



(51) МПК

*A61K 36/81* (2006.01)*A61K 8/00* (2006.01)*A61K 36/58* (2006.01)*A61K 9/00* (2006.01)*A61P 17/12* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012107715/15, 29.02.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
29.02.2012

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
12.05.2011 CN 100116659

(43) Дата публикации заявки: 10.09.2013 Бюл. № 25

(45) Опубликовано: 20.02.2015 Бюл. № 5

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: US 6,699,486 В1, 31.03.2004. US 2004/0247715 А1, 9.12.2004. EP 0020029, 10.12.1980. Минина С.А. и др. "Химия и технология фитопрепаратов: учебное пособие " 2-у изд., - М.:ГЭОТАР-Медиа", с.327

Адрес для переписки:

109012, Москва, ул. Ильинка, 5/2, ООО  
"Союзпатент", И.С. Саломатиной

(72) Автор(ы):

КО Коу-Вха (TW),  
ШЭУ Хамм-Мин (TW)

(73) Патентообладатель(и):

Джи ЭНД И ХЁРБАЛ  
БАЙОТЕКНОЛОДЖИ КО., ЛТД. (TW)

(54) ЛЕЧЕНИЕ И/ЛИ ПРЕДОТВРАЩЕНИЕ ВОСПАЛЕНИЯ И ФОТОПОВРЕЖДЕНИЯ КОЖИ И ФОТОЗАЩИТА КОЖИ С ПОМОЩЬЮ ВОДОРАСТВОРИМОГО ЭКСТРАКТА РАСТЕНИЯ РОДА SOLANUM

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции для предотвращения и лечения воспаления и фотоповреждения кожи, включающей водорастворимый экстракт растения рода

Solarium. Композиция также обладает фотозащитным действием и может применяться в качестве косметической композиции. 2 н. и 4 з.п. ф-лы, 2 табл.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*A61K 36/81* (2006.01)  
*A61K 8/00* (2006.01)  
*A61K 36/58* (2006.01)  
*A61K 9/00* (2006.01)  
*A61P 17/12* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2012107715/15, 29.02.2012**

(24) Effective date for property rights:  
**29.02.2012**

Priority:

(30) Convention priority:  
**12.05.2011 CN 100116659**

(43) Application published: **10.09.2013 Bull. № 25**

(45) Date of publication: **20.02.2015 Bull. № 5**

Mail address:

**109012, Moskva, ul. Il'inka, 5/2, OOO "Sojuzpatent",  
I.S. Salomatinoj**

(72) Inventor(s):

**KO Kou-Vkha (TW),  
ShEhU Khamm-Min (TW)**

(73) Proprietor(s):

**Dzhi EhND I KhERBAL  
BAJOTEKNOLODZhi KO., LTD. (TW)**

(54) **TREATING AND/OR PREVENTING SKIN INFLAMMATION AND PHOTOPATHY AND SKIN PHOTOPROTECTION BY MEANS OF WATER-SOLUBLE HERBAL EXTRACT OF SOLANUM**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: present invention refers to a pharmaceutical composition for preventing and treating a skin inflammation and photopathy containing a water-

soluble herbal extract of Solarium.

EFFECT: composition possesses the photoprotective action and can be used as a cosmetic composition.  
6 cl, 2 tbl

**C 2  
4  
8  
0  
4  
1  
4  
5  
2  
R U**

**R U  
2  
5  
4  
1  
8  
0  
4  
C 2**

Ссылки на близкородственные заявки

Настоящее изобретение заявляет приоритет тайваньской заявки №100116659, зарегистрированной 12 мая 2011 г.

Область техники, к которой относится изобретение

5 Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции для предотвращения и лечения воспаления и фотоповреждения кожи, содержащей водорастворимый экстракт растения рода *Solanum*, Композиция обладает также фотозащитным действием и может применяться в качестве косметической композиции.

Уровень техники

10 В аэробных организмах кислород применяется при аэробном дыхании, производя таким образом реактивные формы кислорода (ROS) и свободные радикалы. Ультрафиолет (УФ), ионизирующая радиация и отдельные лекарства или ксенобиотики также стимулируют продукцию ROS и свободных радикалов. По всей вероятности, ROS и свободные радикалы взаимодействуют с компонентами внутри клетки (например, ДНК, белком и липидами, и т.д.) благодаря своей нестабильности, приводя таким образом к окислительному повреждению клеток и тканей.

Обычно антиоксидантные ферменты образуют в организмах регулируемую систему для защиты клеток и тканей от окислительного повреждения. Окислительный стресс возникает, когда количество ROS и свободных радикалов превосходит антиоксидантную емкость, предоставляемую защитной системой клеток или тканей. Показано, что окислительный стресс играет важную роль в патологическом процессе воспаления и фотоповреждения (Simon R. et al. (2010), *Free radical biology and Medicine*, 49:1603-1616; Afaq F. et al. (2006), *Experimenta Dermatology*, 15:678-684).

Воспаление представляет собой защитный ответ клеток или тканей на патоген или 25 внешний раздражающий стимул. Во время воспаления клетки или ткани на поврежденном участке усиливают экспрессию специфических генов при участии NF-κB с последующей повышенной экспрессией хемокинов, что приводит к аккумуляции многоядерных лейкоцитов, моноцитов, макрофагов и тучных клеток на участке повреждения (т.е. инфильтрации). Вовлеченные в этот процесс макрофаги активируются 30 липополисахаридами (LPS), которые экспрессируются на поверхности патогена. Активированные макрофаги индуцируют экспрессию провоспалительных генов (включая ген циклооксигеназы-2, COX-2, и ген индуцибельной синтазы окиси азота, iNOS) для усиления воспалительного ответа. Дополнительно, активированные макрофаги высвобождают ROS и свободные радикалы для уничтожения патогенов. 35 Однако продолжительный воспалительный ответ приводит к окислительному стрессу и повреждению из-за избыточного накопления ROS и свободных радикалов, приводя таким образом к хроническому воспалению и, в конце концов, к возможности хронического заболевания или рака.

Фотоповреждение происходит, когда кожу организма подвергают действию 40 ультрафиолета (особенно ультрафиолета типа B, УФ-B), приводящему к повреждению кожи. Облучение УФ радиацией ускоряет накопление ROS и свободных радикалов в клетках кожи, увеличивает окислительный стресс в коже и индуцирует экспрессию матриксных металлопротеиназ (MMP), что приводит к окислительному фотоповреждению. Симптомы окислительного фотоповреждения включают 45 телангиоэктазию, истончение эпидермиса, уменьшение коллагеновых волокон и эластических волокон, сухость, образование морщин, воспалительную инфильтрацию клеток, преждевременное старение кожи и патологическое изменение кожи.

В последние годы доказано, что фитохимические и фитохемопревентивные агенты,

полученные из растений, обладают антиоксидантными противовоспалительными свойствами и уменьшают фотоповреждение. Примеры фитохимических агентов включают полифенолы зеленого чая (GTPs), эпигаллокатехингаллат (EGCG), генистеин, ресвератрол, куркумин, апигенин, ликопен и т.д. (Adhami VM et al. (2008) Photochem. Photobiol, 84:489-500). Показано, что фитохимические агенты более безопасны для клинического применения без нежелательных побочных эффектов и они привлекли внимание в области медицинских исследований.

Растения рода *Solanum* включают *Solanum incanum* L., синоним *Solanum undatum*, *Solanum incanum* Ruiz. and Pav., *Solanum coagulans* Forsskal, горькое яблоко по-английски), *Solanum indicum*, *Solanum nigrum* (Long Kui по-китайски, черная ночная тень по-английски), *Solanum capsicastrum* (ложная иерусалимская вишня по-английски), *Solanum xanthocarpum*, *Solanum melongena*, *Solanum coagulans*, *Solanum tuberosum*, *Solanum sodomium* (содомское яблоко в Австралии), *Solanum furburosum*, *Solanum aculeastrum*, *Solanum lycocarpum*, *Solanum khasianum*, *Solanum suaveolens*, *Solanum uporo*, *Solanum abutiloides*, *Solanum coccineum*, *Solanum unguiculatum*, *Solanum robustum*, *Solanum anguivi*, *Solanum platanifolium*, *Solanum mammosum* и т.д. Известно, что из растений рода *Solanum* можно экстрагировать стероидные алкалоиды, обычно включающие соласонин и соламаргин.

В заявке US 7078063 B2, выданной авторам настоящего изобретения, раскрыт водорастворимый экстракт растения рода *Solanum*, конкретно *Solanum incanum* L., включающий по меньшей мере 60 вес.% соласонина и соламаргина, и способ получения водорастворимого экстракта. Патент таким образом включен посредством ссылки полностью.

В вышеуказанном патенте US авторы обнаружили, что водорастворимый экстракт может ингибировать рост опухолевых/раковых клеток (конкретно, клеток опухоли печени, клеток рака легкого и клеток рака груди). В этом изобретении изобретатели неожиданно обнаружили, что водорастворимый экстракт эффективно лечит и/или предотвращает воспаление и фотоповреждение кожи.

#### Раскрытие изобретения

Таким образом, в первом аспекте настоящее изобретение предоставляет фармацевтическую композицию для предотвращения и лечения фотоповреждения кожи, включающую водорастворимый экстракт растения рода *Solanum*, где водорастворимый экстракт включает соламаргин и соласонин.

Во втором аспекте изобретение предоставляет способ предотвращения и лечения фотоповреждения кожи, включающий применение к субъекту, который в этом нуждается, водорастворимого экстракта растения рода *Solanum*, где водорастворимый экстракт включает соламаргин и соласонин.

В третьем аспекте изобретение относится к применению водорастворимого экстракта растения рода *Solanum* для получения лекарства для предотвращения и лечения фотоповреждения кожи, где водорастворимый экстракт включает соламаргин и соласонин.

В четвертом аспекте изобретение предоставляет косметическую композицию, включающую водорастворимый экстракт растения рода *Solanum*, где водорастворимый экстракт включает соламаргин и соласонин.

В пятом аспекте изобретение предоставляет фармацевтическую композицию для предотвращения и лечения воспаления, включающую водорастворимый экстракт растения рода *Solanum*, где указанный водорастворимый экстракт включает по меньшей мере 60% соламаргина и соласонина.

В шестом аспекте изобретение предоставляет способ для предотвращения и лечения

воспаления, включающий применение к субъекту, который в этом нуждается, такого лечения водорастворимым экстрактом растения рода *Solanum*, где указанный водорастворимый экстракт включает соламаргин и соласонин.

В седьмом аспекте изобретение относится к применению водорастворимого экстракта растения рода *Solanum* для получения лекарства для предотвращения и лечения воспаления, где водорастворимый экстракт - соламаргин и соласонин.

Краткое описание чертежей

Другие свойства и преимущества настоящего изобретения станут очевидными из нижеследующего детального описания предпочтительных осуществлений изобретения со ссылкой на сопровождающие чертежи, где

Фигура 1 представляет собой вестерн-блот, показывающий экспрессию COX-2 в клетках RAW264.7 после индуцированного LPS воспалительного ответа. Клетки нормальной контрольной группы не обрабатывают LPS и водорастворимым экстрактом растения рода *Solanum*, тогда как клетки патологической контрольной группы обрабатывают 100 нг/мл LPS. Экспериментальные группы 1-6 обрабатывают различными концентрациями водорастворимого экстракта (0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1 и 5 мкг/мл) вместе с 100 нг/мл LPS.

Фигура 2 показывает трансэпидермальную потерю воды (TEWL) в дорзальной коже безволосых мышей линии HRS/J в нормальной контрольной группе, патологической контрольной группе и экспериментальных группах 1 и 2 через 6 недель облучения УФ-В. Безволосые мыши HRS/J в нормальной контрольной группе не подвергаются никакому воздействию, включая облучение УФ-В и обработку водорастворимым экстрактом. Безволосых мышей HRS/J в патологической контрольной группе подвергают облучению УФ-В и не обрабатывают водорастворимым экстрактом. В экспериментальной группе 1 безволосых мышей HRS/J подвергают воздействию УФ-В и обрабатывают раствором *Solanum incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт. В экспериментальной группе 2 безволосых мышей HRS/J подвергают воздействию УФ-В и обрабатывают гелем *Solanum incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт.

