



(12)

## CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2017 00747**

(22) Data de depozit: **27/09/2017**

(41) Data publicării cererii:  
**30/05/2018** BOPI nr. **5/2018**

(71) Solicitant:

• UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI  
FARMACIE "CAROL DAVILA" DIN  
BUCUREȘTI, STR.DIONISIE LUPU NR.37,  
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;  
• HOFIGAL EXPORT - IMPORT S.A.,  
INTRAREA SERELOR NR.2, SECTOR 4,  
BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

• DINU MIHAELA, STR. ȘOIMĂREȘTILOR  
NR. 19, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;  
• ANCUCEANU ROBERT VIOREL,  
STR.MOȚOC NR.2, BL.P3, SC.3, ET.4,  
AP.72, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;  
• OLARU TUDOREL OCTAVIAN,  
STR.ZBOINA NEAGRĂ NR.5, BL.98, AP.8,  
SC.6, BUCUREȘTI, B, RO;  
• HOVANET MARILENA VIORICA,  
STR. CĂLINULUI NR. 13, SECTOR 2,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• ANGHEL ADRIANA IULIANA,  
STR. SOLD. N. SEBE NR. 5, BL. S24,  
AP. 36, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;  
• NEGREȘ SIMONA, ȘOS.GIURGIULUI  
NR.121, BL.5, SC.2, AP.44, SECTOR 4,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• ȘEREMET OANA CRISTINA,  
CALEA GIULEȘTI, NR.43, BL.14A, SC.1,  
ET.6, AP.23, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,  
RO;  
• ZBÂRCEA CRISTINA ELENA,  
STR. CALEA VĂCĂREȘTI NR. 308, BL. 1E,  
ET. 2, AP. 12, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,  
RO;

• DINU PÂRVU CRISTINA ELENA,  
STR.GH.LAZĂR NR.10, ET.1, SECTOR 1,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• ARSENE ANDREEA LETIȚIA,  
STR.ÎNVINGĂTORILOR NR.19, ET.1, AP.2,  
SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;  
• DRĂGOI CRISTINA, STR.VETERANILOR  
NR.10, BL.C2, ET.4, AP.49, X, RO;  
• POPESCU CARMEN,  
STR.SOLD.ENE MODORAN NR.14,  
BL.M185, SC.1, ET.2, AP.11, SECTOR 5,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• DUNE ALINA,  
BD.CONSTANTIN BRÂNCOVEANU NR.118,  
BL.MIII/4, SC.2, ET.8, AP.153,SECTOR 4,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• NIȚULESCU GEORGE MIHAI,  
ȘOS.OLTENIȚEI NR.40-44, BL.6A, SC.4,  
ET.7, AP.145, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,  
RO;  
• BĂBEANU NARCISA, ȘOS.VIRTUȚII  
NR.5, BL.K2, AP.50, SECTOR 6,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• POPA OVIDIU, CALEA GRIVIȚEI NR. 206,  
BL. K, SC. D, AP. 26, SECTOR 1,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• LIVADARIU OANA, STR.POLONĂ NR.228,  
OTOPENI, IF, RO;  
• MANEA ȘTEFANIA, ALEEA BACAU NR.9,  
BL.H1, SC.1, ET.4, AP.78, SECTOR 5,  
BUCUREȘTI, B, RO;  
• NICOLAE ALINA CRENGUȚA,  
STR.EPIGONILOR NR.110, SECTOR 5,  
BUCUREȘTI, B, RO

(54) **EXTRACT SELECTIV DE MORUS ALBA L. DE UZ TOPIC,  
CU UTILITATE ÎN TRATAMENTUL DERMATITEI ATOPICE**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un extract selectiv de *Morus alba* L. și la un procedeu pentru obținerea acestuia, utilizat în terapia antialergică. Extractul conform invenției are un conținut de polifenoli totali exprimați în acid galic de 0,6...4,69 g%, și un conținut de flavonoide totale exprimate în quercetol de 1,18...1,59 g%. Procedeul conform invenției constă în extracția la reflux de 1-2 ori a materialului vegetal cu etanol 50%, în raport de 1:10,

timp de 30...60 min, concentrarea soluțiilor extractive la temperatura de 50°C, uscarea extractului prin liofilizare, după care extractul total este purificat prin fracționare, din care rezultă extractul selectiv cu un randament de 36,82%.

