы и уравнения, как и в случае с растительными экстрактами.

Жидкие солнцезащитные средства. Поскольку водные растворы образцов были достаточно мутными и вызывали значительное светорассеяние, для вычисления значений SPF использовали растворы в ДМСО/воде/этаноле (**Фиг. 13**).

1. Определение солнцезащитной способности этилгексилметоксициннамата

Растворы солнцезащитных средств в концентрации 0,001% приготавливали в двойной повторности и регистрировали спектры поглощения в УФ-видимой области при 250-600 нм (**Фиг. 1**). На основе этих спектров пропускание солнцезащитного средства (Т) определяли по значениям монохроматического поглощения при длине волны λ : $T=10^{-A(\lambda)}$.

В **Таблице 12** представлена зависимость значений SPF-В от содержания октилметоксициннамата (%) в солнцезащитных растворах и защита от УФ-А, оцениваемая по отношению УФА/УФВ и критической длине волны. На **Фигуре 2** показана кривая зависимости значений SPF от концентраций химического солнцезащитного средства (% октилметоксициннамат).

Количество октил-метоксицинната в солнцезащитном растворе (%)	Значения SPF	Критическая длина волны (λ_c)	УФА/УФВ
0,5%	5,7	329 нм	0,12
1%	12	329 нм	0,12
2,5%	17	329 нм	0,12
5%	20	329 нм	0,12
10%	23	329 нм	0,12
20%	27	329 нм	0,12

Таблица 12. Значения SPF, критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ для октилметоксицинната.

Выводы: Согласно полученным данным спектрофотометрии *in vitro*, жидкий химический солнцезащитное средство октилметоксициннат обеспечивает дозозависимый SPF-B, достигающий SPF 20 при концентрации 5%. Дальнейшее повышение до 10 и 20% привело к незначительному увеличению значений SPF (23 и 27 соответственно). Солнцезащитное средство не обладает хорошим поглощением УФ-А из-за низкого отношения УФА/УФВ, составляющего 0,12, и критической длины волны 329 нм.

2. Определение солнцезащитной способности бензотриазолилдодецил-п-крезола

В **Таблице 13** представлена зависимость значений SPF-B от содержания бензотриазолилдодецил-п-крезола (%) в солнцезащитных растворах и защиты от УФ-А, оцениваемой по отношению УФА/УФВ и критической длине волны. На **Фигуре 3** представлена дозозависимая кривая значений SPF.

Количество бензотриазолилдодецил-п-крезола в солнцезащитном растворе (%)	Значения SPF	Критическая длина волны (λ_c)	УФА(УФВ)
0,5%	2,4	363 нм	0,62
1%	6	363 нм	0,62
2,5%	41	363 нм	0,62
5%	105	363 нм	0,62
10%	157	363 нм	0,62

Таблица 13. Значения SPF, критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ для бензотриазолилдодецил-п-крезола.

Вывод

Жидкое солнцезащитное средство бензотриазолилдодецил-п-крезол обеспечивает превосходную дозозависимую защиту от УФ-В, что позволяет достигать SPF-B 41 при концентрации 2,5%. Дальнейшее повышение его концентрации до 5 и 10% приводило к увеличению SPF до 105 и 157 соответственно. Солнцезащитное средство также обеспечивает очень хорошую защиту от УФ-А, поскольку отношение УФА/УФВ составляет 0,62, а критическая длина волны - 363 нм.

3. Определение солнцезащитной эффективности октокрилена

В **Таблице 14** показана зависимость значений SPF-B от содержания октокрилена (%) в солнцезащитных растворах и защиты от УФ-А, оцениваемой по отношению УФА/УФВ и критической длине волны. На **Фигуре 16** показана дозозависимая кривая значений SPF.

Количество октокрилена в солнцезащитном растворе (%)	Значения SPF	Критическая длина волны (λ_c)	УФА/УФВ
0,5%	10	342 нм	0,22
1%	25	342 нм	0,22
2,5%	42	342 нм	0,22
5%	61	342 нм	0,22
10%	90	342 нм	0,22

Таблица 14. Значения SPF, критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ для октокрилена

Вывод: Жидкое солнцезащитное средство октокрилен обеспечивает превосходную дозозависимую защиту от УФ-В, что позволяет достигать SPF-В 25 при концентрации 1,0%. Дальнейшее повышение его концентрации до 2,5, 5,0 и 10,0% приводило к увеличению SPF до 42, 61 и 90 соответственно. Однако солнцезащитный крем не защищает от УФ-А излучения, поскольку отношение УФА/УФВ составляет 0,22, а критическая длина волны - 342 нм.

Порошковые солнцезащитные средства

На **Фигуре 17** показаны спектры в УФ-видимой области порошковых солнцезащитных средств (авобензона, диэтилгексилбутаимидотриазона и этигексилтриазона).

4. Определение солнцезащитной способности авобензона (бутилметоксидибензоилметана).

В **Таблице 15** представлена зависимость значений SPF-В от содержания авобензона (%) в солнцезащитных растворах и защиты от УФ-А, оцениваемой по отношению УФА/УФВ и критической длине волны, а на **Фигуре 18** представлена дозозависимая кривая значений SPF.

Номер	Количество октокрилена в солнцезащитном растворе (%)	Значения SPF	Критическая длина волны (λ_c)	УФА/УФВ
1	0,5%	1,9	385 нм	2,26
2	1%	3,0	385 нм	2,26
3	2,5%	19	385 нм	2,26
4	5%	297	385 нм	2,26

Таблица 16. Значения SPF, критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ для авобензона

Вывод: Порошковое солнцезащитное средство авобензон обеспечивает умеренную дозозависимую защиту от УФ-В, что позволяет достигать SPF-В 19 при концентрации 2,5%. Дальнейшее повышение его концентрации до 5,0% приводило к резкому увеличению SPF до 297. Однако солнцезащитный крем является отличным защитником от света УФ-А, поскольку отношение УФА/УФВ составляет 2,26, а критическая длина волны - 385 нм.

5. Определение солнцезащитной способности диэтилгексилбутаимидотриазона

В **Таблице 17** представлена зависимость значений SPF-В от содержания диэтилгексилбутаимидотриазона (%) в солнцезащитных растворах и защита от УФ-А, оцениваемая по отношению УФА/УФВ и критической длине волны. На **Фигуре 19** показана

дозозависимая кривая значений SPF.

Количество диэтилгексил- бутамидотриазона в солнцезащитном растворе (%)	Значения SPF	Критическая длина волны (λ_c)	УФА/УФВ
0,5%	4,1	337 нм	0,14
1%	10	337 нм	0,14
2,5%	23	337 нм	0,14
5%	44	337 нм	0,14
10%	131	337 нм	0,14

Таблица 17. Значения SPF, критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ для диэтилгексилбутамидотриазона

Вывод: Порошковое солнцезащитное средство этилгексилбутамидотриазон обеспечивает хорошую дозозависимую защиту от УФ-В, что позволяет достигать SPF-В 23 при концентрации 2,5%. Дальнейшее повышение его концентрации до 5,0 и 10% приводило к увеличению SPF до 44 и 137 соответственно. Солнцезащитное средство практически не защищает от УФА-излучения, поскольку отношение УФА/УФВ составляет 0,14, а критическая длина волны - 337 нм.

6. Определение солнцезащитной способности этилгексилтриазона

В **Таблице 18** представлена зависимость значений SPF-В от содержания этилгексилтриазона (%) в солнцезащитных растворах и защиты от УФА, оцениваемой по отношению УФА/УФВ и критической длине волны. На **Фигуре 20** показана дозозависимая кривая значений SPF.

Количество этилгексилтриазона в солнцезащитном растворе (%)	Значения SPF	Критическая длина волны (λ_c)	УФА(УФВ)
0,5%	5,2	341 нм	0,21
1%	14	341 нм	0,21
2,5%	33	341 нм	0,21
5%	74	341 нм	0,21
10%	271	341 нм	0,21

Таблица 18. Значения SPF, критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ для этилгексилтриазона

Вывод: Порошковое солнцезащитное средство этилгексилтриазон обеспечивает очень хорошую дозозависимую защиту от УФА-В, что позволяет достигать SPF-В 44 при концентрации 2,5%. Дальнейшее повышение его концентрации до 5,0 и 10% приводило к увеличению SPF до 74 и 271 соответственно. Солнцезащитное средство обеспечивает умеренную защиту от УФА-излучения, поскольку отношение УФА/УФВ составляет 0,21, а критическая длина волны - 341 нм.

7. Определение солнцезащитной способности бис-этилгексилоксифенолметоксифенилтриазина

Это вещество не растворялось в этиловом и изопропиловом спиртах, диметилсульфоксиде. Получить раствор удалось только в гептане, после нескольких дней инкубирования в растворителе. На **Фигуре 21** показан спектр в УФА-видимой области этого

вещества, растворенного в гептане.

В **Таблице 19** представлена зависимость значений SPF-B от содержания бис-этилгексилоксифенолметоксифенилтриазина (%) в солнцезащитных растворах и защита от УФ-А, оцениваемая по отношению УФА/УФВ и критической длине волны. На **Фигуре 22** показана дозозависимая кривая значений SPF.

Количество бис-этилгексилоксифенолметоксифенилтриазина в солнцезащитном растворе (%)	Значения SPF	Критическая длина волны (λ_c)	УФА/УФВ
0,5%	5,7	365 нм	0,50
1%	25	365 нм	0,50
2,5%	60	365 нм	0,50
5%	89	365 нм	0,50
10%	107	365 нм	0,50

Таблица 19. Значения SPF, критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ для бис-этилгексилоксифенолметокси-фенилтриазина

Вывод: Порошковое солнцезащитное средство бис-этилгексилоксифенолметоксифенилтриазин обеспечивает очень хорошую дозозависимую защиту от УФ-В, что позволяет достигать SPF-B 25 при концентрации 1,0%. Дальнейшее повышение его концентрации до 1,5, 2,0 и 2,5% приводило к увеличению SPF до 60, 89 и 107 соответственно. Солнцезащитное средство обеспечивает хорошую защиту от УФ-А, поскольку отношение УФА/УФВ составляет 0,50, а критическая длина волны - 365 нм.

Определение фотоустойчивости химических и физических солнцезащитных средств к УФА+УФВ излучению

Чувствительность водных растворов химических солнцезащитных средств к УФ-излучению регистрировали спектрофотометрически. Образцы (3 мл) **водного раствора** с концентрациями 0,001% подвергали воздействию УФ-излучения мощностью 2 мВт/см² (лампа G6T5E UV-B, испускающая УФ-излучение с длиной волны от 280 до 360 нм (на пике 306 нм), УФВ 0,7 мВт/см²+УФА 1,3 мВт/см²) в чашках Петри диаметром 3,5 см. Расстояние до поверхности составляло 5,5 см, толщина слоя \approx 2 мм. Продолжительность облучения до 40 мин. Излучение измеряли с помощью цифрового радиометра UVX, борудованного сенсорами UVX-31 300 нм и UVX-36 365 нм (Canadawide Scientific). Затем измеряли поглощение в диапазоне 250-600 нм с использованием кварцевой кюветы с длиной пути 1 см. Контрольные образцы обрабатывали так же, за исключением УФ-облучения.

Вывод

Октилметоксициннамат, авобензон и бис-этилгексилоксифенолметоксифенилтриазин крайне нестабильны под воздействием УФ-излучения, имитирующего солнечное излучение. Другие исследуемые химические солнцезащитные средства были так же устойчивы к сильному УФ-облучению (40 минут; 6 Дж/см²), как и природные солнцезащитные растительные экстракты.