Фигура 3 представляет собой вестерн-блот, показывающий экспрессию NF-κB, COX-2 и iNOS в дорзальной кожной ткани безволосых мышей HRS/J через 60 недель экспериментального периода. Безволосые мыши HRS/J в нормальной контрольной группе не подвергаются никакому воздействию, включая облучение УФ-В и обработку водорастворимым экстрактом. Безволосых мышей HRS/J в патологической контрольной группе подвергают облучению УФ-В и не обрабатывают водорастворимым экстрактом. В экспериментальной группе 2 безволосых мышей HRS/J подвергают воздействию УФ-В и обрабатывают гелем *Solanum incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт.

Фигура 4 демонстрирует иммуногистохимию экспрессии NF-κB в дорзальной кожной ткани безволосых мышей HRS/J в конце 60 недель после первого облучения УФ-В. Безволосые мыши HRS/J в нормальной контрольной группе не подвергаются никакому воздействию, включая облучение УФ-В и обработку водорастворимым экстрактом. Безволосых мышей HRS/J в патологической контрольной группе подвергают облучению УФ-В и не обрабатывают водорастворимым экстрактом. В экспериментальной группе 2 безволосых мышей HRS/J подвергают воздействию УФ-В и обрабатывают гелем *Solanum incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт.

Фигура 5 демонстрирует окрашивание толуидиновым синим дорзальной кожной ткани безволосых мышей HRS/J в конце 60 недель экспериментального периода.

Безволосые мыши HRS/J в нормальной контрольной группе не подвергаются никакому воздействию, включая облучение УФ-В и обработку водорастворимым экстрактом. Безволосых мышей HRS/J в патологической контрольной группе подвергают облучению УФ-В и не обрабатывают водорастворимым экстрактом. В экспериментальной группе 2 безволосых мышей HRS/J подвергают воздействию УФ-В и обрабатывают гелем *Solanum incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт. Стрелки указывают на расположение инфильтрированных тучных клеток.

Фигура 6 представляет собой диаграмму, показывающую среднее количество тучных клеток в дорзальной кожной ткани безволосых мышей HRS/J в нормальной контрольной группе, патологической контрольной группе и экспериментальной группе 2 через 60 недель экспериментального периода. Безволосые мыши HRS/J в нормальной контрольной группе не подвергаются никакому воздействию, включая облучение УФ-В и обработку водорастворимым экстрактом. Безволосых мышей HRS/J в патологической контрольной группе подвергают облучению УФ-В и не обрабатывают водорастворимым экстрактом. В экспериментальной группе 2 безволосых мышей HRS/J подвергают воздействию УФ-В и обрабатывают гелем *Solanum incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт. «\*» означает  $p < 0,05$  между экспериментальной группой 2 и нормальной контрольной группой. «\*\*\*» означает  $p < 0,01$  между экспериментальной группой 2 и патологической контрольной группой. «####» означает  $p < 0,001$  между патологической контрольной группой и нормальной контрольной группой.

Фигура 7 представляет собой график, демонстрирующий среднее количество опухолей у мышей HRS/J, образованных в различные моменты времени в течение 60 недель экспериментального периода. Безволосых мышей HRS/J в патологической контрольной группе подвергают фотоповреждению, индуцированному облучением УФ-В, и не обрабатывают водорастворимым экстрактом. В экспериментальной группе 1 безволосых мышей HRS/J подвергают воздействию УФ-В и обрабатывают раствором *Solarium incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт. В экспериментальной группе 2 безволосых мышей HRS/J подвергают воздействию УФ-В и обрабатывают гелем *Solarium incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт. «\*» означает  $p < 0,05$  между экспериментальной группой 2 и патологической контрольной группой. «\*\*» означает  $p < 0,01$  между экспериментальной группой 2 и патологической контрольной группой.

Фигура 8 представляет собой график, показывающий средний размер опухолей у безволосых мышей HRS/J в различные моменты времени в течение 60 недель экспериментального периода. Безволосых мышей HRS/J в патологической контрольной группе подвергают фотоповреждению, индуцированному облучением УФ-В, и не обрабатывают водорастворимым экстрактом. В экспериментальной группе 1 безволосых мышей HRS/J подвергают воздействию УФ-В и обрабатывают раствором *Solarium incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт. В экспериментальной группе 2 безволосых мышей HRS/J подвергают воздействию УФ-В и обрабатывают гелем *Solanum incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт. «#» означает  $p < 0,05$  между экспериментальной группой 1 и патологической контрольной группой. «##» означает  $p < 0,01$  между экспериментальной группой 1 и патологической контрольной группой. «###» означает  $p < 0,001$  между экспериментальной группой 1 и патологической контрольной группой. «\*\*» означает  $p < 0,01$  между экспериментальной группой 2 и патологической контрольной группой. «\*\*\*» означает  $p < 0,001$  между экспериментальной группой 2 и патологической контрольной группой.

Фигура 9 представляет собой диаграмму, показывающую время восстановления при щипковом тесте у безволосых мышей HRS/J через 60 недель экспериментального

периода. Безволосые мыши HRS/J в нормальной контрольной группе не подвергаются никакому воздействию, включая облучение УФ-В и обработку водорастворимым экстрактом. Безволосых мышей HRS/J в патологической контрольной группе подвергают облучению УФ-В и не обрабатывают водорастворимым экстрактом. В

5 экспериментальной группе 2 безволосых мышей HRS/J подвергают воздействию УФ-В и обрабатывают гелем *Solanum incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт. «\*\*\*» означает  $p < 0,001$  между экспериментальной группой 2 и патологической контрольной группой. «###» означает  $p < 0,001$  между патологической контрольной группой и нормальной контрольной группой.

10 Фигура 10 показывает изображения эластических волокон дорзальной кожной ткани, окрашенной раствором резорцина-фуксина, железного гематоксилина Вейгерта и раствором Ван Гизона. Безволосых мышей HRS/J в патологической контрольной группе подвергают фотоповреждению, индуцированному облучением УФ-В, и не обрабатывают водорастворимым экстрактом. В экспериментальной группе 2 безволосых мышей HRS/J  
15 подвергают воздействию УФ-В и обрабатывают гелем *Solanum incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт. Стрелки указывают на положение участков денатурации эластических волокон.

Фигура 11 показывает среднее число опухолей у безволосых мышей HRS/J в течение экспериментального периода. Безволосых мышей HRS/J подвергают действию радиации  
20 УФ-В и обрабатывают впитывающимся кремом AIROL в группе, получавшей третиноин. В группе, получавшей гель *Solanum incanum* L., безволосых мышей HRS/J подвергают действию радиации УФ-В и обрабатывают гелем *Solanum incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт.

Фигура 12 представляет собой график, показывающий трансэпидермальную потерю  
25 воды (TEWL) в течение экспериментального периода. Безволосых мышей HRS/J в патологической контрольной группе подвергают облучению УФ-В и не обрабатывают водорастворимым экстрактом. Безволосых мышей HRS/J в группе, получавшей третиноин, подвергают действию радиации УФ-В и обрабатывают впитывающимся кремом AIROL в третиноидной группе. В группе, получавшей гель *Solanum incanum* L.,  
30 безволосых мышей HRS/J подвергают действию радиации УФ-В и обрабатывают гелем *Solanum incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт. «\*» означает  $p < 0,05$  между группой, получавшей третиноин, и группой, получавшей гель *Solanum incanum* L.

Фигура 13 представляет собой график, показывающий содержание воды в дорзальной  
35 коже безволосых мышей HRS/J в течение экспериментального периода. Безволосых мышей в патологической контрольной группе подвергают фотоповреждению, индуцированному облучением УФ-В, и не обрабатывают водорастворимым экстрактом. Безволосых мышей HRS/J в группе, получавшей третиноин, подвергают действию радиации УФ-В и обрабатывают впитывающимся кремом AIROL. В группе, получавшей  
40 гель *Solanum incanum* L., безволосых мышей HRS/J подвергают действию радиации УФ-В и обрабатывают гелем *Solanum incanum* L., содержащим водорастворимый экстракт. «\*» означает  $p < 0,05$  между группой, получавшей третиноин, и группой, получавшей гель *Solanum incanum* L.

#### Осуществление изобретения

Следует понимать, что если в данном описании ссылаются на какую-либо публикацию  
45 прототипа публикации, то такая ссылка не означает, что публикация образует часть общепринятого основного знания в данной области техники в Тайване или любой другой стране.

Для целей данного описания следует ясно понимать, что слово «включающий»

означает «включая, но не ограничиваясь этим» и что слова «включает», «содержит» и их варианты имеют соответствующее значение.

Если не указано другое, все технические и научные термины, применяемые здесь, имеют общепринятое значение, понятное специалисту в области техники, к которой относится изобретение. Специалист в данной области техники узнает многие способы и материалы, сходные или эквивалентные описанным здесь, которые можно применять на практике данного изобретения. Действительно, данное изобретение никоим образом не ограничено описанными способами и материалами. Для ясности здесь применены следующие определения.

Настоящее изобретение предоставляет фармацевтическую композицию для предотвращения и лечения воспаления, включающую водорастворимый экстракт растения рода *Solanum*. Водорастворимый экстракт включает соламаргин и соласонин. Предпочтительно, водорастворимый экстракт включает по меньшей мере 60 вес.% соламаргина и соласонина, более предпочтительно, по меньшей мере 60-90 вес.% соламаргина и соласонина.

Способ получения водорастворимого экстракта раскрыт в US 7078063 B2 и включает следующие стадии:

(а) подвергание растительного материала растения рода *Solanum* экстракции с применением кислого водного раствора со значением pH 3-5, в результате чего получается водный раствор;

(б) доведение pH водного раствора, полученного на стадии (а), до pH 8-10 с помощью основания, в результате чего образуется осадок;

(в) промывка осадка, полученного на стадии (б), водой с последующим высушиванием для получения сухого продукта;

(г) смешивание сухого продукта, полученного на стадии (в), с хлороформом с последующим добавлением соответствующего количества 100% спирта для получения хлороформ-спиртовой смеси;

(д) смешивание хлороформ-спиртовой смеси, полученной на стадии (г), с водно-спиртовым раствором, имеющим заданное соотношение воды и спирта, для получения смеси, содержащей слой с хлороформом и слой без хлороформа;

(е) удаление слоя, содержащего хлороформ, из смеси, полученной на стадии (д), с последующим добавлением соответствующего количества воды и

(ж) получение супернатанта из смеси, полученной на стадии (е), с последующим высушиванием супернатанта, где образующийся конечный продукт способен сразу растворяться в воде с образованием желтоватого чистого и прозрачного водного раствора.

Предпочтительно, водорастворимый экстракт растения рода *Solanum* получают по меньшей мере из плодов, корней, стеблей и листьев растения рода *Solanum*. Растение рода *Solanum* измельчают при предварительной обработке. В предпочтительном осуществлении настоящего изобретения растительный материал, применяемый на стадии (а), представляет собой плоды растения рода *Solanum*.

Авторы изобретения обнаружили, что определенные факторы могут влиять на содержание и соотношение соласонина и соламаргина в водорастворимом экстракте, полученном по вышеописанному способу. Эти факторы включают вид растения рода *Solanum* и части (часть) растения, применяемые в процессе экстракции, а также типы применяемого спирта и основания. Поэтому специалист в данной области техники может получить требуемый водорастворимый экстракт путем подбора соответствующих видов растения в сочетании с соответствующими условиями получения экстракта.

Предпочтительно, водорастворимый экстракт получают из растения рода *Solanum*, выбранного из группы, включающей *Solanum incanum* L., *Solanum indicum*, *Solanum nigrum*, *Solanum capsicastrum*, *Solanum xanthocarpum*, *Solanum melongena*, *Solanum coagulans*, *Solanum tinigrum*, *Solanum sodomeum*, *Solanum turburosum*, *Solanum aculeastrum*, *Solanum lycocarpum*, *Solanum khasianum*, *Solanum suaveolens*, *Solanum uporo*, *Solanum abutiloides*, *Solanum coccineum*, *Solanum unguiculatum*, *Solanum robustum*, *Solanum anguivi*, *Solanum platanifolium*, *Solanum mammosum*. В предпочтительном осуществлении настоящего изобретения водорастворимый экстракт получают из *Solanum incanum* L.

В предварительных экспериментах данные *in vitro* показывают, что водорастворимый экстракт растения рода *Solanum* может ингибировать воспалительный ответ, индуцированный LPS. Доказано также, что после обработки безволосых мышей с индуцированным УФ-В воспалением водорастворимым экстрактом растения рода *Solanum* экспрессия NF-κB, COX-2 и iNOS в их кожной ткани существенно снижается вместе со снижением инфильтрации тучных клеток и воспалительного ответа.

Таким образом, настоящее изобретение предоставляет способ предотвращения и лечения воспаления, включающий применение к субъекту, который в таком лечении нуждается, водорастворимого экстракта или фармацевтической композицией.

Пути введения вышеуказанной фармацевтической композиции, предоставляемой настоящим изобретением, включают, не ограничиваясь этим, оральное, топикальное и парентеральное введение.

Фармацевтическая композиция, предоставленная данным изобретением, может быть приготовлена в виде лекарственной формы для орального введения с применением технологии, хорошо известной специалисту в данной области техники. Примеры лекарственной формы для орального введения включают, не ограничиваясь этим, асептический порошок, таблетку, лепешку, пастилку, осадок, капсулу, диспергируемый порошок или гранулы, раствор, суспензию, эмульсию, сироп, эликсир, густую массу и т.д.

Фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению дополнительно может включать фармацевтически приемлемый носитель, который широко применяется при производстве лекарств.

Фармацевтически приемлемый носитель включает один или более реагент, включая растворитель, буфер, эмульгатор, суспендирующий агент, декомпозер, дезинтегрирующий агент, диспергирующий агент, связующий агент, наполнитель, стабилизирующий агент, хелатор, консервант, увлажняющий агент, лубрикант, разжижитель, агент для задержки абсорбции, липосомы, подсластитель, ароматизатор, краситель и т.д. Выбор и количество фармацевтически приемлемого носителя известно специалисту в данной области техники.

Фармацевтически приемлемый носитель включает один или более реагент, включая, например, воду, обычный физиологический раствор, физиологический раствор с фосфатным буфером (PBS), раствор с глюкозой, водный раствор, содержащий спирт (например, этанол, пропандиол, гликоль, маннит и т.д.), масло (например, арахисовое масло, оливковое масло, кунжутное масло, касторовое масло, хлопковое масло, соевое масло и т.д.), глицерин, органический растворитель и липосомы. В осуществлении настоящего изобретения растворитель представляет собой воду.

Фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению может быть составлена в виде соответствующей лекарственной формы для топикального применения с помощью технологии, хорошо известной специалисту в данной области техники, что включает, не ограничиваясь этим, препараты для наружного применения, шипучие

таблетки, суппозитории и т.п.

В предпочтительном осуществлении настоящего изобретения фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению может быть составлена в виде препарата для наружного применения в форме геля путем смешивания водорастворимого экстракта с основой, которая хорошо известна и обычно применяется в данной области техники.

В настоящем изобретении соответствующая основа может включать одно или более из следующих вспомогательных веществ: воды, спиртов, гликоля, углеводов (например, вазелина), восков (например, парафина и желтого воска), консервантов, антиоксидантов, поверхностно-активных веществ, усилителей абсорбции, стабилизирующих агентов, гелеобразующих агентов (например, карбопол 974Р, микрокристаллическая целлюлоза и карбоксиметилцеллюлоза), активных агентов, увлажнителей, поглотителей запаха, отдушек, агентов для доведения рН, хелаторов, эмульгаторов, окклюзивных агентов, увлажнителей, загустителей, солубилизирующих агентов, усилителей проницаемости, агентов против раздражения, красителей и пропеллантов и т.д. Выбор и количество фармацевтически приемлемого вспомогательного вещества находятся в области компетенции специалиста в данной области техники.

Дозировка и частота введения этой фармацевтической композиции может варьировать в зависимости от следующих факторов: серьезности заболевания, которое надо лечить, пути введения и веса, возраста, физического состояния и ответа субъекта, которого надо лечить. Например, ежедневная дозировка фармацевтической композиции для топикального введения согласно настоящему изобретению может составлять 10-20 мг/см<sup>2</sup> области повреждения и от 1 до 6 раз в день. Дозировка фармацевтической композиции для орального введения может составлять 1-30 мг/кг 1-4 раза в день.

Показано, что водорастворимый экстракт растения рода *Solarium* ослабляет патологические изменения кожи, индуцированные фотоповреждением в результате облучения УФ-В у безволосых мышей. Дополнительно, он способен эффективно улучшать эластичность кожи и солнечный эластоз, поддерживая в то же время влагоудерживающую емкость.

Таким образом, настоящее изобретение предоставляет фармацевтическую композицию для лечения и/или предотвращения фотоповреждения кожи, которая включает водорастворимый экстракт растения рода *Solarium*, как описано выше. Настоящее изобретение также предоставляет способ предотвращения и лечения фотоповреждения кожи, включающий применение к субъекту, который в этом нуждается, лечения вышеупомянутым водорастворимым экстрактом или фармацевтической композицией.

В настоящем изобретении термин «фотоповреждение кожи» означает повреждение кожи, обусловленное облучением кожи солнечным светом или УФ светом (особенно УФ-В). Фотоповреждение кожи включает, не ограничиваясь этим, истончение кожи, атрофию кожи, уменьшение коллагеновых волокон и эластических волокон, эластоз, утрату эластичности кожи, сухость, образование морщин, воспалительную инфильтрацию клеток, преждевременное старение кожи, сосудистые изменения (например, диффузная эритема, экхимоз или телангиоэктазия), изменение пигментации (например, лентиго, веснушки, гипопигментация или гиперпигментация), комедон, кисту и патологическое изменение кожи.

Согласно настоящему изобретению путь введения, дозировка и фармацевтически приемлемый носитель сходны с таковыми, применяемыми для фармацевтических композиций для предотвращения и лечения воспаления. В предпочтительном

осуществлении настоящего изобретения фармацевтическую композицию составляют в топикальной форме для нанесения на кожу.

Благодаря предотвращению/защите от фотоповреждения кожи с помощью водорастворимого экстракта можно предсказать, что водорастворимый экстракт может применяться в качестве косметического компонента для получения косметической композиции.

Поэтому настоящее изобретение предоставляет косметическую композицию с фотозащитным действием, которая включает водорастворимый экстракт, как описано выше.

В настоящем изобретении термин «фотозащитный» означает прекращение или ослабление отрицательных клинических, гистологических и иммунохимических проявлений, обусловленных действием солнца или ультрафиолета. Эти проявления включают острые реакции (например, эритема и воспаление) и хронические эффекты (например, эластоз и образование морщин).

Согласно настоящему изобретению косметическая композиция дополнительно включает косметически приемлемое вспомогательное вещество, широко применяемое в технике получения косметических препаратов.

Приемлемое косметическое вспомогательное вещество включает один или более реагент, включая растворитель, гелеобразующий агент, активирующий агент, консервант, антиоксидант, защитный агент, хелатор, поверхностно-активные вещества, красители, загустители, наполнители, отдушки и поглотители запаха. Выбор и количество вспомогательных веществ находятся в области компетенции специалиста в данной области техники.

Косметическую композицию, предоставленную данным изобретением, можно получать с помощью технологии, хорошо известной специалисту в данной области техники, в виде продукта для ухода за кожей, за волосами или декоративной косметики. Форма включает, не ограничиваясь этим, водный раствор, эмульсию, гель, мазь, крем, маску, пластырь, пудру, аэрозоль, спрей, лосьон, солнцезащитное средство и другие продукты для очищения тела.

Косметическую композицию согласно настоящему изобретению можно применять вместе со следующими агентами: отбеливающими агентами, увлажняющими агентами, бактерицидными веществами, поглотителями ультрафиолета, агентами против покраснения, агентами против прурита, агентами против гиперкератолита, агентами против псориаза, агентами против старения, агентами против морщин, агентами против себореи, агентами для загара и агентами для заживления ран. Выбор и количество таких агентов известны специалисту в данной области техники.

## ПРИМЕРЫ

### Экспериментальные материалы

1. Получение водорастворимого экстракта *Solarium incanum* L. и раствора *Solarium incanum* L., содержащего водорастворимый экстракт

Водорастворимый экстракт *Solarium incanum* L. Получают, в основном, по способу, раскрытому в примере 1 US 7078063 B2. Кокретно, 500 г зрелых плодов *Solanum incanum* L. измельчают с последующим добавлением 1000 мл очищенной воды. К полученной водной смеси по каплям добавляют 99,5% уксусную кислоту до получения pH 4,0 с последующим встряхиванием при комнатной температуре в течение 12 ч. Супернатант получают центрифугированием водной смеси и к нему по каплям добавляют 33% основной раствор аммиака до получения pH супернатанта 9,0 и образования осадка. Осадок отделяют путем центрифугирования при 4500 об/мин (Beckman Coulter, Avanti

J-25, JA-14 rotor) и остаточный щелочной раствор удаляют путем промывки осадка водой с последующим центрифугированием при 4500 об/мин. Полученный таким способом осадок суспендируют в воде и подвергают лиофилизации (Virtis, Freezemobile 12ES) с получением 5 г сухого порошка.

- 5 2 г сухого порошка растворяют в 50 мл хлороформа (reagent grade) с последующим добавлением 40 мл 100% метанола и далее встряхивают для получения однородной суспензии. Супернатант получают центрифугированием при 4500 об/мин или  
10 фильтрацией. К супернатанту добавляют 70 мл смеси метанол-вода (1:1) и хорошо перемешивают. Полученную смесь центрифугируют при 12000 об/мин в течение 10 мин. Полученный супернатант отбирают и к нему добавляют 120 мл дистиллированной  
15 воды и хорошо перемешивают. Тем временем супернатант мутнеет. Супернатант дополнительно центрифугируют при 12000 об/мин в течение 10 мин для удаления осадка. Полученный супернатант подвергают концентрированию при пониженном давлении при 55°C для удаления метанола с последующей лиофилизацией с получением сухого  
15 порошка водорастворимого экстракта.

Водорастворимый экстракт растворяют в стерильной воде с получением раствора *Solanum incanum* L. для дальнейшего применения в нижеописанных экспериментах.

2. Получение геля *Solarium incanum* L., содержащего водорастворимый экстракт 4 г карбопола 974P, применяемого в качестве гелеобразующего агента и выпускаемого  
20 Lubrizol Advanced Materials, Inc. KY 40258, USA, растворяют в 50 г очищенной воды с последующим добавлением 30 г пропиленгликоля и 7 г сухого порошка водорастворимого экстракта, полученного согласно разделу «I. Получение водорастворимого экстракта *Solarium incanum* L. и раствора *Solarium incanum* L.,  
25 содержащего водорастворимый экстракт» в разделе «Экспериментальные материалы» и тщательно перемешивают. Смесь нагревают в сосуде для нагревания при температуре 50-60°C в течение 20 мин с последующим охлаждением до комнатной температуры. К охлажденной смеси добавляют триэтаноламин до получения pH 7,0±0,5. Затем добавляют воду до получения общего веса смеси 100 г, получая таким образом гель, содержащий  
30 7% по весу водорастворимого экстракта (здесь и далее называемый гелем *Solanum incanum* L.).

#### Животная модель

- Безволосых мышей HRS/J (в возрасте 6-8 недель, вес тела 20-22 г) получают из Jackson Laboratory (Bar Harbor, USA). Мышей содержат в помещении с циклом 12 ч/12 ч свет/темнота при температуре 21-22°C и влажности 30-70%. Пищу и воду предоставляют в  
35 достаточном количестве и доступности для мышей все время. Все опыты на животных проводят в соответствии с требованиями по уходу и применению лабораторных животных национального института здоровья (NIH).

#### Основные способы

##### 1. Анализ белковых продуктов

- 40 Для анализа белков согласно настоящему изобретению применяют электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия (SDS-PAGE) и вестерн-блоттинг. Аппарат и реагенты для проведения SDS-PAGE и вестерн-блоттинга следующие:

- (а) система для вертикального электрофореза (Hoefel SE600, GE Helthcare) применяется для анализа с помощью SDS-PAGE.  
45 (б) Поливинилидендифторидные мембраны (PVDF, Millipore) и полувлажные прокладки для блоттинга (Hoefel TE70X, GE Helthcare) применяются для переноса белков.

(в) Первичные и вторичные антитела, применяемые при вестерн-блоттинге,

перечислены в таблице 1.