Общие выводы: Химические солнцезащитные средства одобрены во всем мире и, учитывая исключительность применения в качестве SPF-B и SPF-A в солнцезащитной

косметике, обладают рядом очевидных недостатков по сравнению с солнцезащитными средствами растительного происхождения на основе вербаскозида и его близких аналогов: (1) Будучи нерастворимыми в воде, они растворяются в липидах кожи, поэтому они создают риски местного (кожа) и генерализованного (весь организм) токсического действия, включая эмбриотоксичность, тератогенез, гормональные нарушения, канцерогенез и аллергенность; (2) Некоторые из них могут разрушаться под воздействием солнечного УФ-излучения, и их следует часто заменять при повторном нанесении на кожу; (3) Метаболиты фоторазрушаемых химических солнцезащитных средств высокотоксичны и фототоксичны для кожи человека и организма в целом, а также для водных, морских и наземных живых организмов, микроорганизмов, растений и животных, таких как травы, водоросли, планктон, рыбы, моллюски, крабы, черепахи и т.д. Поэтому их негативное воздействие на окружающую среду огромно; (4) Подавляющее большинство химических солнцезащитных средств выборочно защищают либо от УФА, либо от УФВ-излучения, и лишь немногие из них относятся к УФ-фильтрам широкого спектра. Поэтому обычно косметические солнцезащитные композиции должны содержать комбинацию нескольких разных химических солнцезащитных соединений для достижения полной защиты от УФА+УФВ, предписанной дерматологами/косметологами для предупреждения преждевременного старения кожи и рака кожи.

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ ПО SPF-В СИНТЕТИЧЕСКИХ СОЛНЦЕЗАЩИТНЫХ СРЕДСТВАХ И СОЛНЦЕЗАЩИТНЫХ СРЕДСТВАХ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ, СОДЕРЖАЩИХ ВЕРБАСКОЗИД ИЛИ ЕГО АНАЛОГИ

В следующей Таблице 20 приведены значения SPF, полученные спектрофотометрически *in vitro* и вычисленные с помощью классического метода Сэйра (Sayre, RM; Agin, PP; LeVee, GJ; Marlowe, E. *A comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreens formulas*, *Photochem. Photobiol.* 1979, 29, 559-566) и модифицированного метода Сэйра, который дает результаты, аналогичные тем, которые получены в тестах *in vivo*, рекомендованных COLIPA.

n/n	Вычислено по уравнениям	Количество УФ-фильтров в солнцезащитной косметике (%)					
		0,5	1,0	2,5	5	10	20
		Значения SPF					
1	Оксилметоксициннамат						
	Сэйра	4,3	10	15,5	17	19	20
	Симулятор солнцезащитного средства	2	2,8	4,9	7,9	12,4	18,8
	Модифицированное Сэйра	4,1	6,3	11	17	26	40
2	Бензотриазолилдодецил-п-крезол						
	Сэйра	2,1	5	29	91	132	
	Модифицированное Сэйра	2,0	3,1	5,4	8,3	12,7	19

3	Окрилен								
	Сэйра	1,9	4	13	26,5	36,8			
	Симулятор солнцезащитного средства	1,6	2,1	3,5	6	11			
	Модифицированное Сэйра	1,6	2,6	4,7	7,4	11,7			
4	Авобензон (бутилметоксидибензоилметан)								
	Сэйра	1,5	2,0	6,1	32				
	Симулятор солнцезащитного средства	1,5	1,9	3,0	4,5				
	Модифицированное Сэйра	1,5	2,1	3,2	4,4				
5	Диэтилгексилбутамидотриазон								
	Сэйра	3,2	9,0	39	98	394			
	Симулятор солнцезащитного средства	2,4	3,3	5,7	8,3	11,1			
	Модифицированное Сэйра	3,2	4,6	7,4	10,6	15,3			
6	Этилгексилтриазон								
	Сэйра	2,8	8	69	389				
	Симулятор солнцезащитного средства	2,4	3,4	5,9	8,7	N/D			
	Модифицированное Сэйра	2,8	4,1	6,8	10,1				
7	Бис-этилгексилоксифенолметоксифенилтриазин (гексан)								
	Сэйра	4,8	19	93					
	Симулятор солнцезащитного средства	2,1	3,1	6,1	12,0	25,1			
	Модифицированное Сэйра	4,2	7,5	16,1	29	50			
n/n	Вычислено по уравнениям	Количество вербаскозида или его аналогов, полученных из экстрактов культур растений/растительных клеток, в солнцезащитной косметике (%)							
		0,5	1,0	2,5	5	8	10	12	20
		Значения SPF							
1	<i>Cistanche tubulosa</i>								
	Сэйра	1,6	2,6	9,0	33	-	64	-	97
	Модифицированное Сэйра SPF=2,63*в степени(X;0,827)	1,5	2,6	5,6	10	-	18	-	31
2	<i>Lippia citriodora</i>								
	Сэйра	1,5	2,4	8,0	31	-	59	-	83
	Модифицированное Сэйра SPF=2,486*в степени(X;0,827)	1,4	2,5	5,3	9,4	-	17	-	30
3	Вербаскозид								
	Сэйра	2,0	3,9	23	110				

	Модифицированное Сэйра SPF=3,9*в степени(X;0,827)	2,2	3,9	8,3	14,8	22	26	31	52
4	Вербаскозид/Миконозид								
	Сэйра	2	4	23	137				
	Модифицированное Сэйра SPF=4,1*в степени(X;0,827)	2,3	4,1	8,7	15,5	-	28	-	53
5	Экстракты <i>Haberlea rhodopensis</i>								
	Сэйра	1,25	1,6	3,0	11,0	-	60	-	-
	Модифицированное Сэйра SPF=1,66*в степени(X;0,827)	0,9	1,7	3,5	6,3	-	11	27	49

Х - Содержание солнцезащитного вещества в продукте

Экстракты листьев <i>Sesamum indicum</i>						
Водоспиртовая экстракция при интенсивном встряхивании 20 мин						
Содержание вербаскозида	1,0%	2,5%	5,0%	10%	15%	20%
Сэйра	3,9	25	195	-	-	-
Модифицированное Сэйра SPF=4,1*в степени (X;0,827)	4,1	8,7	15,5	28	39	58

Х - Содержание солнцезащитного вещества в продукте

ВЫВОДЫ

(1) Для водонерастворимых химических фильтров модифицированный метод Сейра дает результаты, близкие к результатам, вычисленным с помощью Simulator-Calculator (BASF) и исследований *in vivo*. Simulator-Calculator использует модифицированный метод Сейра, предполагая возведение в степень, равную 0,827 ($X^{0,827}$).

(2) Для водорастворимых природных фильтров тот же модифицированный метод Сейра даст результаты, близкие к результатам, полученным в исследованиях *in vivo* (предсказанным с помощью Simulator-Calculator).

Примеры косметических композиций с полностью природными солнцезащитными факторами

1. Солнцезащитный лосьон, SPF 50+, высокая защита от УФ-А.
2. Солнцезащитный крем, SPF 50+, высокая защита от УФ-А.
3. Солнцезащитная сыворотка для беременных и кормящих, SPF 50+, высокая защита от УФ-А.
4. Солнцезащитное молочко для малышей, SPF 50+, высокая защита от УФ-А.
5. Солнцезащитный лосьон, SPF 20-30, высокая защита от УФ-А для людей с очень чувствительной кожей.

Е. АНАЛИЗ СОЛНЦЕЗАЩИТНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ДВУХ ЛОСОНОВ И КРЕМА, СОДЕРЖАЩИХ ЭКСТРАКТ LIPPIA CITRIODORA С 40% ВЕРБАСКОЗИДА.

Подготовка образцов

Образцы растворяли в водоэтанольной смеси по следующей методике:

образцы (приблизительно 200-300 мг) растворяли в дистиллированной воде до

концентрации 10 мг/мл, а затем 0,5 мл этой смеси разбавляли 9,5 мл этанола (96%) с получением 0,5 мг/мл растворов в двойной повторности.

Регистрация спектров поглощения

Спектры поглощения в УФ-видимой области водозэтанольных растворов регистрировали в диапазоне 250-600 нм (Фиг 24).

Эти спектры использовали для вычисления пропускания солнцезащитного средства (Т), которое было найдено из значений монохроматического поглощения при длине волны λ :

$$T = 10^{-A(\lambda)}$$

SPF *in vitro* вычисляли в соответствии с методом, описанным Сэйром с соавт. (Sayre, RM; Agin, PP; LeVee, GJ; Marlowe, E. *A comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreens formulas, Photochem. Photobiol.* 1979, 29, 559-566), по уравнению 1:

$$SPF = \frac{\sum_{290}^{400} Ser(\lambda) \times Ss(\lambda)}{\sum_{290}^{400} Ser(\lambda) \times Ss(\lambda) \times T(\lambda)} \quad (1)$$

где $Ss(\lambda)$ - спектральная плотность падающего излучения, $Ser(\lambda)$ - спектр действия эритемы CIE и $T(\lambda)$ - пропускание солнцезащитного крема. Данные по $Ss(\lambda)$ и $Ser(\lambda)$ доступны в литературе (B. L. Diffey, J. Robson. *A new substrate to measure sunscreen protection factors throughout the ultraviolet spectrum, J. Soc. Cosmet. Chem.* 1989, 40, 127-133).

Значение критической длины волны λ_c для тестируемого продукта определяли как длину волны, при которой площадь под спектром поглощения образца от 290 нм до λ_c составляет 90% от интеграла спектра поглощения от 290 до 400 нм, и вычисляли с использованием Eq. 2:

$$\int_{290}^{\lambda_c} A(\lambda) d\lambda = 0.9 \int_{290}^{400} A(\lambda) d\lambda \quad (2)$$

$A(\lambda)$ = значения монохроматического поглощения при длине волны λ .

Чтобы описать способность кремов защищать кожу от УФА, отношение УФА/УФВ вычисляли с использованием Eq. 3:

$$УФА/УФВ = \frac{\int_{320}^{400} A(\lambda) d\lambda}{\int_{290}^{320} A(\lambda) d\lambda} \quad (3)$$

Значения SPF вычисляли с использованием Eq. 1 при условиях нанесения 2 мг/см² (стандартное нанесение, рекомендованное Европейским агентством).

Номер	Солнцезащитные продукты	Значения SPF, вычисленные по спектрам	Критическая длина волны (λ_c)	УФА/УФВ
1	Лосьон SPF 30	29,7	361 нм	0,68
2	Лосьон SPF 50	52	361 нм	0,72
3	Крем SPF 50	49,8	357 нм	0,67

Таблица 21. Значения SPF, критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ

Критическую длину волны (λ_c) и отношения УФА/УФВ также вычисляли с использованием Уравнений 2 и 3 (**Таблица 21**). Согласно Boots the Chemist Ltd, низкая защита от УФА достигается при отношении УФА/УФВ $<0,2$ (0 звезд UVA Star Rating), умеренная защита - при отношении 0,21-0,40 (1 звезда UVA Star Rating), хорошая защита - при отношении 0,41-0,6 (2 звезды UVA Star Rating), превосходная защита - при отношении 0,61-0,8 (3 звезды UVA Star Rating) и максимальная защита - при отношении $>0,8$ (4 звезды UVA Star Rating). Таким образом, **Лосьоны и крем** можно отнести к группе 3 UVA Star Rating.

Чувствительность водоспиртовых растворов двух лосьонов и крема к УФ-облучению определяли спектрофотометрически. Образцы (3 мл) водо/спиртового раствора с концентрацией 0,5 мг/мл подвергали воздействию УФ-излучения мощностью 2 мВт/см², имитирующего солнечный свет (лампа G6T5E UV-B, испускающая УФ-излучение с длиной волны от 280 до 360 нм (при пике 306 нм) УФВ 0,7 мВт/см²+УФА 1,3 мВт/см²) в чашках Петри диаметром 3,5 см. Расстояние до поверхности составляло 5,5 см, толщина слоя ≈ 2 мм. Продолжительность облучения составляла 5-40 мин. Излучение измеряли с помощью цифрового радиометра UVX, оборудованного сенсорами UVX-31 300 нм и UVX-36 365 нм (Canadawide Scientific). Затем измеряли поглощение в диапазоне 250-600 нм с использованием кварцевой кюветы 1 см. Контрольные необлученные образцы обрабатывали так же. На **Фигуре 25** показаны незначительные изменения спектров после 40 мин облучения (Фиг. 25).

Выводы:

1. Косметические средства (лосьоны и легкий крем) могут достигать значений SPF до 30 и 50 из-за присутствия природных SPF веществ, в данном случае вербаскозида из водного экстракта *Lippia citriodora*.
2. Эти косметические средства с природным SPF надежно защищают от солнечного УФА излучения, как оценивали по критической длине волны и отношению УФА/УФВ. В соответствии с международными стандартами такая косметика может считаться превосходной защитой с отношением УФА/УФВ 0,61-0,8 (3 звезды UVA Star Rating).
3. Эти косметические средства обладают чрезвычайно высокой фотостабильностью, поскольку они не разрушаются под воздействием имитирующего солнечный свет и долговременного (не меньше 40 мин) воздействия УФА+УФВ излучения. Поэтому их не нужно часто повторно наносить из-за инактивации под воздействием солнечного УФ-излучения.

F. АНАЛИЗ СОЛНЦЕЗАЩИТНЫХ ПАРАМЕТРОВ ЛОСЬОНОВ, СОДЕРЖАЩИХ СМЕСЬ ЭКСТРАКТОВ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР *SYRINGA VULGARIS* И *HABERLEA RHODOPENSIS*, СОДЕРЖАЩИХ ВЕРБАСКОЗИД (10%) И МИКОНОЗИД (36%) СООТВЕТСТВЕННО.

Цель исследования состояла в оценке *in vitro* УФ-защитных свойств солнцезащитных лосьонов, состоящих из лосьона, содержащего наполнители-основу

(правообладателем состава является MEDENA AG), и активных ингредиентов из экстрактов культур клеток меристемы *Syringa vulgaris* и *Haberlea rhodopensis*. Экстракт культур клеток *Syringa vulgaris* был обогащен гликозилированным фенилпропаноидом вербаскозидом (10%) с хорошо известными УФА+УФВ фотозащитными свойствами. Экстракт культивируемых клеток *Haberlea rhodopensis*, используемый в лосьонах, содержал 36% фенилпропаноидного миконозида. Для исследований *in vitro* применяли спектрофотометрические методы для прогнозирования результатов будущих исследований с участием людей, соответствующие требованиям Комиссии ЕС к солнцезащитной косметике (COLIPA) (B. L. Diffey, J. Robson. A new substrate to measure sunscreen protection factors throughout the ultraviolet spectrum, J. Soc. Cosmet. Chem. 1989, 40, 127-133).

1. Определение значений SPF лосьонов

Серия лосьонов, содержащих вербаскозид+миконозид, содержащих вспомогательные вещества лосьона и смесь экстрактов клеток меристемы растений (5%/5%, 4%/4%, 3,5%/3,5% и 2%/2% соответственно), приготавливали в двойной повторности с использованием экстрактов *Haberlea rhodopensis* (360 мг миконозида/г) и *Syringa vulgaris* (10% вербаскозида). Спектры поглощения в УФ-видимой области регистрировали в диапазоне 250-600 нм (Фиг 26). Из этих спектров пропускание солнцезащитного крема (Т) определяли по значениям монохроматического поглощения при длине волны λ : $T=10^{-A(\lambda)}$.

Значение SPF для лосьонов вычисляли с использованием Eq. 1 для трех условий нанесения: 2 мг/см² (стандартное нанесение), 2,5 мг/см² и 3 мг/см². В той же Таблице 22 показаны критическая длина волны и отношения УФА/УФВ.

Номер	Концентрация смеси вербаскозида+миконозида (%) в лосьоне	Значения SPF при разных способах нанесения на кожу			Критическая длина волны (λ_c)	УФА/УФВ
		2 мг/см ²	2,5 мг/см ²	3 мг/см ²		
1	2% вербаскозида+2% миконозида	15	33	42	363 нм	0,65
2	3,5% вербаскозида+3,5% миконозида	23	42	66	363 нм	0,65
3	4,0% вербаскозида+4,0% миконозида	42	74	112	363 нм	0,65
4	5% вербаскозида+5% миконозида	137	-	-	363 нм	0,64

Таблица 22. Значения SPF, критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ для "лосьонов" на основе экстрактов *Haberlea rhodopensis* (360 мг миконозида/г) и порошка вербаскозида (10% вербаскозида) с различными концентрациями вербаскозида/миконозида

Критическая длина волны (λ_c) и отношение УФА/УФВ также были вычислены по спектрам поглощения и сведены в Таблицу 22. Согласно Boots the Chemist Ltd, низкая защита от УФА соответствует отношению УФА/УФВ <0,2 (0 звезд UVA Star Rating), средняя защита соответствует отношению 0,21-0,40 (1 звезда UVA Star Rating), хорошая

защита соответствует отношению 0,41-0,6 (2 звезды UVA Star Rating), превосходная защита соответствует отношению 0,61-0,8 (3 звезды UVA Star Rating), и максимальная защита соответствует отношению $>0,8$ (4 звезды UVA Star Rating). Согласно этим международным показателям, лосьоны, содержащие смесь вербаскозида и миконозида, обладают превосходной защитой (3 звезды UVA Star Rating).

Выводы:

(1) Защита от УФВ-излучения достигала **SPF 23 и SPF 42** при стандартном способе нанесения $2,0 \text{ мг/см}^2$, когда лосьоны содержали 3,5/3,5% и 4,0/4,0% фенилпропаноид-содержащих смесей.

(2) Защита от УФА-излучения, оцениваемая по отношению УФА/УФВ, соответствует превосходной защите, 3 звезды по системе UVA Star Rating (в соответствии с международными стандартами) для всего перечня исследованных фенилпропаноидов.

(3) Фотостабильность лосьонов очень высокая и соответствует фотостабильности каждого из двух исследованных фенилпропаноидов. Эти уникальные природные фотопротекторы не разрушались под воздействием интенсивного облучения УФВ+УФА, имитирующего солнечное излучение, в течение по меньшей мере 40 минут. Поэтому нанесение солнцезащитных средств, содержащих вербаскозид+миконозид, не нужно повторять очень часто.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, в частности косметический состав, содержащий экстракт, содержащий вербаскозид и/или его производные, и/или его структурные аналоги, где экстракт получен из надземных частей растений, выбранных из группы, состоящей из кунжута индийского (*Sesamum indicum*), *Lippia citriodora*, *Haerberlea rhodopensis*, *Cistanche tubulosa*, *Syringa vulgaris*, *Aiuga reptans*, *Buddleija davidii*, *Verbena officinalis* и *Olea europea*, или где экстракт получен из культур каллусных клеток указанных частей растений.

2. Композиция по п.1, включающая 6,6-25 вес.% вербаскозида и/или его производных, и/или его структурных аналогов.

3. Композиция по п.1 или 2, включающая по меньшей мере одно соединение, выбранное из группы, состоящей из аминокислот, жирных кислот, полисахаридов, стеринов, витаминов, минералов и фитохимических соединений.

4. Композиция по любому из пп.1-3 в форме крема, жидкой эмульсии или прозрачного лосьона, или сыворотки, или спрея.

5. Композиция по любому из пп.1-4, в которой значение SPF *in vitro*, равно 20 или выше.

6. Композиция по любому из пп.1-5, отличающаяся тем, что вербаскозид заключен в липосомы, липогели, гидрогели, наночастицы или любой другой внутрикожный носитель.

7. Композиция по любому из пп.1-6, которая характеризуется водостойкостью и адгезией к поверхности кожи.

8. Применение композиции по любому из пп.1-7 в качестве солнцезащитного средства для местного применения против УФ-А и УФ-В излучения.

9. Способ получения экстракта, включающего вербаскозид, его производные и/или его структурные аналоги, такие как теуполиозид, изовербаскозид, 2'-ацилвербаскозид, эхинакозид, миконозид, тубулозид С, цистанозид А и цистанозид С, где способ включает следующие стадии:

а) отбор по меньшей мере одной надземной части или культуры каллусных клеток растения, выбранного из группы, состоящей из кунжута индийского (*Sesamum indicum*), *Lippia citriodora*, *Haerberlea rhodopensis*, *Cistanche tubulosa*, *Syringa vulgaris*, *Aiuga reptans*, *Buddleija davidii*, *Verbena officinalis* и *Olea europea*;

б) экстракцию вербаскозида, его производных и/или его структурных аналогов, присутствующих в части растения, с помощью метода, выбранного из группы, состоящей из промывки, отвара, мацерации, гомогенизации, перколяции и их любой комбинации;

с) отделение основной жидкой фазы, включающей экстрагированные соединения из твердых частиц размером больше чем примерно 2 мм, путем естественного осаждения, фильтрации, центрифугирования или их комбинации;

д) осветление жидкой фазы, полученной на стадии с); и

е) концентрирование осветленной жидкой фазы.

10. Способ по п.9, включающий дополнительную стадию предварительной обработки надземной части растения перед стадией экстракции б), где предварительная

обработка включает сушку надземной части растения до влажности меньше 80% - 60% и/или измельчение неиспользуемой части растения до размера меньше 5 см.

11. Способ по п.9 или 10, где стадию экстракции проводят в воде или смеси растворителя/воды, где растворитель выбран из группы, состоящей из метанола, этанола, ацетона и этилацетата.

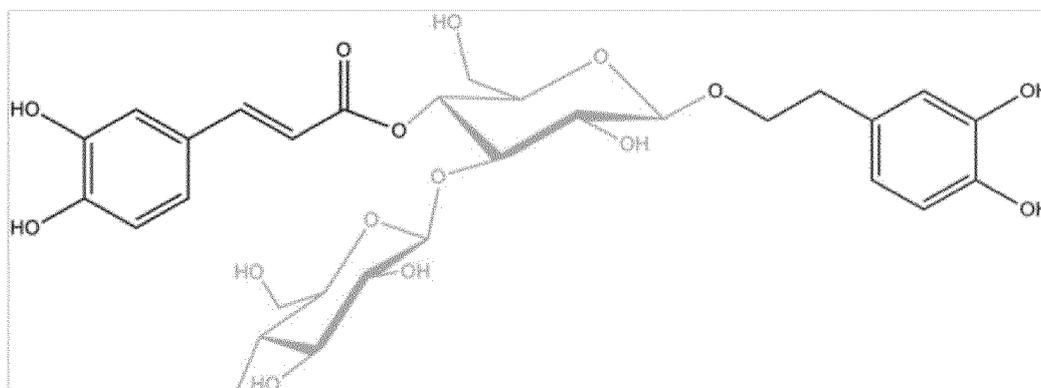
12. Способ по любому из пп.9-11, где стадию экстракции проводят при температуре от 25°C до 90°C, где стадию экстракции предпочтительно проводят в течение 20-60 минут, где стадию экстракции предпочтительно проводят при непрерывном перемешивании магнитной мешалкой или перемешивании на вортексе.

13. Способ по любому из пп.9-12, где твердые вещества, выделенные на стадии с), подвергают второй экстракции при таких же условиях, как при экстракции, проводимой на стадии b), где вторичную жидкую фазу отделяют от твердых частиц размером больше 2 мм, и где вторичную жидкую фазу смешивают с основной жидкой фазой, полученной ранее.