(г) Визуализацию белков осуществляют с помощью хемилюминисцентного окрашивания с применением субстрата Immobilon™ Western Chemiluminiscent HRP substratr (Millipore, cat no WBKLS0500) с последующим детектированием путем автордиографии пленок (Kodak Biomax, Kodak cat no. 1788207).

Белок-мишень	Первичные антитела	Вторичные антитела
COX-2	Мышиные анти-COX-2 моноклональные антитела (BD Bioscience, cat. No.610203)	Овечьи антитела против мышиных IgG, конъюгированные с пероксидазой хрена (HRP) (Amersham, cat no NA931)
NF-κB	Кроличьи анти-NF-κB моноклональные антитела (Abeam, cat no Ab7970)	Ослиные антитела против кроличьего IgG-HRP (Amersham, cat no NA934)
iNOS	Кроличьи анти-iNOS моноклональные антитела (Santa Cruz, cat no Sc-651)	Ослиные антитела против кроличьего IgG-HRP
β-актин	Мышиные анти-β-актин моноклональные антитела (Sigma, cat noA5441)	Овечьи антитела против мышиных IgG-HRP
GAPDH	Мышиные анти-GAPDH моноклональные антитела (Chemicon, cat no Mab374)	Овечьи антитела против мышиных IgG-HRP

## 2. Индукция воспаления и фотоповреждения

Дорзальную кожу каждой мыши HRS/J подвергают облучению УФ-В три раза в неделю в течение 14 недель для индукции воспалительного ответа и фотоповреждения. Облучение УФ-В проводят с применением ультрафиолетового аппарата (crosslinker) BLX-312 (BIO-LINK, Viber Lourmat, France), снабженного УФ-В лампой 6×8 W T-8M (312 нм). Однократная доза УФ-В радиации для каждого сеанса облучения, доза УФ-В за неделю (доза/неделю) и кумулятивная доза приведены в таблице 2.

Экспериментальный отсчет времени (неделя)	Однократная доза (мДж/см <sup>2</sup> )	Доза/неделю (мДж/см <sup>2</sup> )	Аккумулятивная доза (мДж/см <sup>2</sup> )
1	36	108	108
2	54	162	270
3	72	216	486
4	90	270	765
5	108	324	1080
6	126	378	1458
7	144	432	1890
8	162	486	2376
9	180	540	2916
10	216	594	3510
11	216	648	4158
12	216	648	4806
13	216	648	5454
14	216	648	6102

## 3. Срезы ткани

Ткани (полученные при комнатной температуре) фиксируют в 4% параформальдегиде в PBS в течение по меньшей мере 12 ч с последующим обезвоживанием с помощью этанола. Дегидрированные ткани помещают в парафин и делают срезы для получения продольных секций.

## 4. Статистический анализ

Результаты приведены в виде средних ± стандартное отклонение (SEM). Все статистические анализы данных проводят по способу t-теста Стюдента (2-стороннего). Величина  $p < 0,05$  считается статистически значимой.

Пример 1. Оценка противовоспалительного действия водорастворимого экстракта *Solarium incanum* L. in vitro

Мышечные макрофаги клеточной линии RAW264.7, подвергнутые индуцированному липополисахаридами (LPS) воспалению, применяют для определения

5 противовоспалительного действия водорастворимого экстракта *Solanum incanum* L.  
Экспериментальные подходы

Клетки RAW264.7 (полученные из Американской коллекции типовых культур ATTC, TIB-71) засевают при плотности  $1 \times 10^6$  клеток/лунку (планшет на 6 лунок) в среду Dulbecco Modified Eagle's medium (DMEM) (HyClone SH 30022.01, Logan, Utah USA) с 10% сывороткой плода коровы (FBS), 4 мМ L-глутамином и 4,5 г/л глюкозой (без пирувата натрия) и инкубируют при 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в инкубаторе. Клетки разбивают на три группы: нормальная контрольная группа, патологическая контрольная группа и экспериментальные группы (экспериментальные группы 1, 2, 3, 4, 5 и 6). Через 72 ч инкубации среду у патологической контрольной группы сменяют на свежую среду DMEM, содержащую 100 нг/мл LPS (*E. coli* серотип 0111:B4, Sigma) и клетки экспериментальных групп помещают в свежую среду DMEM, содержащую 100 нг/мл LPS и различные концентрации водорастворимого экстракта, полученного согласно разделу «I. Получение водорастворимого экстракта *Solanum incanum* L. и раствора *Solanum incanum* L., содержащего водорастворимый экстракт» в разделе «Экспериментальные материалы». Концентрации водорастворимого экстракта для экспериментальных групп 1, 2, 3, 4, 5 и 6 составляют, соответственно, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1 и 5 мкг/мл. Нормальную контрольную группу все еще инкубируют в DMEM с 10% FBS, 4 мМ L-глутамином и 4,5 г/л глюкозой (без пирувата натрия).

Через 24 часа инкубации (37°C, 5% CO<sub>2</sub> в инкубаторе) среду из каждой лунки удаляют, вслед за чем добавляют 100 мкл реагента T-PER (PIERCE) и перемешивают до получения смеси клеток. Смесь клеток помещают в центрифужную пробирку и встряхивают в течение 5 мин с последующим охлаждением на льду в течение 30 мин. Далее смесь клеток центрифугируют при 14000 об/мин в течение 10 мин при 4°C и собирают супернатант в качестве белкового образца для дальнейшего анализа.

Полученный образец белка анализируют с помощью вестерн-блоттинга по способу, описанному в разделе «I. Анализ белковых продуктов» в разделе «Основные подходы». В качестве внутреннего контроля применяют β-актин.

Результаты

Фигура 1 представляет собой вестерн-блот, показывающий экспрессию COX-2 в клетках RAW264.7. Как показано на фигуре 1, экспрессия COX-2 значительно повышена в патологической контрольной группе по сравнению с нормальной контрольной группой, что указывает на успешную индукцию воспаления с помощью LPS в клетках RAW264.7. Пониженная экспрессия COX-2 наблюдается в экспериментальных группах 1-6 по сравнению с патологической контрольной группой и пониженная экспрессия более выражена при добавлении более высоких концентраций водорастворимого экстракта. Эти данные показывают, что водорастворимый экстракт *Solarium incanum* L. может ингибировать индуцированное LPS воспаление in vitro и эффект водорастворимого экстракта на противовоспалительный ответ зависит от дозы.

Пример 2. Оценка терапевтического действия раствора *Solarium incanum* L. и геля *Solanum incanum* L. на безволосых мышей с воспалением, индуцированным облучением УФ-В

Экспериментальные подходы

Безволосых мышей HRS/J случайным образом разбивают на нормальную контрольную группу, патологическую контрольную группу и две экспериментальные группы (т.е. экспериментальные группы 1 и 2) (n=4 на группу). Безволосых мышей HRS/J в нормальной контрольной группе не подвергают облучению УФ-В. У мышей в патологической контрольной группе и в двух экспериментальных группах индуцируют воспаление по способу, описанному в разделе «2. Индукция воспаления и фотоповреждения» в разделе «Основные подходы».

Начиная с первого облучения УФ-В мышам HRS/J в экспериментальной группе 1 орально вводят раствор *Solanum incanum* L., где раствор получают по способу, описанному в разделе «I. Получение водорастворимого экстракта *Solanum incanum* L. и раствора *Solanum incanum* L., содержащего водорастворимый экстракт» в разделе «Экспериментальные материалы». Этим мышам вводят раствор *Solanum incanum* L. раз в день (1500 мг/кг) 7 раз в неделю в течение периода 14 недель и непрерывно наблюдают в течение 60 недель (т.е. 60 недель экспериментального периода). На подвергнутую действию облучения УФ-В дорзальную кожу каждой безволосой мыши HRS/J в экспериментальной группе 2 наносят гель *Solarium incanum* L., полученный согласно разделу «2. Получение геля *Solarium incanum* L., содержащего водорастворимый экстракт» в разделе «Экспериментальные материалы». Гель наносят раз в день (дозировка 10-20 мг геля на см<sup>2</sup>) 5 раз в неделю в течение 14 недель и наблюдают в течение 60 недель. Безволосых мышей HRS/J в нормальной контрольной группе и в патологической контрольной группе не обрабатывают ни раствором *Solarium incanum* L., ни гелем *Solarium incanum* L.

Через 6 недель облучения УФ-В безволосых мышей HRS/J подвергают анализу по пунктам А и Б, указанным ниже. Дополнительно отбирают ткань дорзальной кожи с помощью хирургических ножниц у мышей в нормальной контрольной группе, патологической контрольной группе и экспериментальной группе 2 через 60 недель экспериментального периода. Эти ткани анализируют по пунктам В-Д, указанным ниже.

#### А. Диагноз клинических проявлений

Безволосых мышей HRS/J наблюдают на предмет любого проявления воспаления, например зуда, покраснения и т.д. через 6 недель облучения УФ-В.

#### Б. Анализ трансэпидермальной потери воды (TEWL)

Через 6 недель облучения УФ-В оценивают TEWL в дорзальной коже каждой безволосой мыши HRS/J из каждой группы с применением эвапориметра (Tewameter TM 201R, Courage and Khazaka, Cologne, Germany).

#### В. Анализ с помощью вестерн-блоттинга на наличие NF-κB, COX-2 и iNOS

К 0,5 г кожной ткани добавляют реагент для экстракции тканевых белков T-PER (Thermo Scientific, cat no 78510) с последующим измельчением ткани в гомогенизаторе (Biospec Products). Тщательно гомогенизированный продукт центрифугируют при 15000 об/мин и 4°C в течение 10 ч. Супернатант собирают для анализа белков.

Изолированный белок далее применяют для детектирования NF-κB, COX-2 и iNOS с помощью вестерн-блоттинга по способу, описанному в разделе «I. Анализ белковых продуктов» в разделе «Основные подходы». GAPDH применяют в качестве внутреннего контроля.

#### Г. Иммуногистохимическое окрашивание NF-κB

Кожную ткань разрезают на секции толщиной 6 мкм, по способу, описанному в разделе «3. Срезы ткани» в разделе «Основные подходы». Срезы ткани подвергают иммуногистохимическому окрашиванию с применением первичного кроличьего

моноклонального антитела анти-NF-κB и ослиных антител против кроличьего IgG, конъюгированных с биотином (DarkoCytomation). Окрашенные срезы ткани исследуют с помощью оптического микроскопа (Olympus BX51, Japan) при увеличении от 100 до 400 крат и фотографируют с помощью цифровой камеры (Olympus DP50, Japan).

5 Д. Гистохимическое окрашивание тучных клеток

Кожную ткань разрезают на секции толщиной 6 мкм, по способу, описанному в разделе «3. Срезы ткани» в разделе «Основные подходы». Срезы ткани подвергают гистохимическому окрашиванию с помощью толуидинового синего (Sigma, cat no T3260). Окрашенные срезы ткани исследуют с помощью оптического микроскопа при  
10 увеличении от 100 до 400 раз и фотографируют с помощью цифровой камеры (Olympus DP50, Japan). Подсчет числа тучных клеток проводят в пяти случайно отобранных срезах ткани и обсчитывают 10 случайно выбранных полей зрения в каждом срезе ткани. Данные представляют как среднее ± SEM ( $p < 0,05$  является статистически значимым).

15 Результаты

А. Диагноз клинических проявлений

Безволосые мыши HRS/J в патологической контрольной группе демонстрируют симптомы воспаления по сравнению с нормальной контрольной группой, что указывает на успешную индукцию воспалительного ответа у безволосых мышей HRS/J.  
20 Экспериментальные группы 1 и 2 проявляют значительное уменьшение воспалительного ответа по сравнению с патологической контрольной группой. Эти данные предполагают, что раствор Solarium incanum L. и гель Solarium incanum L. оказывают противовоспалительное действие.

Б. Анализ трансэпидермальной потери воды (TEWL)

25 Фигура 2 представляет собой график, демонстрирующий результаты TEWL для дорзальной кожи безволосых мышей HRS/J в нормальной контрольной группе, патологической контрольной группе и экспериментальных группах 1 и 2. Безволосые мыши HRS/J из контрольной патологической группы демонстрируют повышенный  
30 уровень TEWL по сравнению с нормальной контрольной группой. Это указывает, что облучение УФ-В индуцирует TEWL у безволосых мышей HRS/J и повреждает барьерную функцию stratum corneum. Безволосые мыши HRS/J из экспериментальных групп 1 и 2 демонстрируют значительное уменьшение TEWL по сравнению с патологической контрольной группой. В целом эти данные показывают, что раствор Solarium incanum L. и гель Solanum incanum L. могут уменьшать повреждение stratum corneum и воспаление,  
35 вызванное облучением УФ-В.

В. Анализ с помощью вестерн-блоттинга NF-κB, COX-2 и iNOS Фигура 3 представляет собой анализ с помощью вестерн-блоттинга экспрессии NF-κB, COX-2 и iNOS в дорзальной кожной ткани безволосых мышей HRS/J в нормальной контрольной группе, патологической контрольной группе и экспериментальной группе 2. Кожные ткани  
40 патологической контрольной группы демонстрируют повышенную экспрессию NF-κB, COX-2 и iNOS по сравнению с нормальной контрольной группой, что указывает на индукцию воспалительного ответа у безволосых мышей HRS/J. Значительное уменьшение уровней NF-κB, COX-2 и iNOS наблюдается в экспериментальной группе 2 по сравнению с патологической контрольной группой. В целом данные указывают, что гель Solarium incanum L. обладает противовоспалительным действием.  
45

Г. Иммуногистохимическое окрашивание NF-κB

Фигура 4 показывает Иммуногистохимическое окрашивание NF-κB, экспрессируемого в дорзальной кожной ткани, полученной от безволосых мышей HRS/J. Как показано

на фигуре 4, патологическая контрольная группа демонстрирует повышенный уровень экспрессии NF-κB по сравнению с нормальной контрольной группой, что указывает на индукцию воспалительного ответа УФ-В облучением у безволосых мышей HRS/J. При нанесении геля *Solarium incanum L.* на кожу безволосых мышей HRS/J, как это  
 5 сделано в экспериментальной группе 2, экспрессия NF-κB проявляет значительное уменьшение по сравнению с патологической контрольной группой. В целом эти данные предполагают, что гель *Solarium incanum L.* согласно настоящему изобретению обладает противовоспалительным действием.

#### Д. Гистохимическое окрашивание тучных клеток

10 На фигуре 5 показано гистохимическое окрашивание тучных клеток, полученных из дорзальной кожной ткани безволосых мышей HRS/J. Как показано на фигуре 5, окрашивание толудиновым синим выявляет массивную инфильтрацию тучных клеток в дорзальную ткань кожи в патологической контрольной группе. Этот феномен явно не виден в нормальной контрольной группе. Очевидно, что инфильтрация тучных  
 15 клеток значительно уменьшена в экспериментальной группе 2 по сравнению с патологической контрольной группой.

Сравнение числа тучных клеток в нормальной контрольной группе, патологической контрольной группе и экспериментальной группе 2 показано на фигуре 6.

20 Экспериментальная группа 2 демонстрирует значительное уменьшение количества тучных клеток по сравнению с патологической контрольной группой. Эти данные показывают, что гель *Solarium incanum L.* может снижать воспалительный эффект, индуцированный УФ-В радиацией у безволосых мышей HRS/J.

Пример 3. Оценка терапевтических эффектов раствора *Solanum incanum L.* и геля *Solanum incanum L.* у безволосых мышей HRS/J с индуцированным УФ-В  
 25 фотоповреждением

#### Экспериментальные подходы

Безволосых мышей HRS/J случайным образом разбивают на нормальную контрольную группу, патологическую контрольную группу и две экспериментальные группы (т.е. экспериментальные группы 1 и 2) (n=4 на группу). Безволосых мышей  
 30 HRS/J в нормальной контрольной группе не подвергают облучению УФ-В. У мышей в патологической контрольной группе и в двух экспериментальных группах индуцируют воспаление по способу, описанному в разделе «2. Индукция воспаления и фотоповреждения» в разделе «Основные подходы».

Начиная с первого сеанса облучения УФ-В, мышам HRS/J в экспериментальной  
 35 группе 1 орально вводят раствор *Solarium incanum L.*, где раствор получают по способу, описанному в разделе «I. Получение водорастворимого экстракта *Solarium incanum L.* и раствора *Solanum incanum L.*, содержащего водорастворимый экстракт» в разделе «Экспериментальные материалы». Этим мышам вводят раствор *Solanum incanum L.* раз в день (1500 мг/кг) 7 раз в неделю в течение периода 14 недель и непрерывно наблюдают  
 40 их в течение 60 недель (т.е. 60 недель экспериментального периода). На подвергнутую действию облучения УФ-В дорзальную кожу каждой безволосых мышей HRS/J в экспериментальной группе 2 наносят гель *Solanum incanum L.*, полученный согласно разделу «2. Получение геля *Solanum incanum L.*, содержащего водорастворимый экстракт» в разделе «Экспериментальные материалы». Гель наносят раз в день (дозировка 10-20  
 45 мг геля на см<sup>2</sup>) 5 раз в неделю в течение 14 недель и наблюдают в течение 60 недель. Безволосых мышей HRS/J в нормальной контрольной группе и в патологической контрольной группе не обрабатывают ни раствором *Solanum incanum L.*, ни гелем *Solanum incanum L.*

В конце 26, 35, 38, 41, 52, 56 и 60 недели в течение экспериментального периода из 60 недель дорзальную кожу безволосых мышей HRS/J из патологической контрольной группы и экспериментальных групп 1 и 2 подвергают анализу по пункту А (см. ниже). Дополнительно, через 60 недель экспериментального периода дорзальную кожу, полученную от безволосых мышей HRS/J в нормальной контрольной группе, патологической контрольной группе и экспериментальной группе 2, подвергают анализу по пункту Б, как описано ниже. Дорзальную кожную ткань мышей из патологической контрольной группы и экспериментальной группы 2 получают с помощью хирургических ножниц и анализируют по пункту В, как описано ниже.

#### А. Анализ образования опухолей кожи

Количество опухолей дорзальной кожи безволосых мышей HRS/J из патологической контрольной группы и экспериментальных группах 1 и 2 наблюдают невооруженным глазом. Размер опухоли регистрируют с помощью цифрового штангенциркуля (Mitutoyo, NTD15P-6"СХ). Данные о количестве и размере опухолей представлены в виде среднего значения  $\pm$  SEM ( $p < 0,05$  является статистически значимым).

#### Б. Оценка эластичности кожи

Эластичность кожи оценивают с помощью относительного щипкового теста, упомянутого K.Tsukahara et al., (2005) *Biolo. Pharm. Bull*, 28 (12):2302-07. Вкратце, безволосых мышей HRS/J из нормальной контрольной группы, патологической контрольной группы и экспериментальной группы 2 помещают на платформу. Дорзальную кожу на средней линии тела мыши защипывают вверх, насколько это возможно (без подъема мыши) и затем высвобождают. Измеряют время восстановления зашипнутой кожи до исходного состояния.

#### В. Гистохимическое окрашивание эластических волокон

Через 60 недель экспериментального периода кожную ткань, полученную от безволосых мышей HRS/J в патологической контрольной группе и экспериментальной группе 2, разделяют на срезы толщиной 6 мкм, по способу, описанному в разделе «3. Срезы ткани» в разделе «Основные подходы». Срезы ткани окрашивают раствором резорцина-фуксина, железного гематоксилина Вейгерта и раствором Ван Гизона (все получены от Muto Pure Chemicals Co. Ltd). Окрашенные ткани наблюдают с помощью оптического микроскопа со 100-400-кратным увеличением и регистрируют с помощью цифровой камеры (Olympus DP50, Japan).

#### Результаты

#### А. Анализ образования опухолей кожи

Количество опухолей за время 60 недель экспериментального периода показано на фигуре 7. Результаты измерения размера опухолей за 60 недель экспериментального периода показаны на фигуре 8.

Как показано на фигурах 7 и 8, на 38 неделе дорзальная кожа безволосых мышей HRS/J из патологической контрольной группы демонстрирует ускорение образования опухолей. Наоборот, более медленное возрастание количества и размера опухолей наблюдается в экспериментальных группах 1 и 2 в течение 60 недель экспериментального периода. Эти данные предполагают, что раствор *Solanum incanum* L. и гель *Solarium incanum* L. могут уменьшать фотоповреждение, вызванное облучением УФ-В, и ослаблять патологическое изменение кожи, вызванное фотоповреждением.

#### Б. Оценка эластичности кожи

Щипковый тест проводят через 60 недель экспериментального периода на безволосых мышцах HRS/J из нормальной контрольной группы, патологической контрольной группы и экспериментальной группы 2. Как показано на фигуре 9, мыши в патологической

контрольной группе показывают пониженную эластичность по сравнению с нормальной контрольной группой, поскольку в патологической контрольной группе требуется более длительное время для восстановления состояния кожи, что указывает на индукцию фотоповреждения при облучении УФ-В безволосых мышей HRS/J. При нанесении геля Solarium incanum L. на дорзальную кожу безволосых мышей в экспериментальной группе 2 эластичность кожи существенно повышается по сравнению с патологической контрольной группой. Данные этих экспериментов указывают, что гель Solarium incanum L. может ослаблять фотоповреждение, вызванное УФ-В и улучшать эластичность кожи.

#### В. Гистохимическое окрашивание эластических волокон

Как показано на фигуре 10, частота денатурации эластических волокон значительно увеличена в патологической контрольной группе. С другой стороны, при нанесении геля Solanum incanum L. на дорзальную кожу безволосых мышей в экспериментальной группе 2 частота денатурации эластических волокон меньше и волокна остаются длинными и интактными. Данные этих экспериментов показывают, что гель Solanum incanum L. согласно настоящему изобретению может ослаблять фотоповреждение, обусловленное облучением УФ-В, и уменьшать солнечный эластоз.

В целом данные вышеприведенных экспериментов подтверждают, что водорастворимый экстракт Solanum incanum L. может предотвращать фотоповреждение и ослаблять патологические изменения кожи, вызванные фотоповреждением.

Пример 4. Сравнение действия геля Solanum incanum L. и третиноина в предотвращении индуцированного УФ-В фотоповреждения

Безволосых мышей HRS/J случайным образом разбивают на группы: патологическую контрольную группу, группу, получающую третиноин, группу, получающую гель Solanum incanum L. (n=5 на группу). Индукцию фотоповреждения у безволосых мышей HRS/J в каждой группе проводят по способу, описанному в разделе «2. Индукция воспаления и фотоповреждения» в разделе «Основные подходы».

С начала сеансов облучения УФ-В безволосым мышам HRS/J в группе, получающей третиноин, наносят впитывающийся крем AIROL (содержит 0,05% третиноина, общепринятого активного агента для лечения фотоповреждения, топикальная дозировка 10-20 мг впитывающегося крема AIROL на см<sup>2</sup>). Крем наносят раз в день, 5 раз в неделю в течение 14 недель и проводят непрерывное наблюдение в течение 35 недель (т.е. 35 недель экспериментального периода). На дорзальную кожу безволосых мышей HRS/J в группе, получавшей гель Solarium incanum L., наносят гель Solanum incanum L., полученный согласно разделу «2. Получение геля Solanum incanum L., содержащего водорастворимый экстракт» в разделе «Экспериментальные материалы». Гель наносят раз в день (дозировка 10-20 мг геля на см<sup>2</sup>) 5 раз в неделю в течение 14 недель и проводят наблюдение в течение 35 недель. Безволосых мышей HRS/J в патологической контрольной группе не обрабатывают водорастворимым экстрактом.

Количество опухолей дорзальной кожи у мышей в группе, получавшей третиноин, и в группе, получавшей гель Solanum incanum L., подсчитывают на 0 неделе (т.е. до облучения УФ-В) и в конце 2, 7, 12, 17, 22, 27 и 32 недель в течение 35 недель экспериментального периода на основе способа по пункту А (анализ образования опухолей кожи) в примере 3. Дополнительно, безволосых мышей HRS/J из патологической контрольной группы, группы, получавшей третиноин, и группы, получавшей гель Solanum incanum L., подвергают анализу, как описано в пункте В (анализ трансдермальной потери воды) примера 2 и согласно нижеследующему пункту А на неделе 0 и в конце 5, 10, 15, 20, 25 и 30 недель в течение 35 недель экспериментального периода.

#### А. Оценка содержания воды в коже

Определение содержания воды в коже проводят с помощью эвапориметра (Tewameter ТМ 201R, Courage and Khazaka, Clogne, Germany).