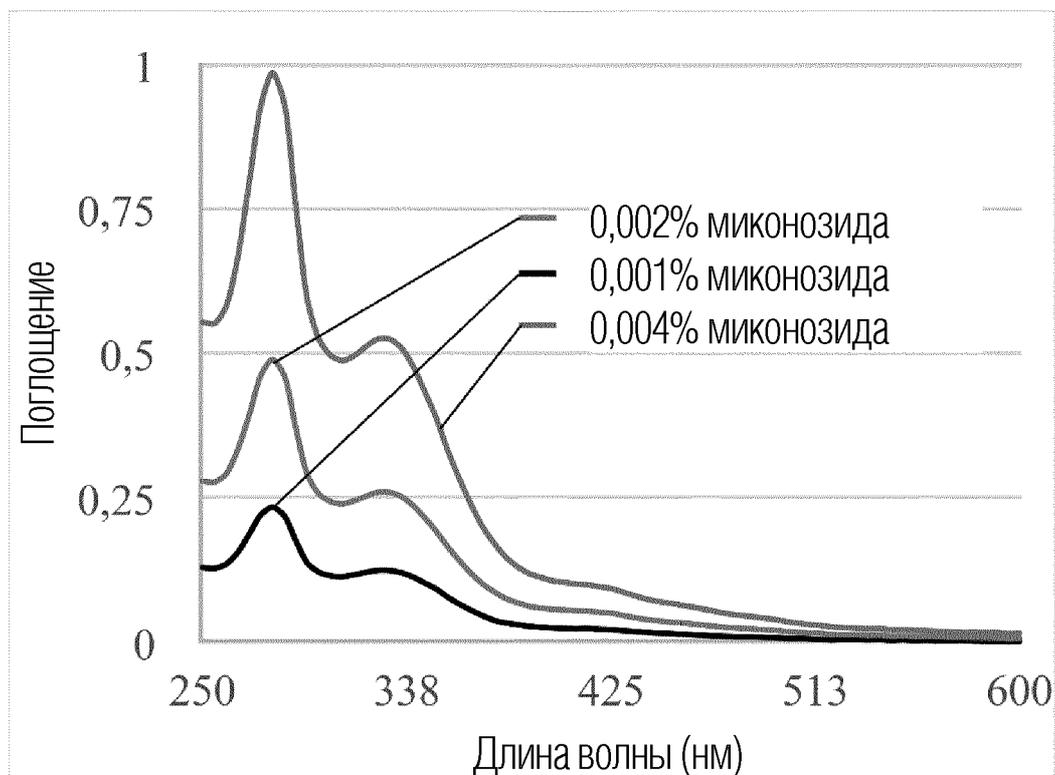
14. Способ по любому из пп.9-13, включающий дополнительную стадию f), в которой концентрированную жидкость после стадии e) превращают в порошок с помощью метода сушки распылением.

15. Способ по любому из пп.9-14, где надземные части растения представляют собой растительные отходы, полученные в процессе промышленного производства продуктов питания на растительной основе, таких как кунжутное масло, оливковое масло или кунжутные отруби.

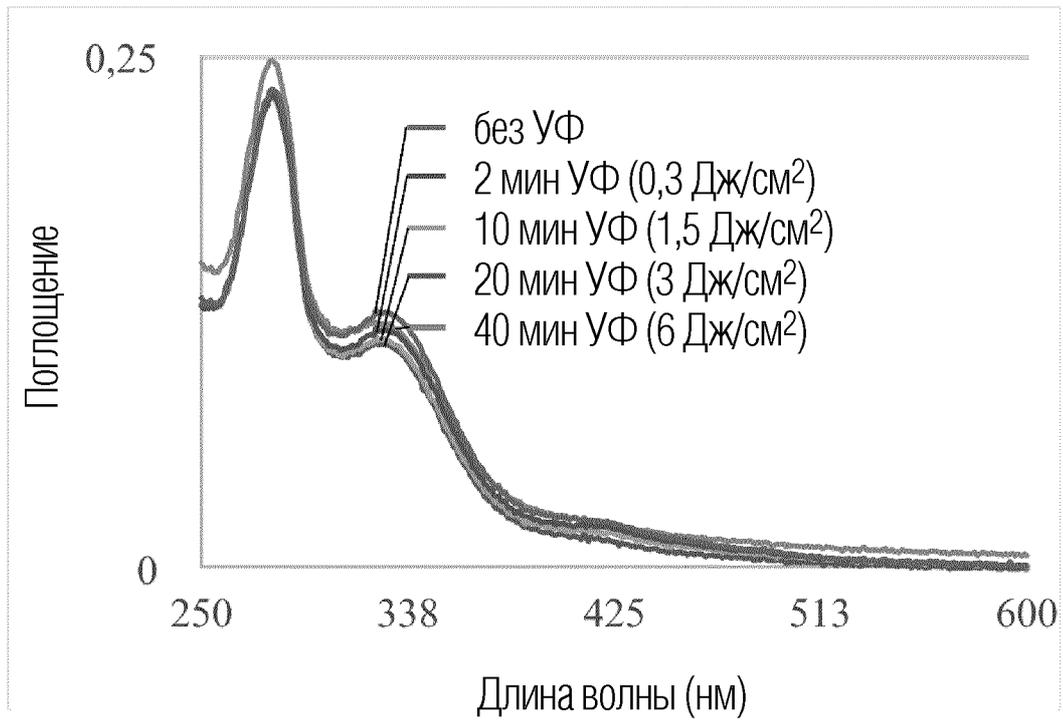
По доверенности



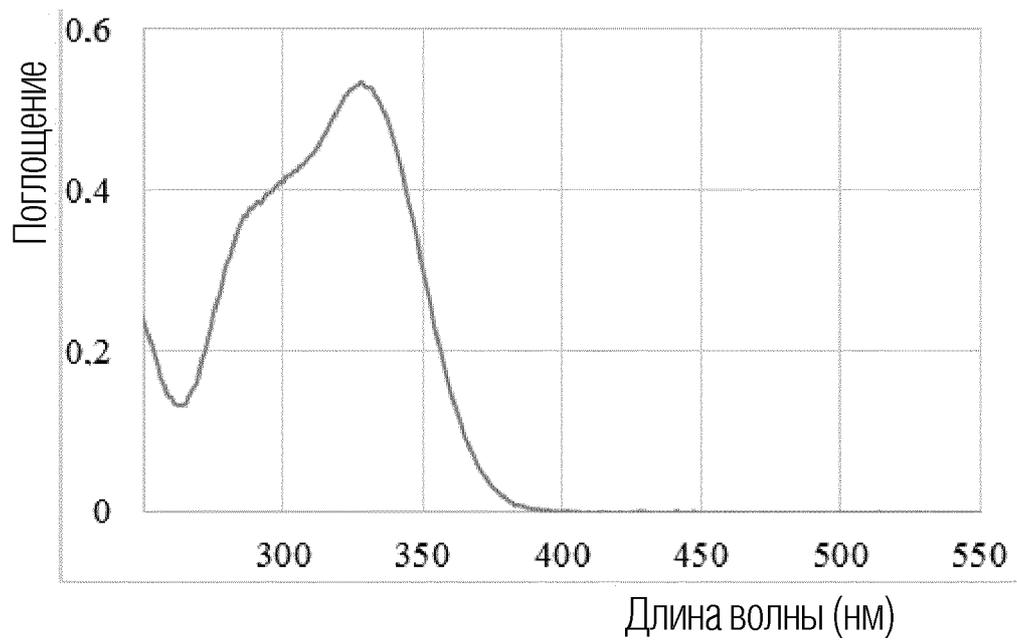
ФИГ. 1



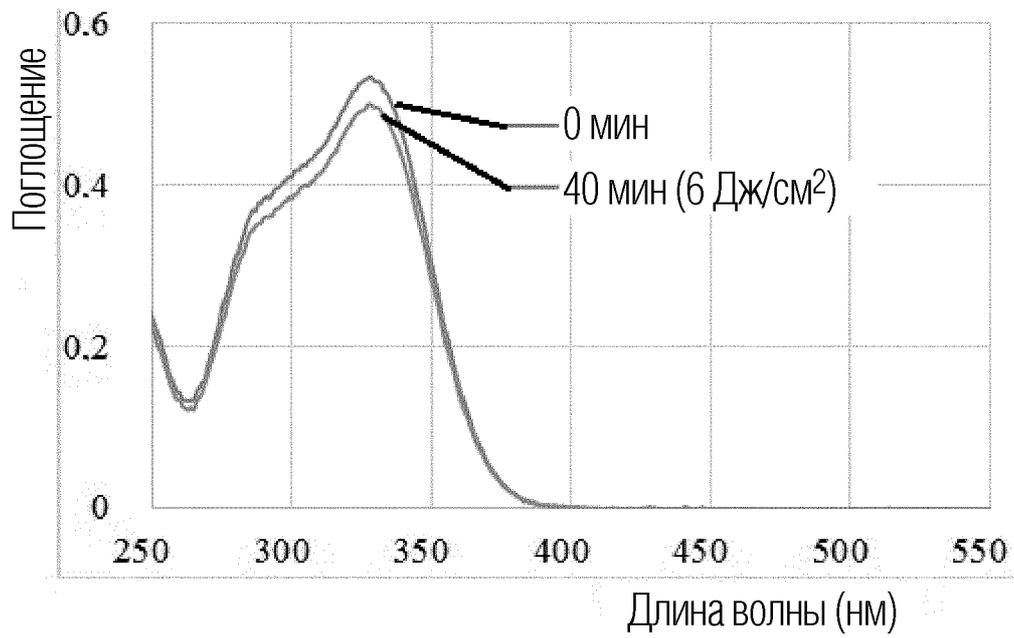
ФИГ. 2



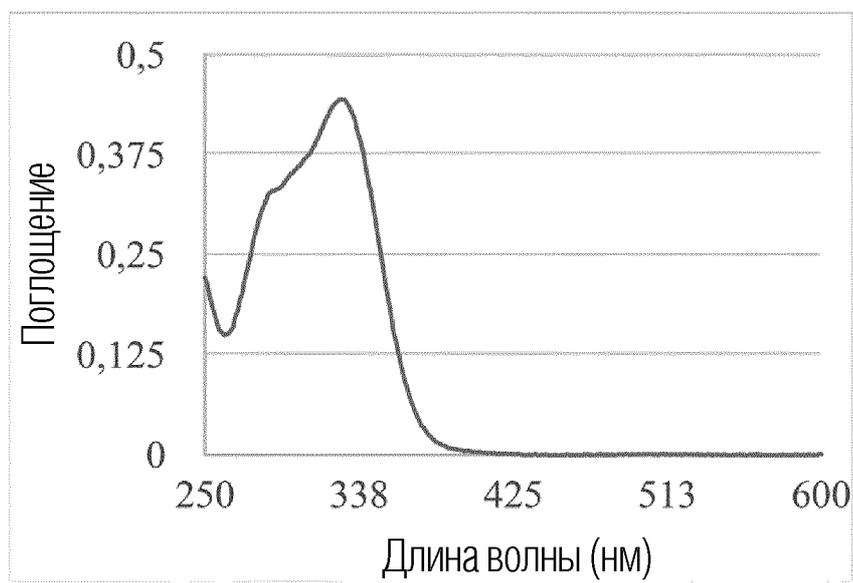
ФИГ. 3



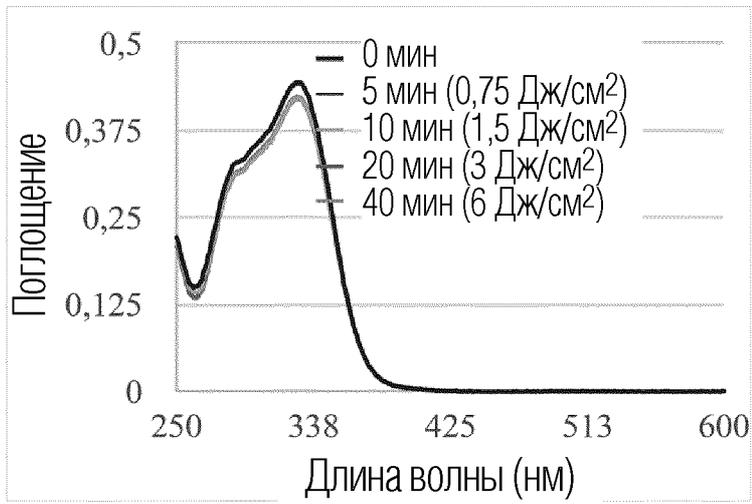
ФИГ. 4



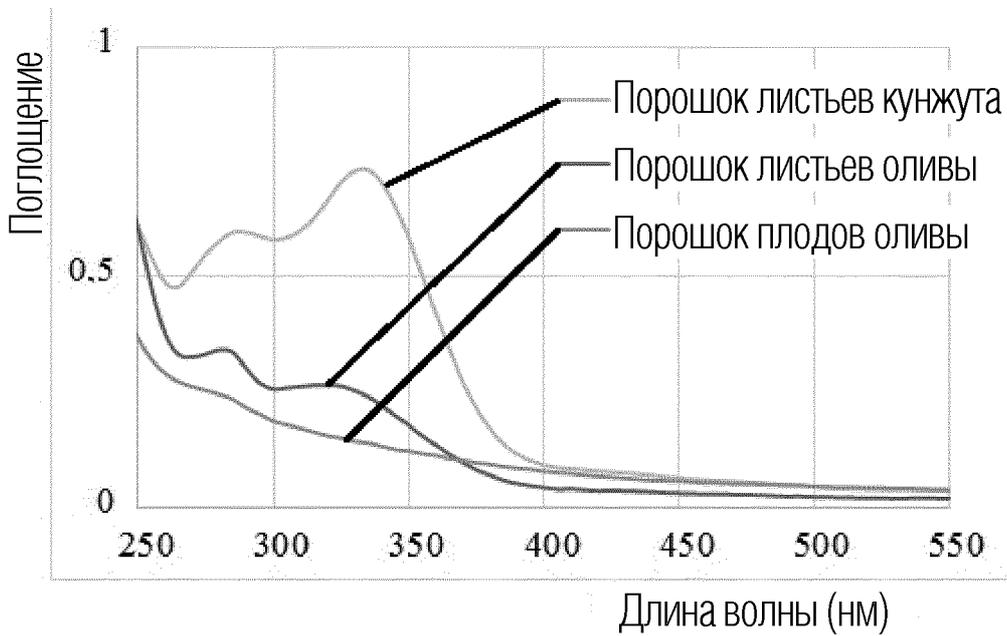
ФИГ. 5



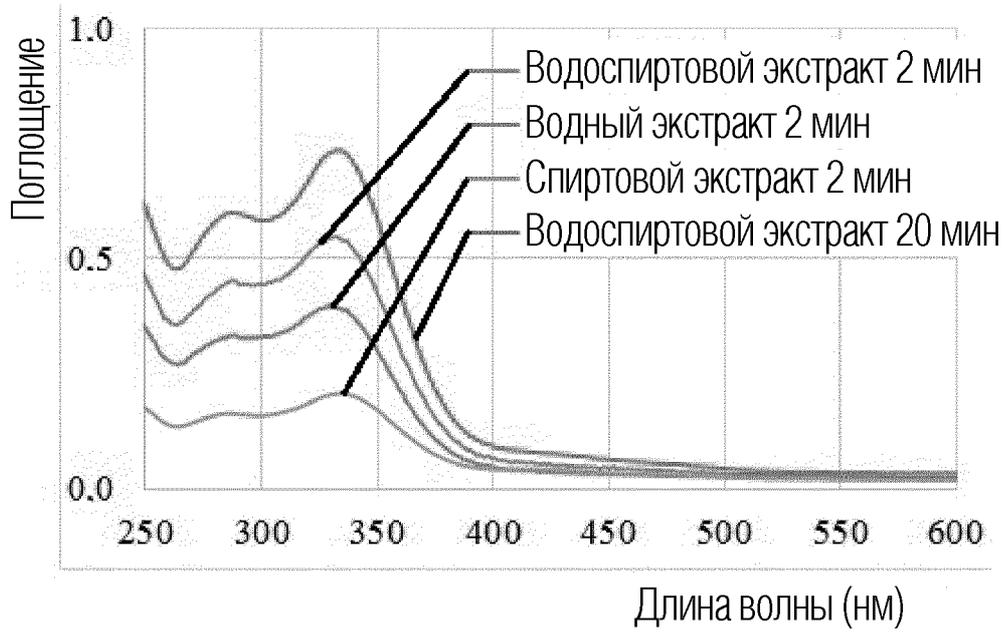
ФИГ. 6



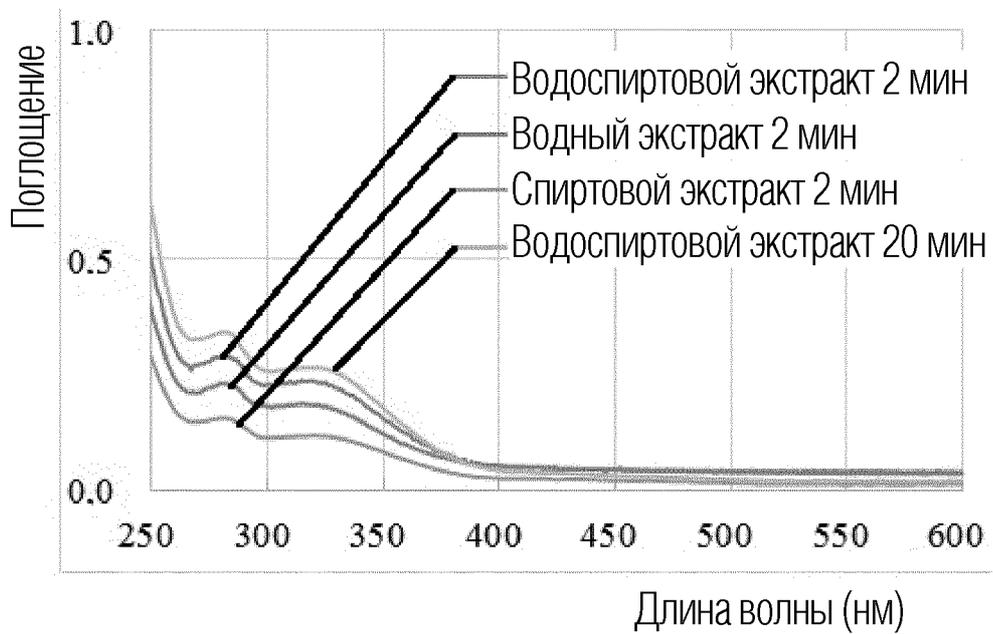