##### (1) Анализ образования опухолей

5 Как показано на фигуре 11, на 17 неделе мышцы группы, получавшей третиноин, демонстрируют драматическое увеличение среднего числа опухолей. В отличие от этого, безволосые мыши HRS/J из группы, получавшей гель *Solanum incanum* L., демонстрируют более медленное увеличение среднего количества опухолей. Эти данные указывают, что гель *Solanum incanum* L. согласно настоящему изобретению может  
10 эффективно уменьшать фотоповреждение, вызванное УФ-В, по сравнению с группой, получавшей третиноин, и ослаблять патологические изменения кожи.

##### (2) Оценка трансдермальной потери воды (TEWL)

Как показано на фигуре 12, в течение 35 недель экспериментального периода процент TEWL ниже в группе, получавшей гель *Solanum incanum* L., по сравнению с  
15 патологической контрольной группой и группой, получавшей третиноин. Конкретно, в конце 20, 25 и 30 недель в течение 35 недель экспериментального периода наблюдается статистически значимая разница в TEWL между патологической контрольной группой и группой, получавшей гель *Solanum incanum* L. ( $p < 0,05$ ). Эти данные указывают, что  
20 гель *Solanum incanum* L. согласно настоящему изобретению может эффективно ослаблять фотоповреждение, вызванное УФ-В, и уменьшать повреждение *stratum corneum*, обусловленное фотоповреждением.

##### (3) Оценка содержания воды в коже

Содержание воды в дорзальной коже безволосых мышей HRS/J из каждой группы (патологической контрольной группы, группы, получавшей третиноин, и группы,  
25 получавшей гель *Solanum incanum* L.) определяют в различные моменты времени в течение 35 недель экспериментального периода. Как показано на фигуре 13, мыши, получавшие гель *Solanum incanum* L., обладают более высоким содержанием воды в коже по сравнению с патологической контрольной группой и группой, получавшей третиноин. Конкретно, в конце 25 недели мыши, получавшие гель *Solanum incanum* L.,  
30 демонстрируют статистически значимое (более высокое) содержание воды по сравнению с патологической контрольной группой и группой, получавшей третиноин. Эти данные предполагают, что гель *Solanum incanum* L. согласно настоящему изобретению является более эффективным для ослабления фотоповреждения, вызванного УФ-В, и лучше снижает потерю воды кожей, чем обработка третиноном.

35 В целом показано, что водорастворимый экстракт согласно настоящему изобретению проявляет предотвращение фотоповреждения, улучшение (облегчение) патологических изменений, вызванных фотоповреждением, и поддержание влагоудерживающей способности более эффективно, чем агенты, часто применяемые в клинике для лечения и предотвращения фотоповреждения (например, третиноин).

40 Все патенты и литературные источники, процитированные в настоящем описании, а также описанные здесь ссылки таким образом включены сюда полностью посредством ссылки. В случае конфликта настоящее описание включая определения является превалирующим.

Хотя настоящее изобретение описано в связи с наиболее применимыми и  
45 предпочтительными осуществлениями, ясно, что это изобретение не ограничено раскрытыми осуществлениями, но охватывает различные варианты, включенные в область притязаний изобретения с самым широким пониманием и эквивалентных осуществлений.

## Формула изобретения

1. Фармацевтическая композиция для предотвращения или лечения фотоповреждения кожи, включающая водорастворимый экстракт растения рода *Solanum*, где указанный водорастворимый экстракт включает по меньшей мере 60-90 вес.% соламаргина и соласонина.

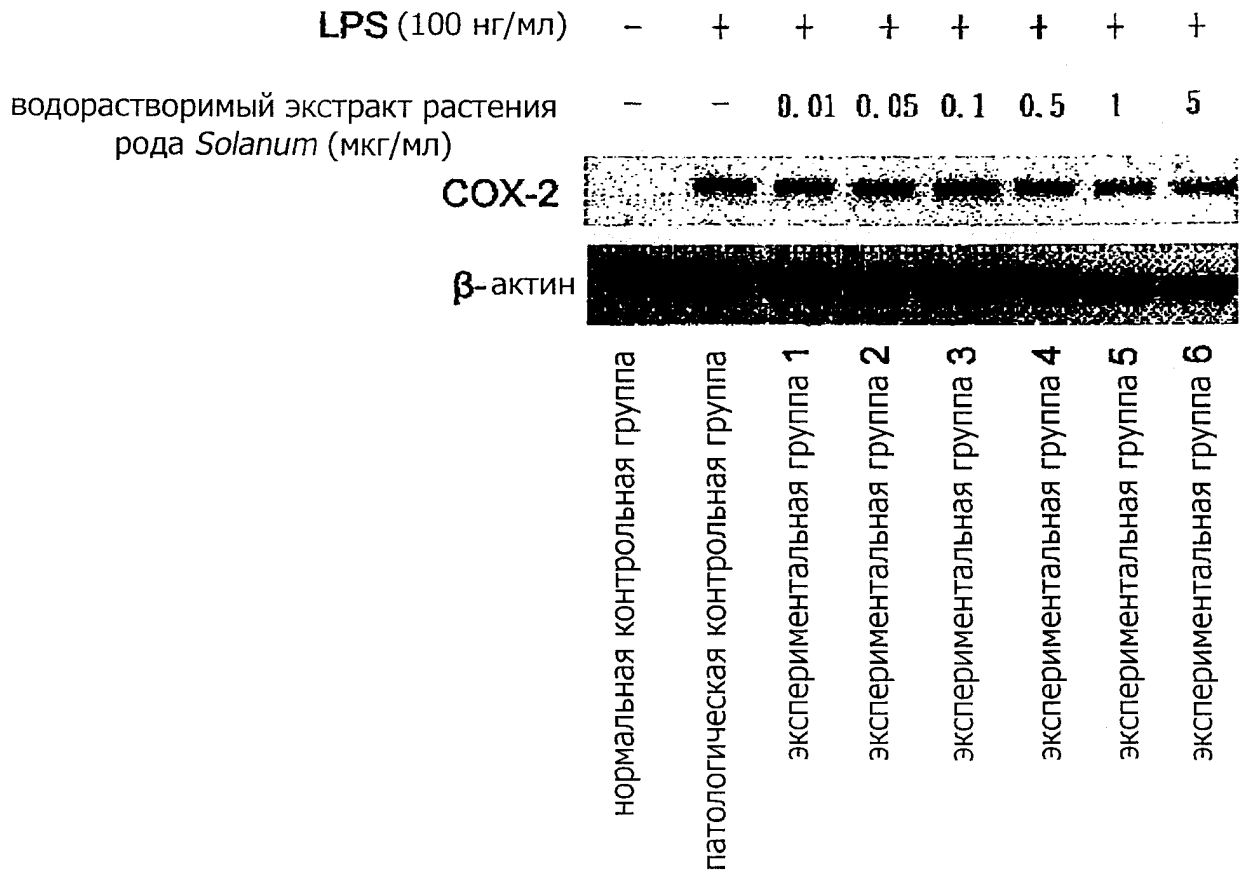
2. Фармацевтическая композиция по п. 1, где упомянутое фотоповреждение кожи включает один из следующих симптомов: истончение кожи, атрофию кожи, уменьшение коллагеновых волокон и эластических волокон, потерю эластичности кожи, сухость, образование морщин, воспалительную инфильтрацию клеток, преждевременное старение кожи, сосудистые изменения, изменения пигментации, комедон, кисту и патологическое изменение кожи.

3. Фармацевтическая композиция по п. 1, которую вводят в виде оральной лекарственной формы.

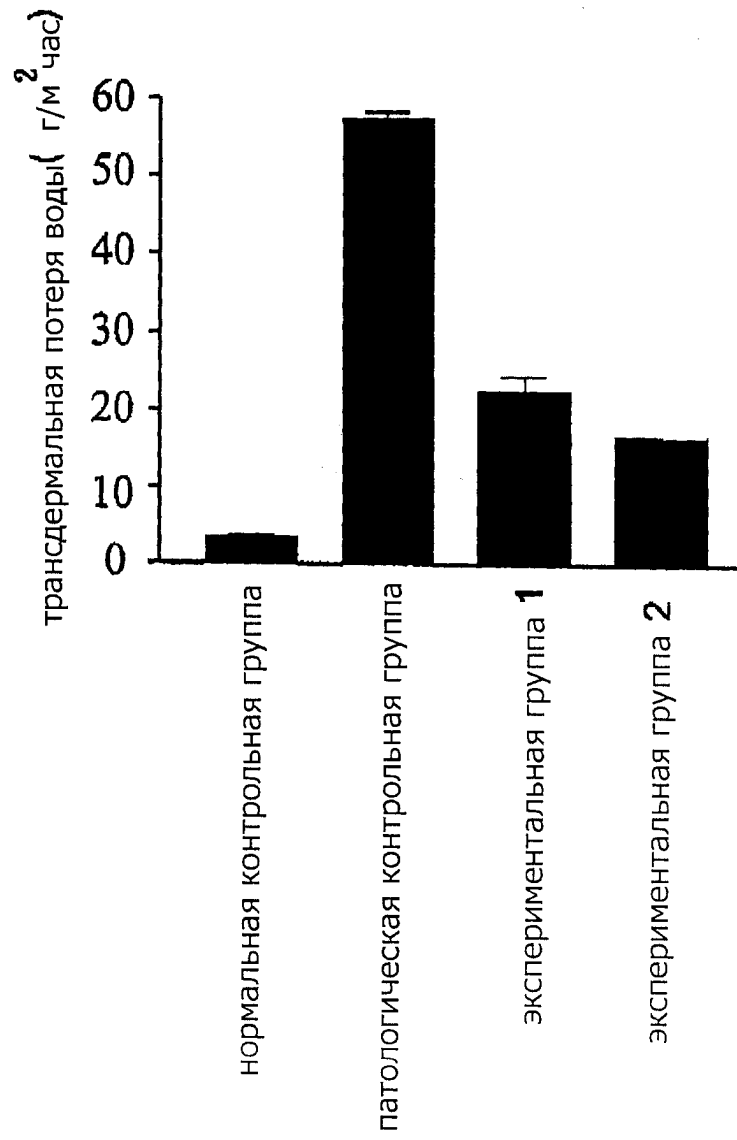
4. Фармацевтическая композиция по п. 1, которую вводят в виде топикальной лекарственной формы.

5. Косметическая композиция для предотвращения или лечения фотоповреждения кожи, включающая водорастворимый экстракт растения рода *Solanum*, где указанный водорастворимый экстракт включает по меньшей мере 60-90 вес.% соламаргина и соласонина.

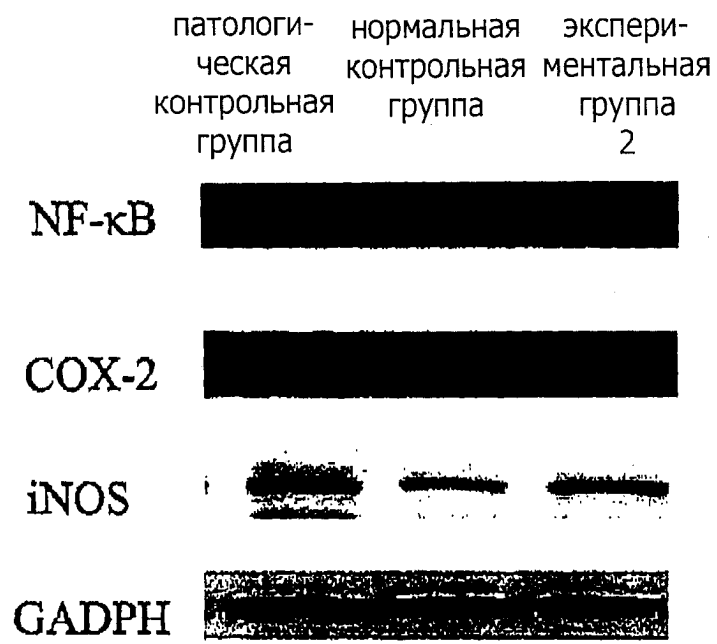
6. Косметическая композиция по п. 5, дополнительно включающая косметически приемлемое вспомогательное вещество, выбранное из группы, включающей растворитель, гелеобразующие агенты, активирующие агенты, консерванты, антиоксиданты, защитные агенты, хелаторы, поверхностно-активные вещества, красители, загустители, наполнители, отдушки и поглотители запаха.