ФИГ. 7



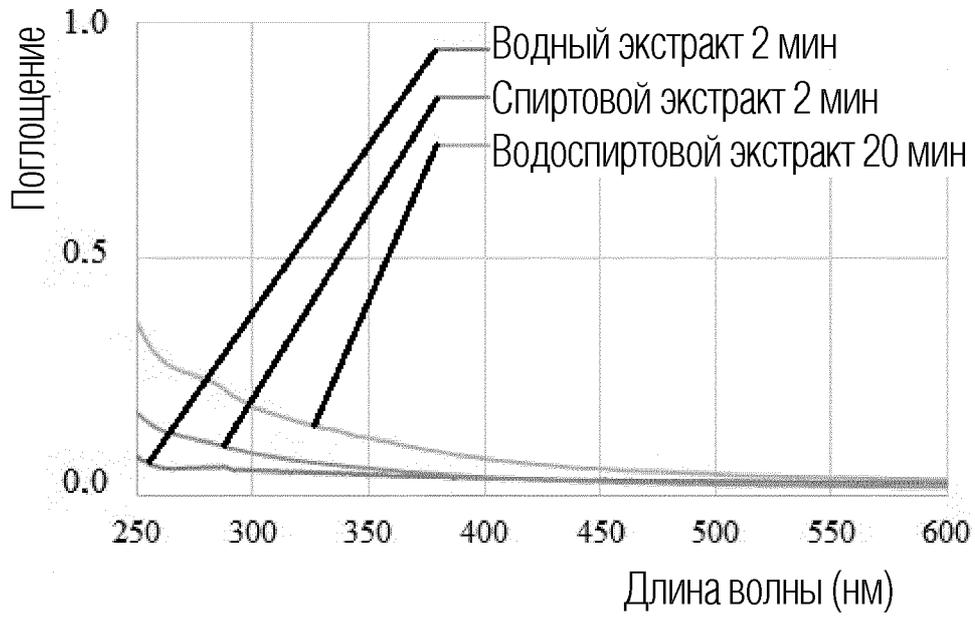
ФИГ. 8



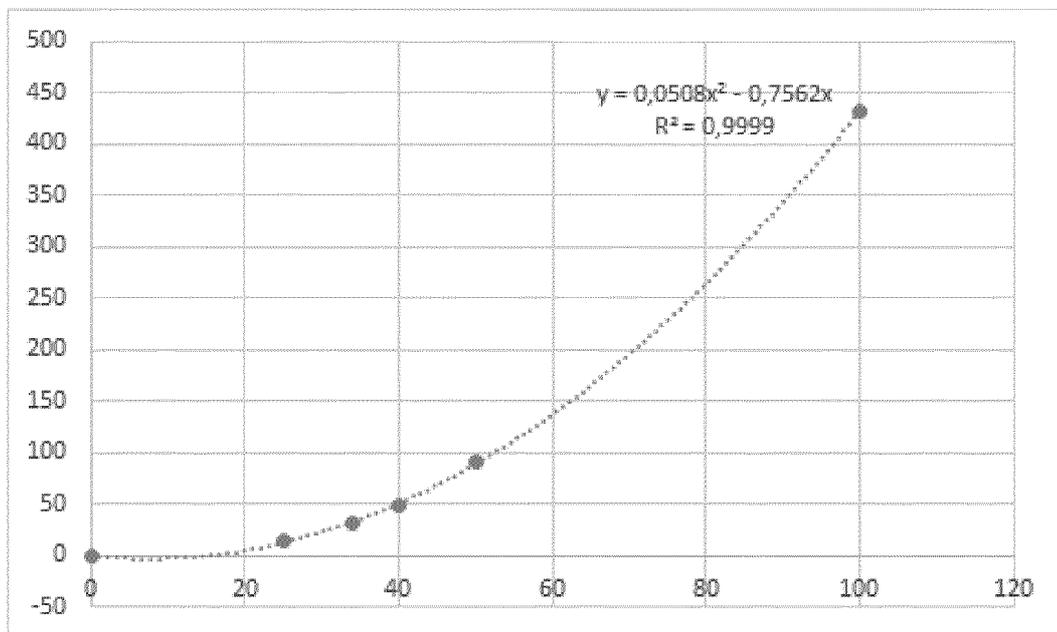
ФИГ. 9



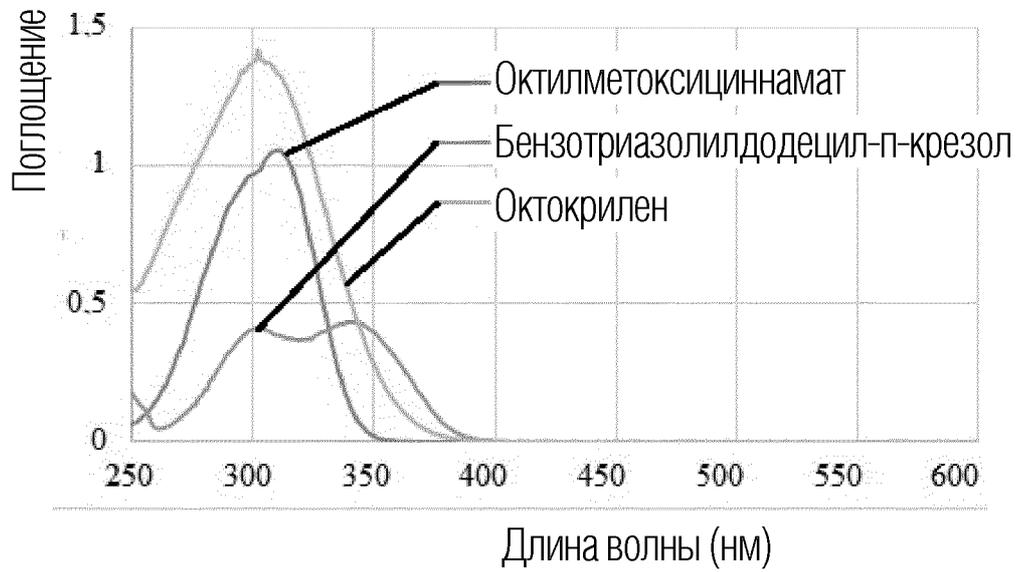
ФИГ. 10



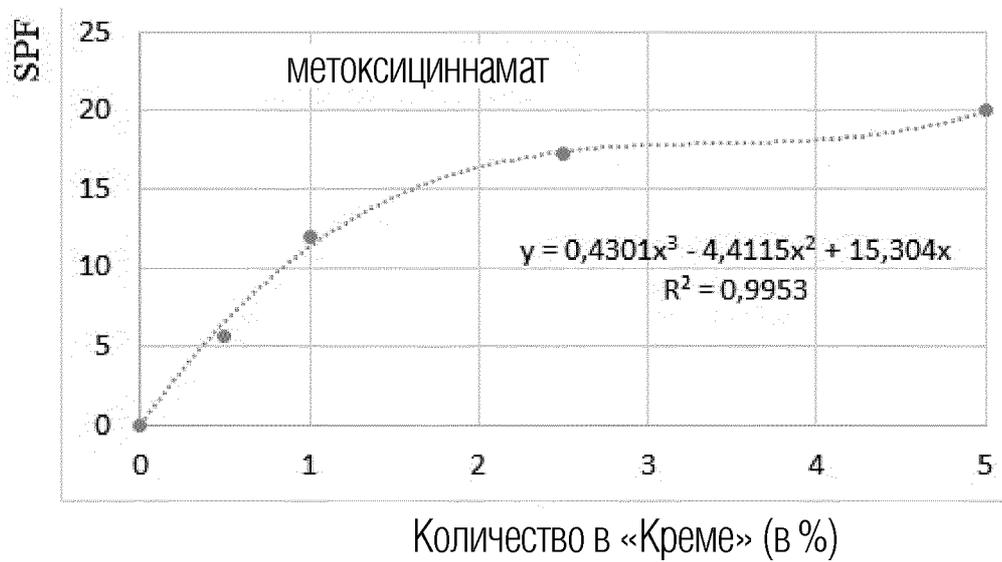
ФИГ. 11



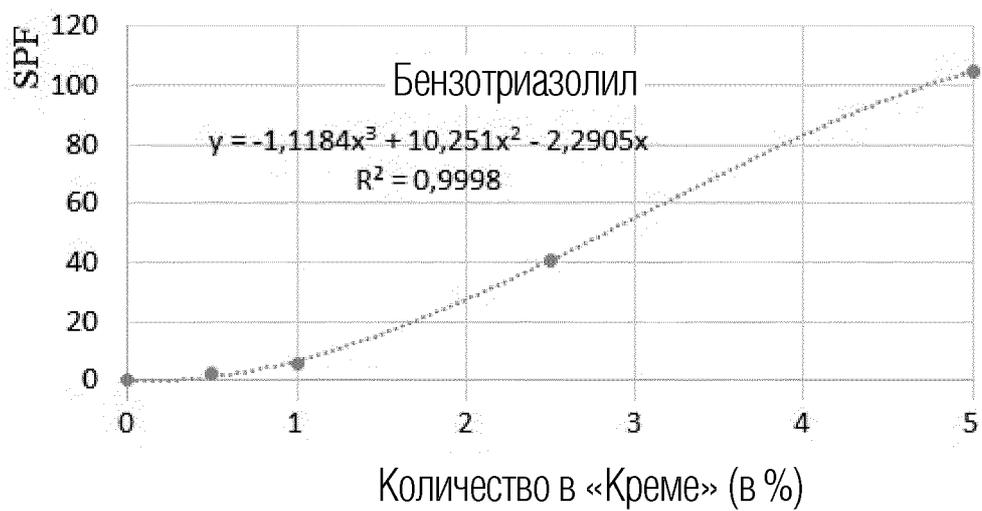
ФИГ. 12



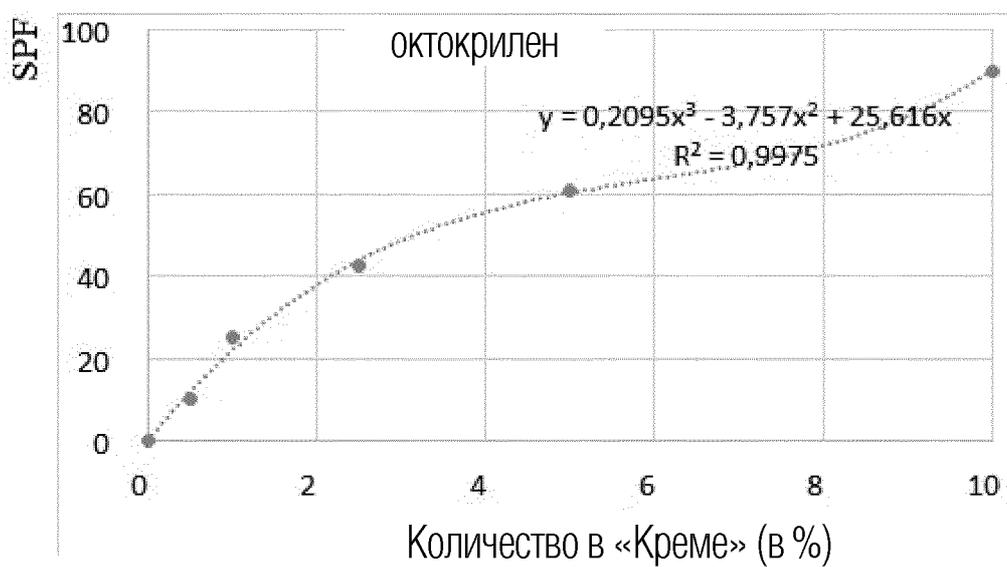
ФИГ. 13



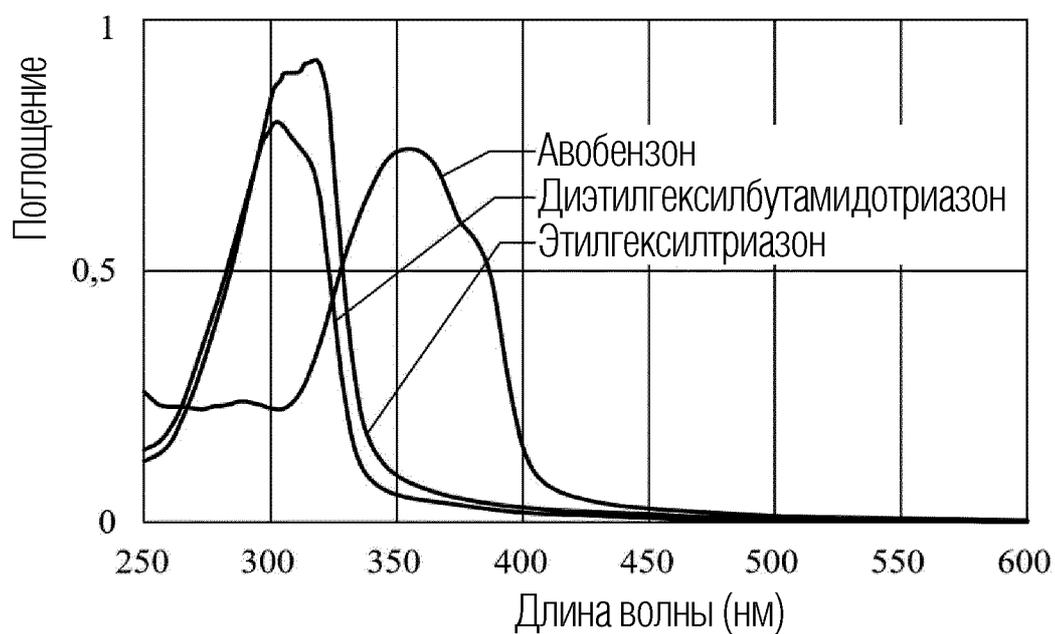
ФИГ. 14



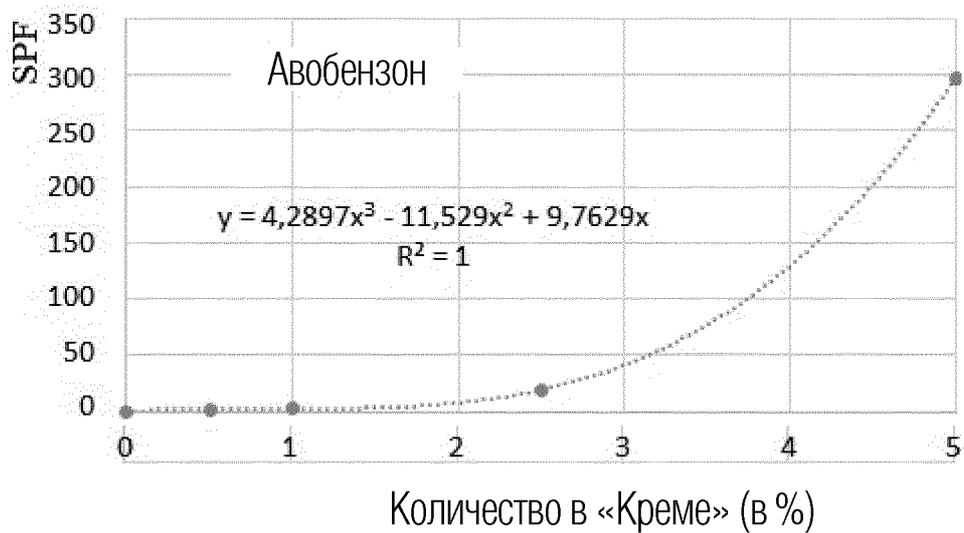
ФИГ. 15



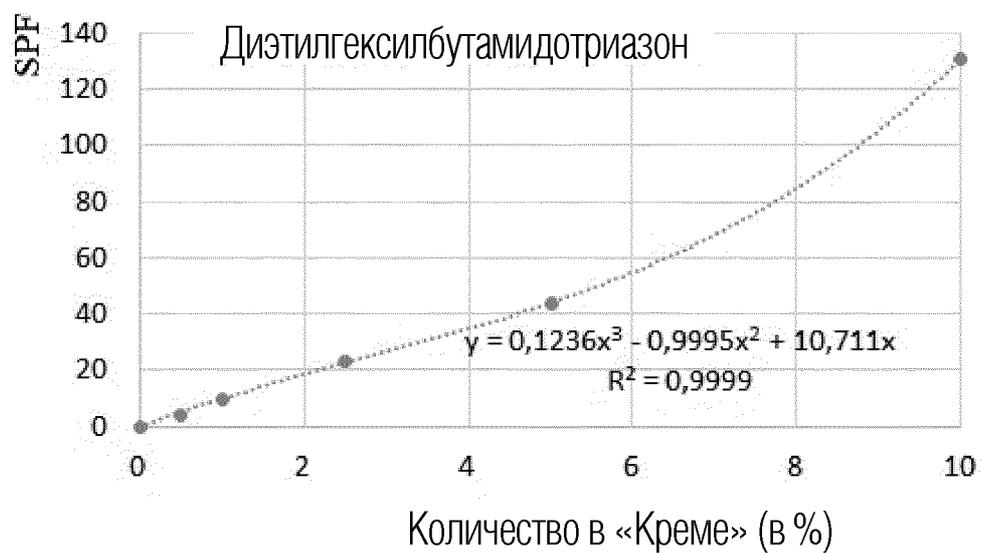
ФИГ. 16



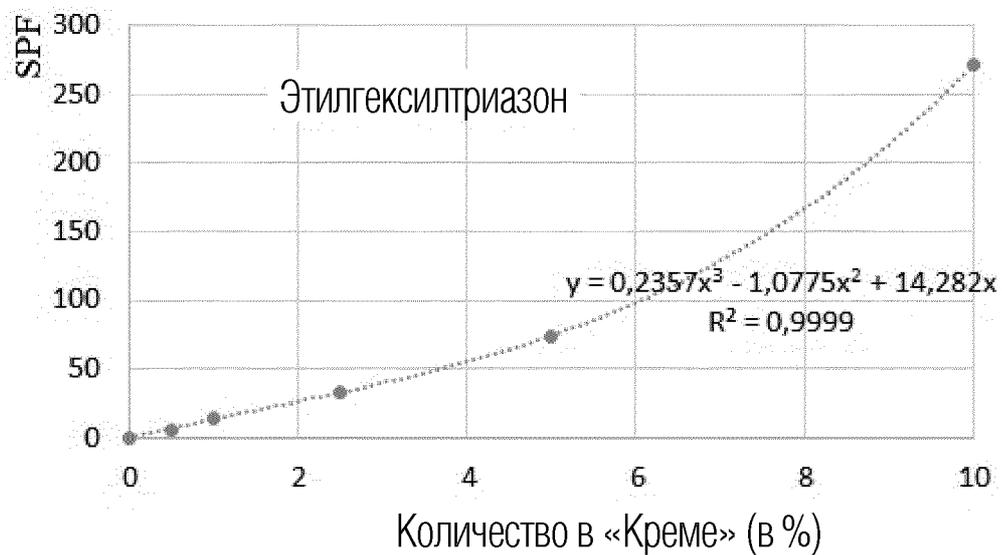
ФИГ. 17



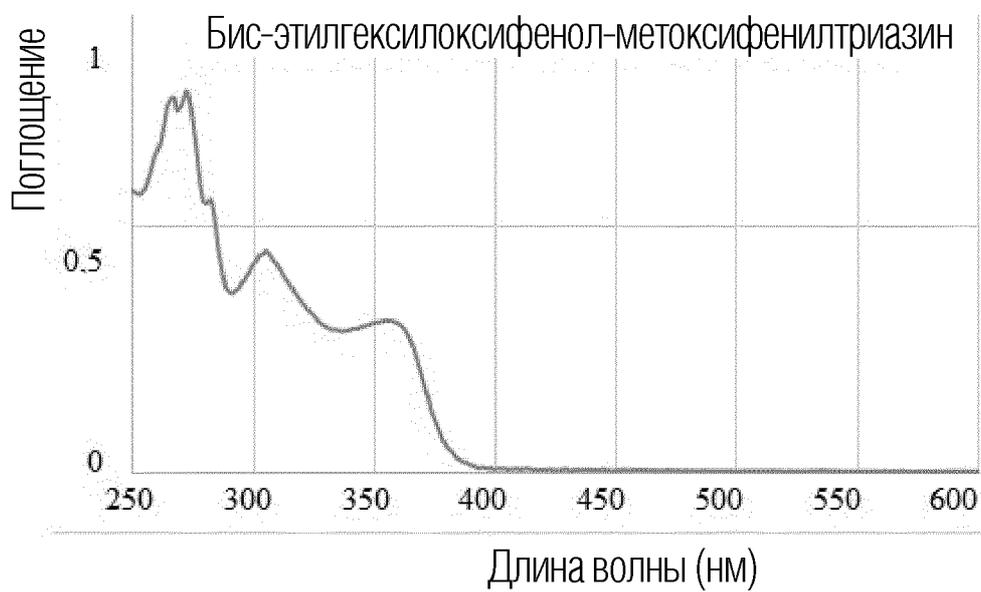
ФИГ. 18



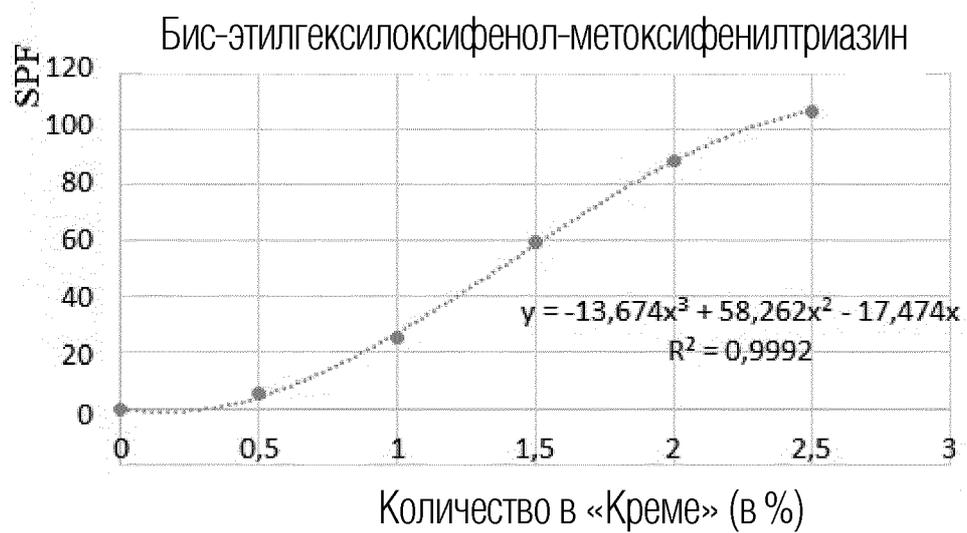
ФИГ. 19



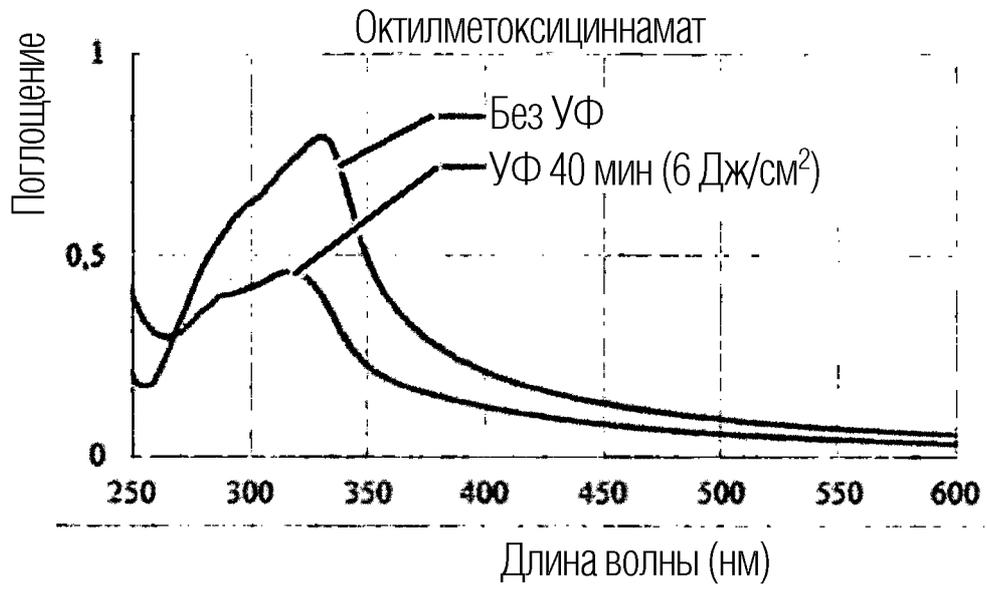
ФИГ. 20



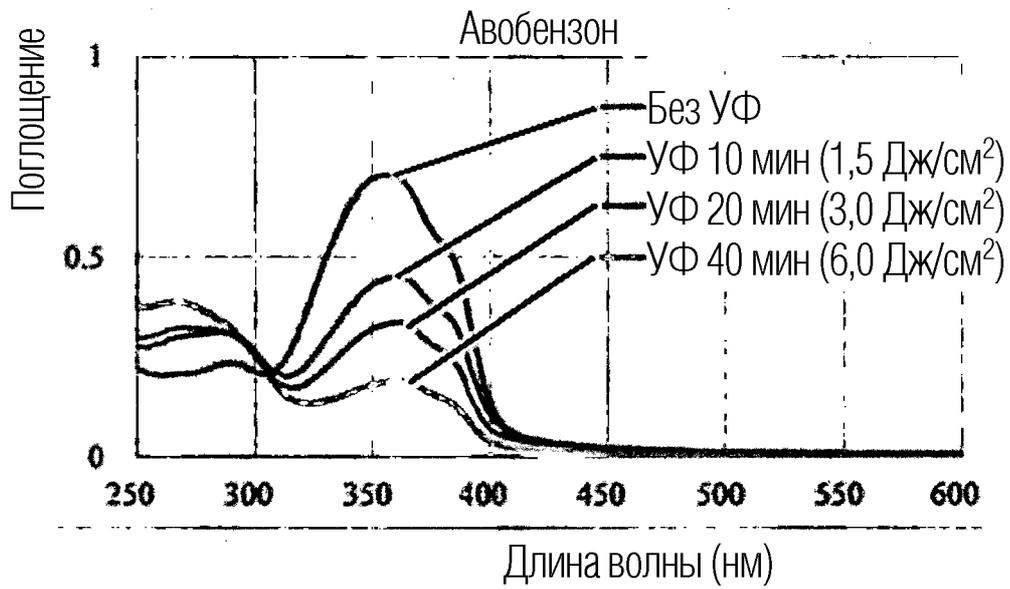
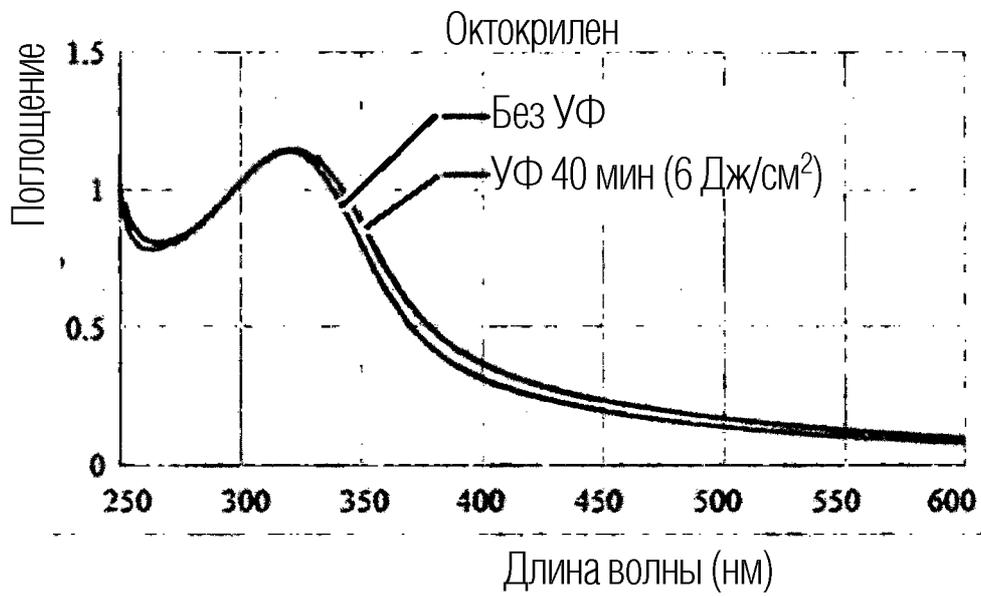
ФИГ. 21