Фиг. 1



Фиг. 2

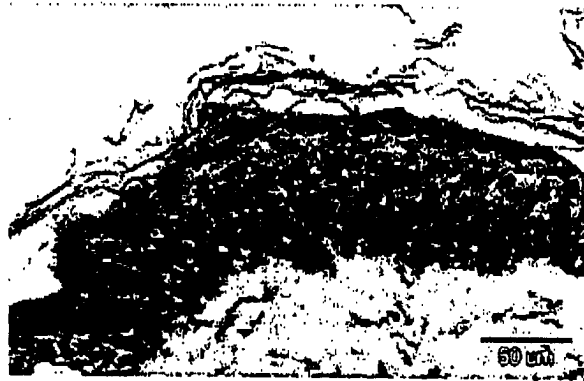


Фиг. 3

нормальная  
контрольная  
группа



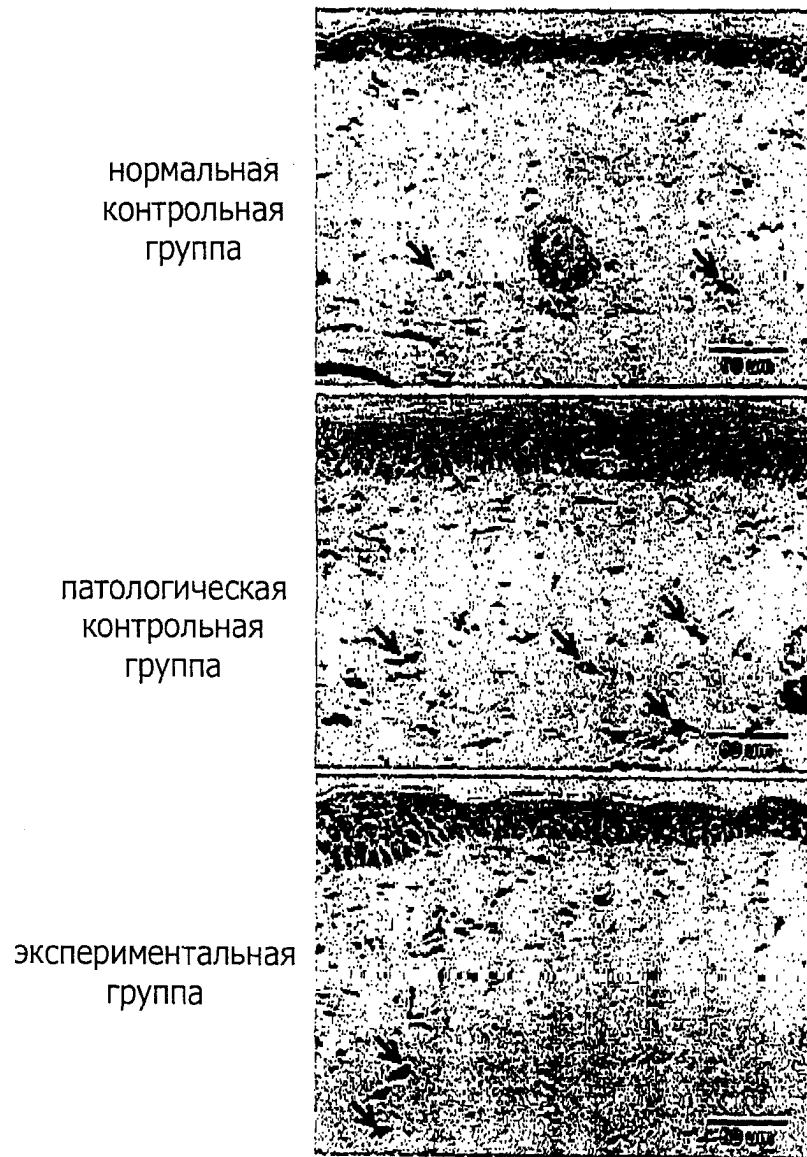
патологическая  
контрольная  
группа



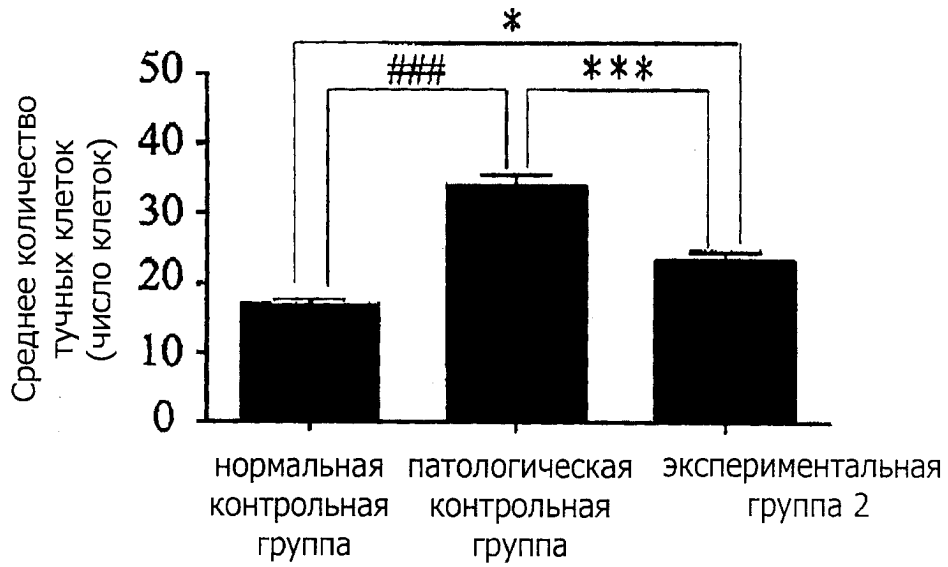
экспериментальная  
группа 2



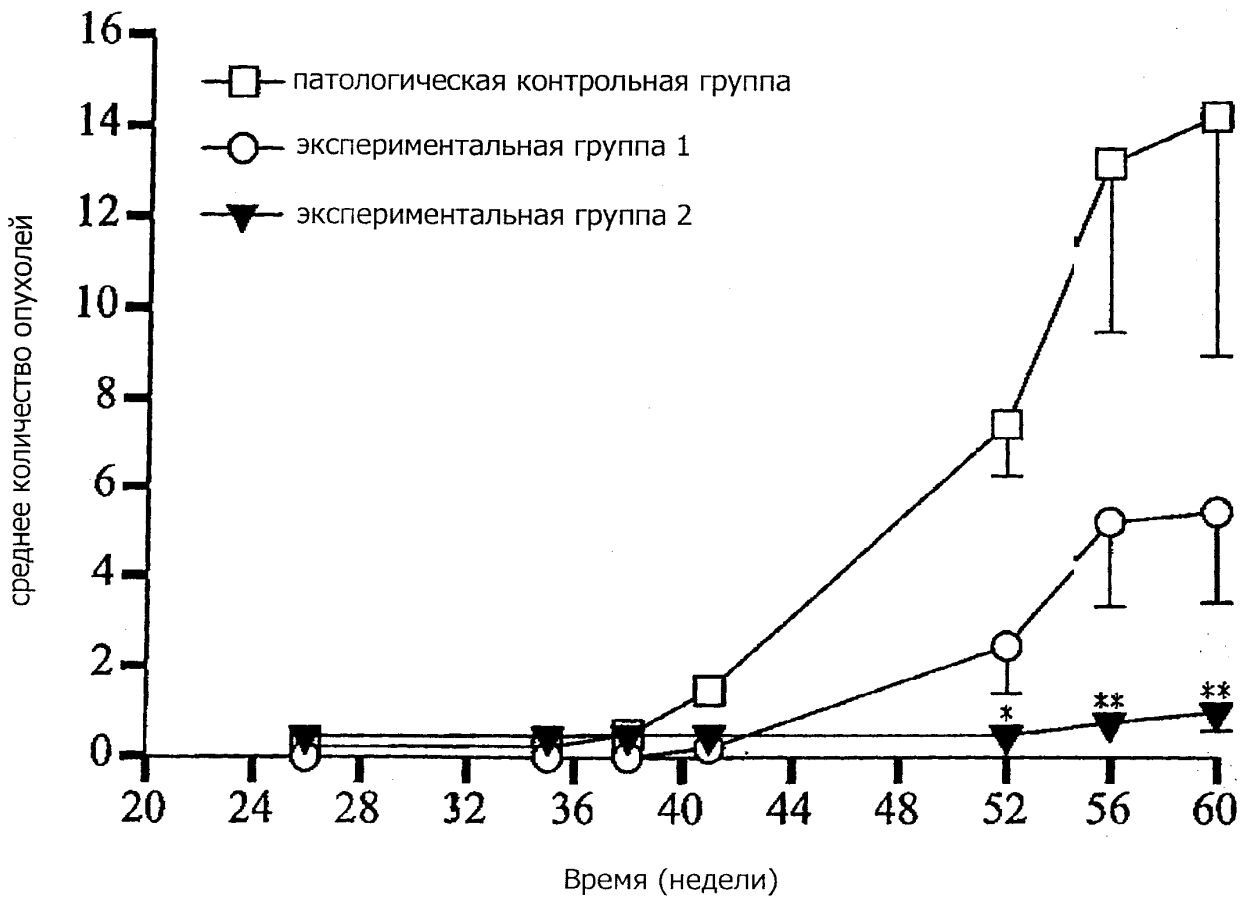
Фиг. 4



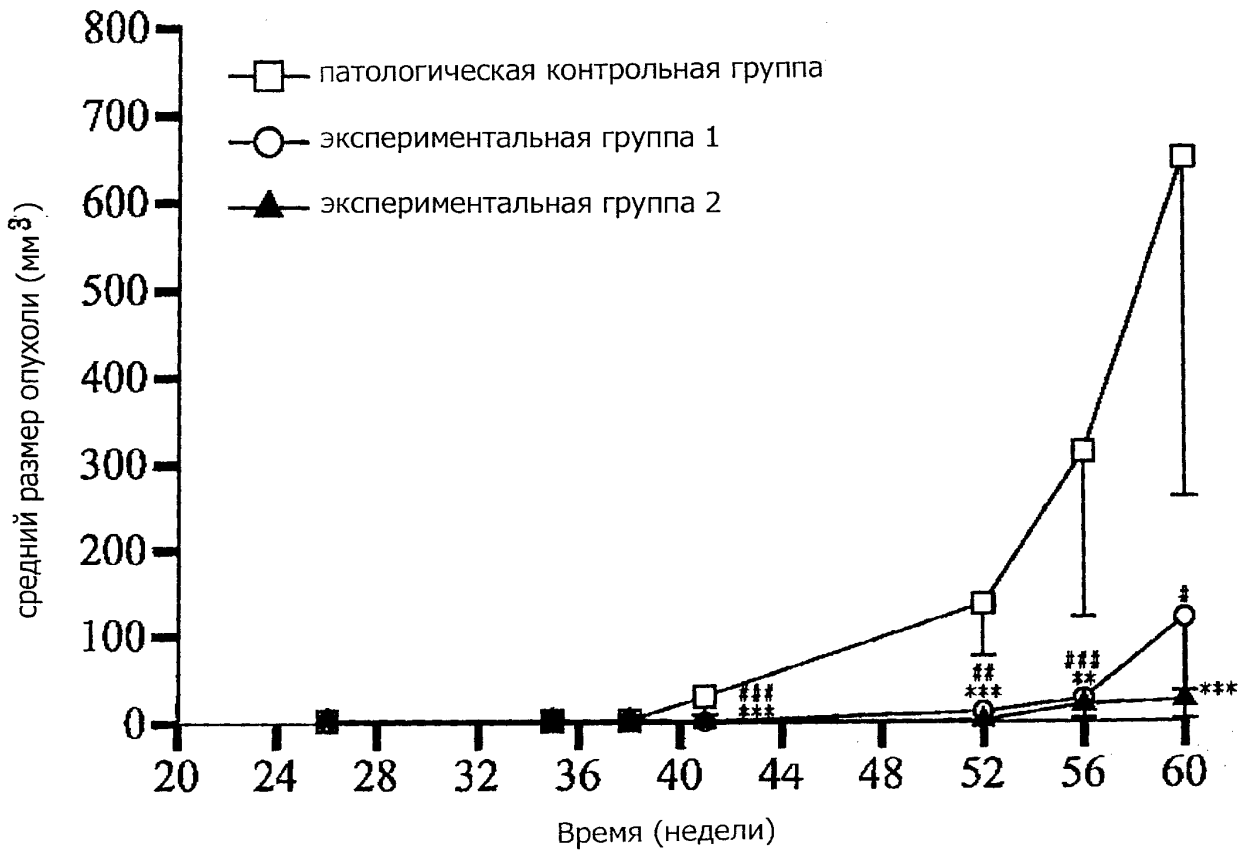