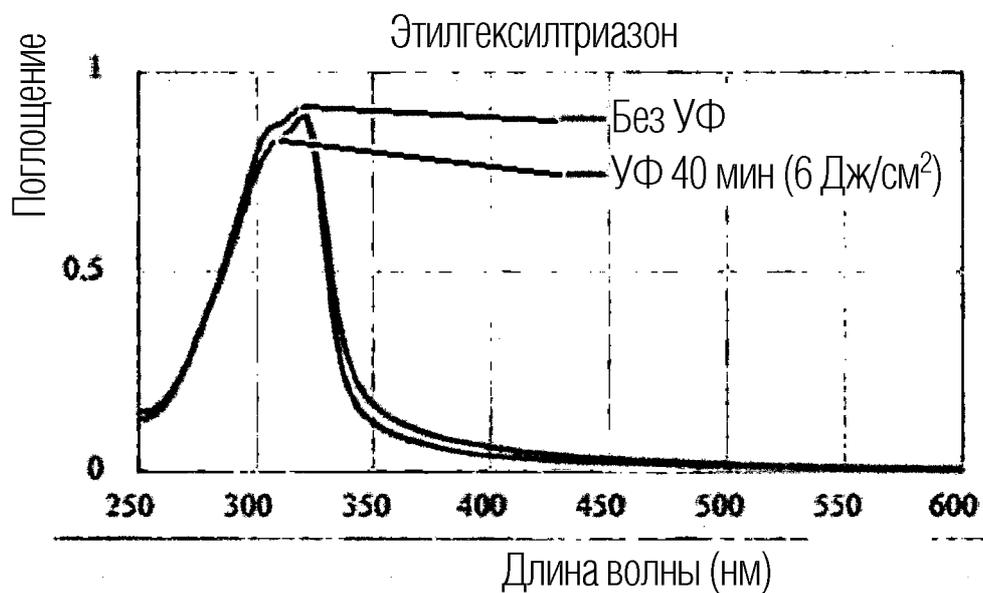
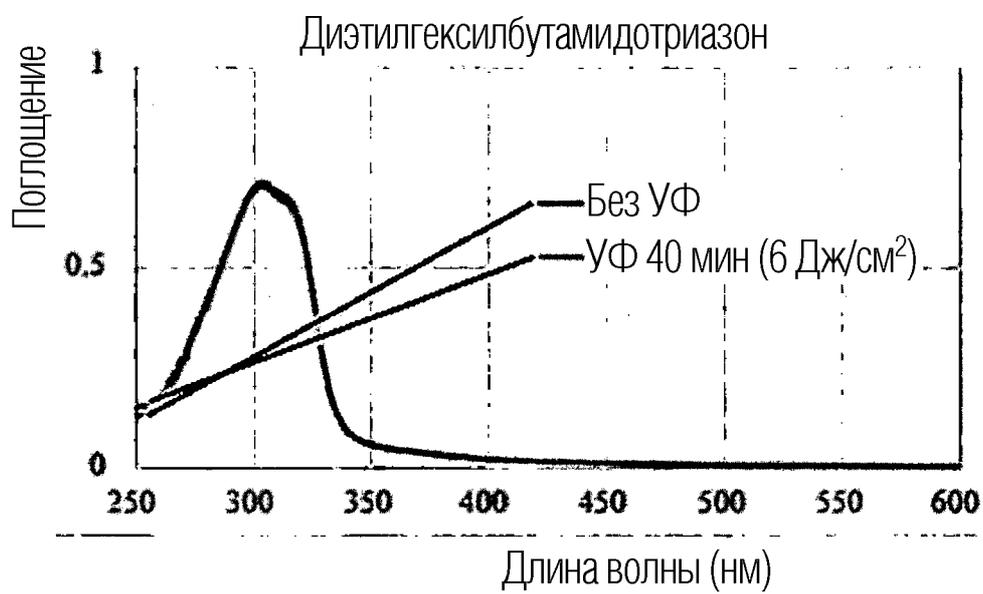
ФИГ. 22



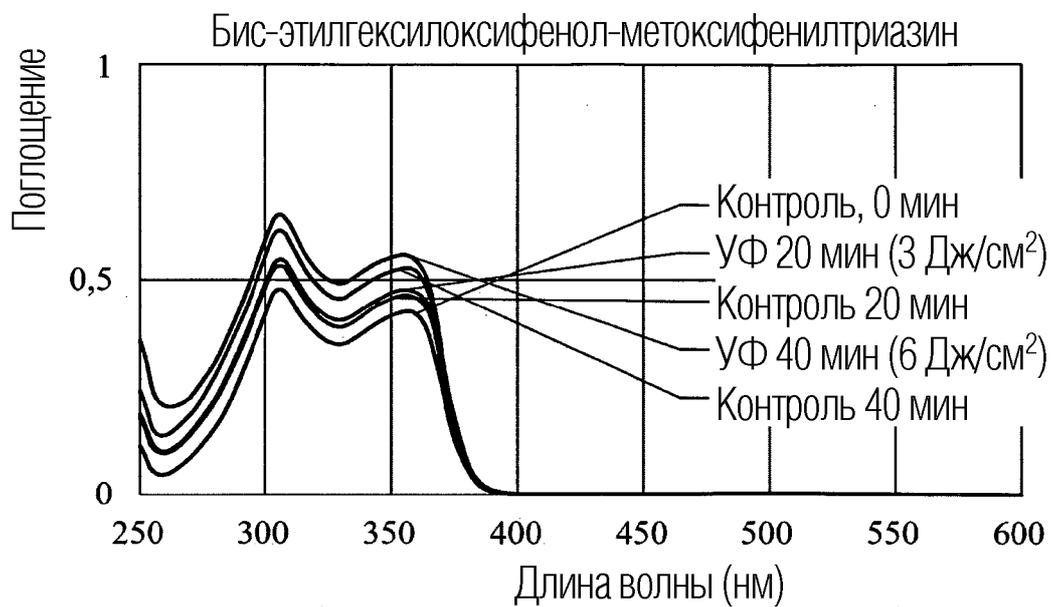
ФИГ. 23



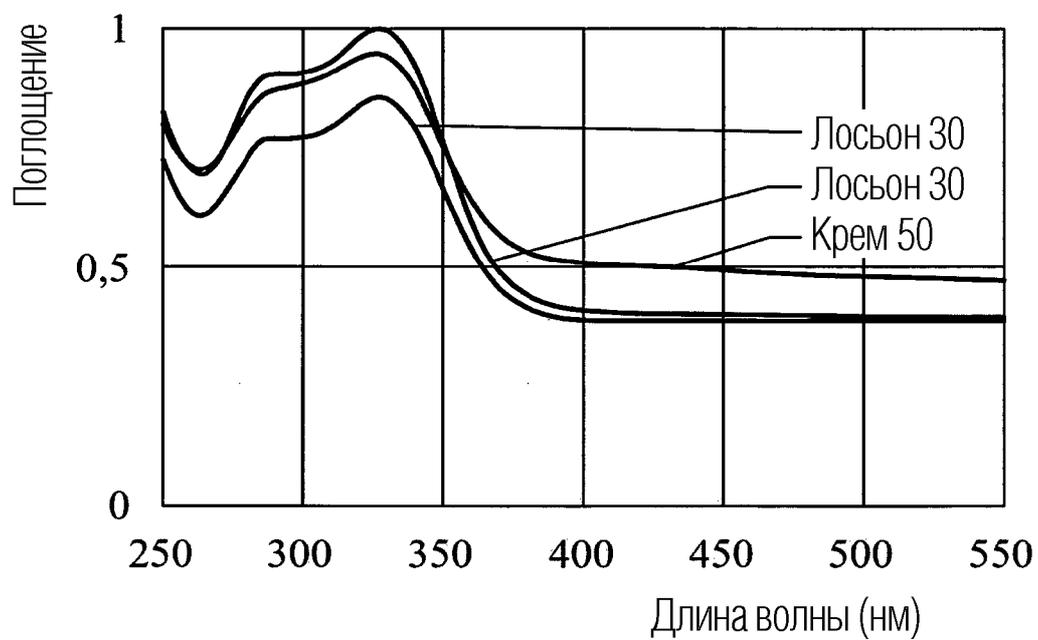
ФИГ. 23 Продолжение



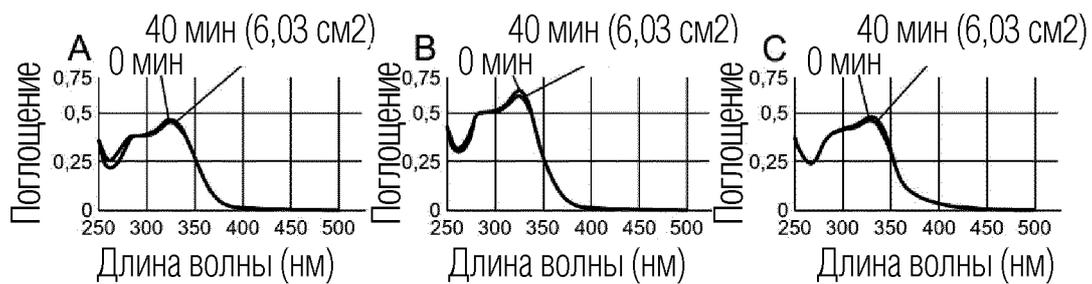
ФИГ. 23 Продолжение



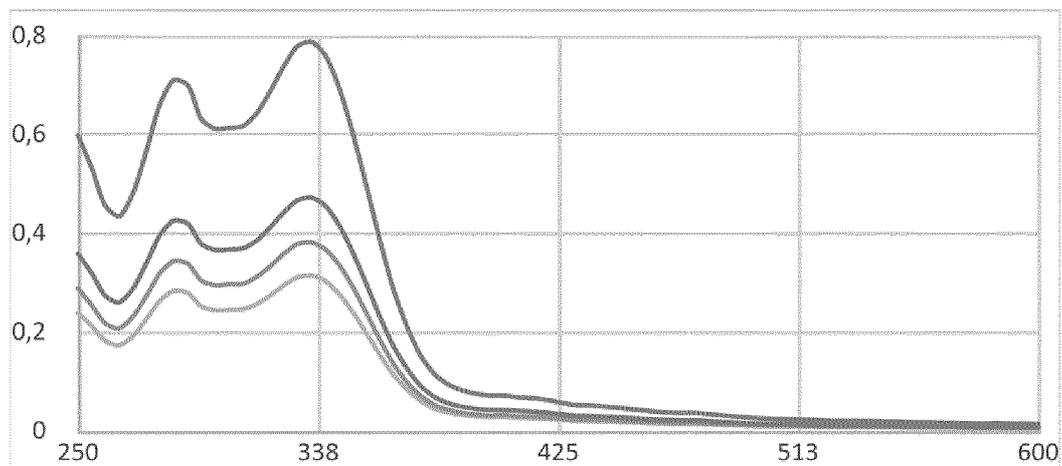
ФИГ. 23 Продолжение



ФИГ. 24

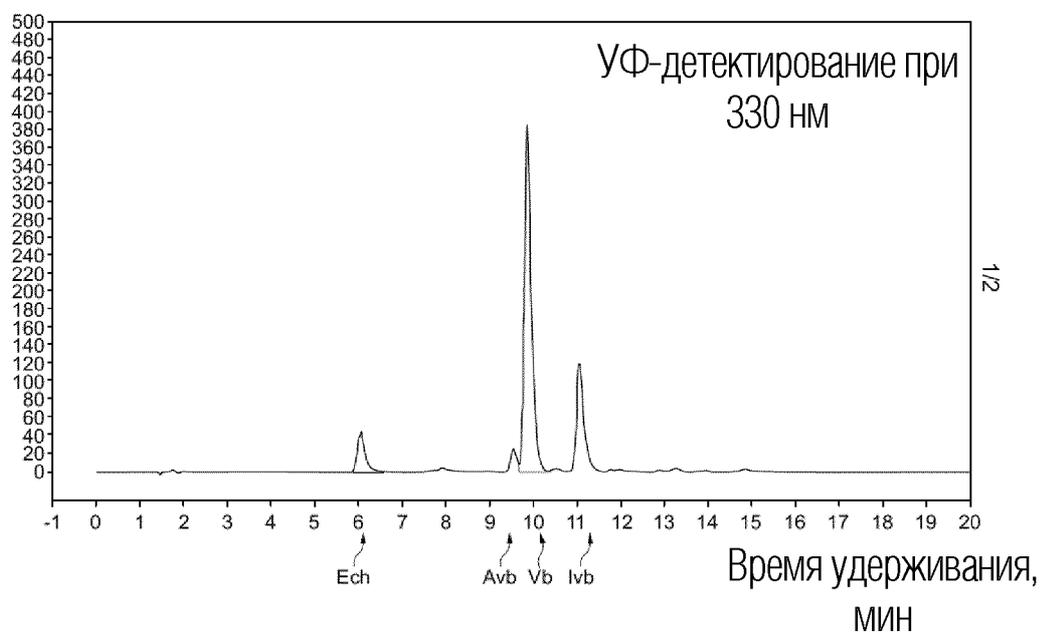


ФИГ. 25



ФИГ. 26

17/17



ФИГ. 27