Фиг. 5



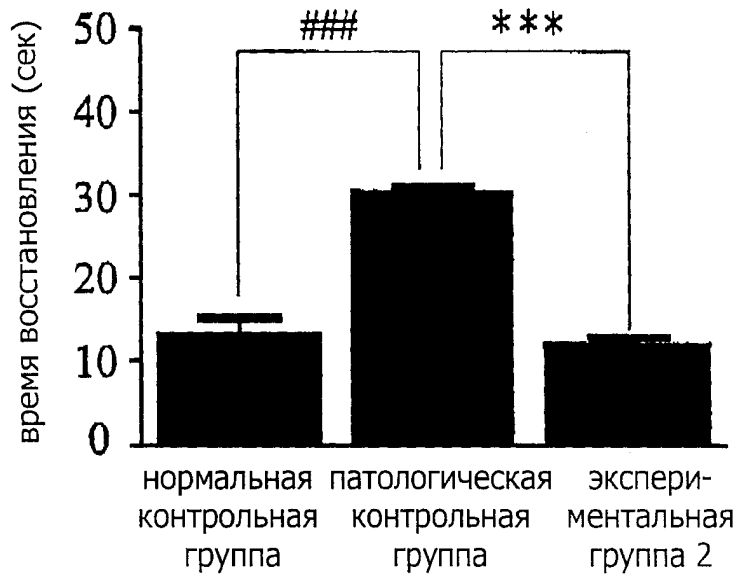
Фиг. 6



Фиг. 7



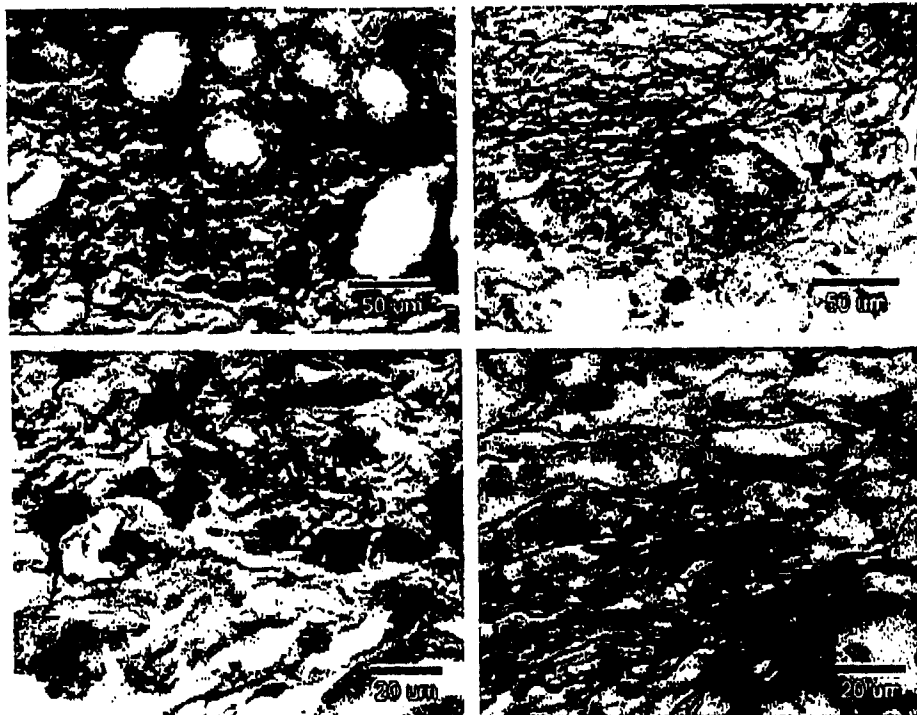
ФИГ. 8



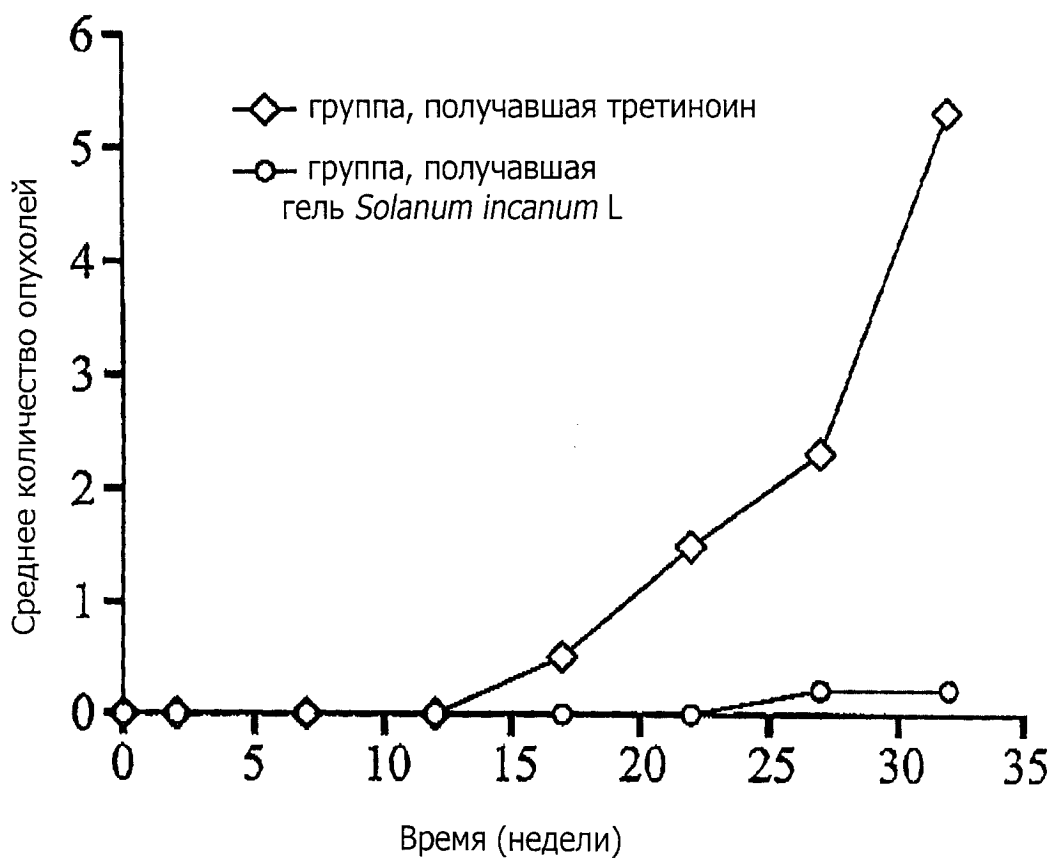
ФИГ. 9

патологическая  
контрольная  
группа

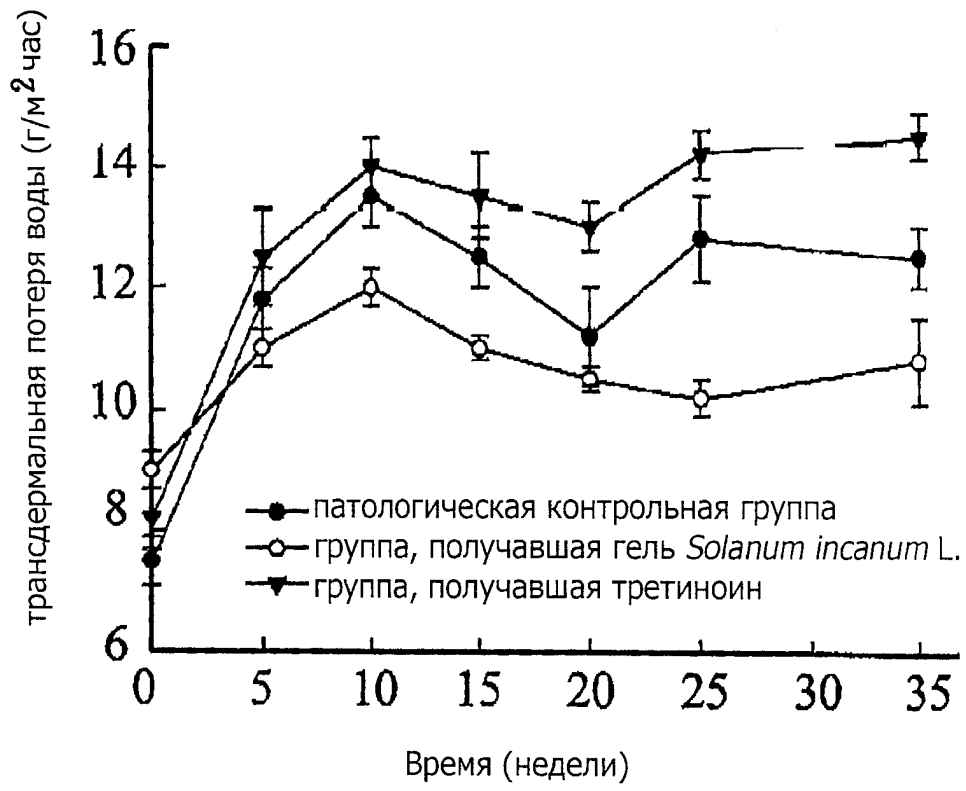
экспериментальная группа 2



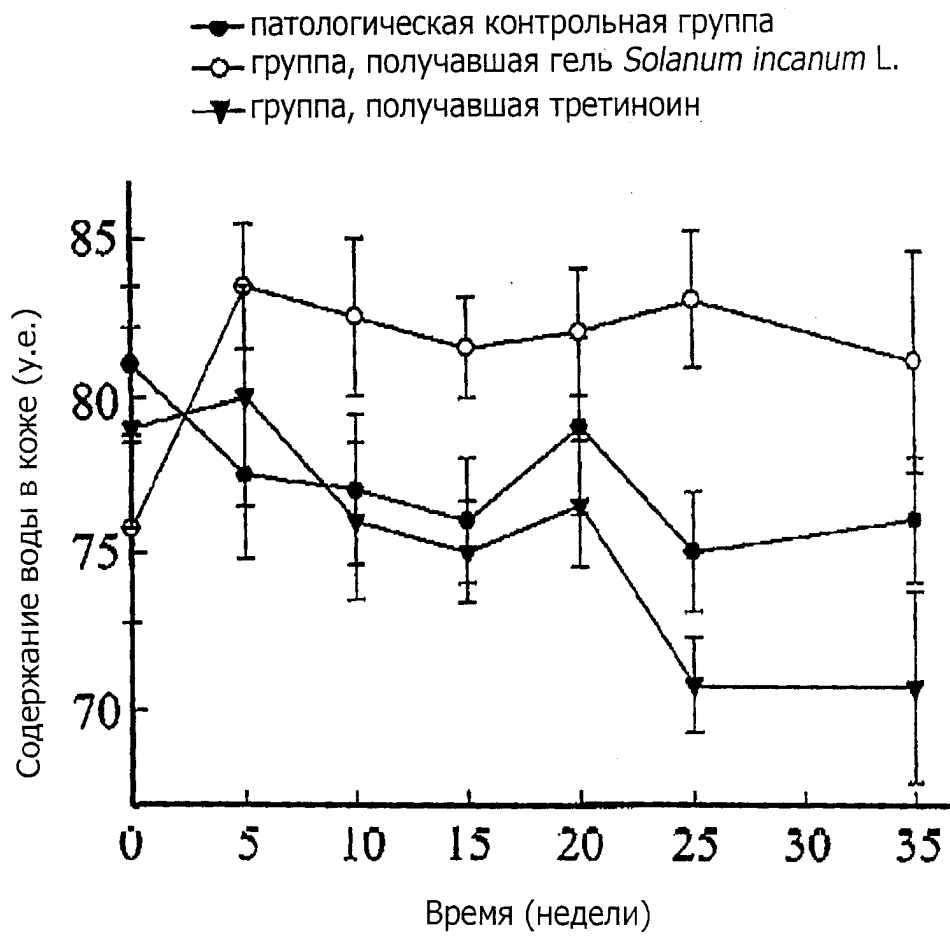
Фиг. 10



Фиг. 11



Фиг. 12



Фиг. 13