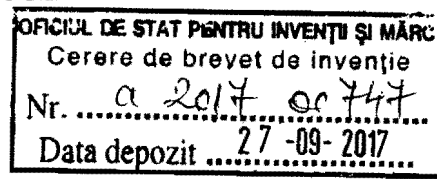
Revendicări: 4  
Figuri: 3

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



66

## EXTRACT SELECTIV DE *MORUS ALBA* L. DE UZ TOPIC CU UTILITATE ÎN TRATAMENTUL DERMATITEI ATOPICE



### Domeniul tehnic la care se referă invenția:

Prezenta invenție se referă la un extract vegetal selectiv pentru abordarea terapeutică a dermatitei atopice și la formularea acestuia pentru administrare topică.

### Stadiul tehnicii:

**Dermatozele** sunt afecțiuni mediate imunologic ale epidermei. Acestea se manifestă prin urticarie și eczeme/dermatite. Datorită complexității mecanismelor implicate și numeroaselor cauze care determină răspunsul imun și declanșarea acestor afecțiuni, tratamentul disponibil vizează simptome comune în dermatoze și anume: prurit, inflamație și eritem<sup>i, ii, iii</sup>.

Terapia topică reprezintă o componentă fundamentală în arsenalul dermatologilor. Produsele topice reprezintă varianta de primă alegere de către dermatologi datorită riscului scăzut de reacții adverse comparabil cu medicația sistemică. În funcție de componente, aplicarea de preparate topice urmărește trei aspecte: refacerea barierei naturale a pielii cu emoliente, tratarea inflamației și a pruritului cu agenți antiinflamatori - corticosteroizi specifici, inhibitori de calcineurină și gudron și alți agenți antipruriginoși fără mecanism direct asupra inflamației – mentol, N-palmitoletanolamina, capsaicină, doxepină și naltrexonă<sup>iv, v, vi, vii, viii, ix</sup>. Refacerea și menținerea în stare funcțională a barierei epidermice este importantă în primul rând pentru a limita pierderea de apă de la nivelul celulelor și în al doilea, pentru a preveni pătrunderea alergenilor care, altfel ar agrava simptomele<sup>x, xi</sup>. Indirect, folosirea emolienților adecvați, conduce la reducerea pruritului și a inflamației locale<sup>xii</sup>. În același timp emolientele reprezintă un vehicul pentru medicamentele antiinflamatoare<sup>xiii, xiv</sup>. Unele dintre cele mai noi vehicule includ acidul hialuronic<sup>xv, xvi</sup>, amestecuri de ceramide, colesterol și acizi grași care mimează stratul cornos<sup>xvii</sup> sau creme/emulsii cu uree în concentrație de 5%<sup>xviii</sup>.

Glucocorticosteroizii topici sunt frecvent folosiți ca agenți antiinflamatori în tratamentul dermatitelor. Cu toate că aceștia nu sunt recomandați ca tratament de primă alegere, sunt foarte utili în recidive și formele grave. Cei mai utilizați sunt corticosteroizii halogenați (betametazonă 0,1 %, fluocinolon 0,025%, triamcinolon 0,025/0,1% în unguente sau, mai rar, geluri) și hidrocortizonul (în conc. de 1%). Reacțiile adverse comune sunt cele locale (formarea de striuri, atrofierea și subțierea pielii, ulceratii, acnee, telangiectazie), reacții sistemice fiind foarte rar raportate<sup>xix</sup>. Inhibitorii de calcineurină (tacrolimus 0,1 și 0,03% și pimecrolimus 1%) reprezintă

opțiuni de tratament relativ noi. Administrarea acestora pe cale cutanată a condus la rezultate satisfăcătoare din punct de vedere al eficacității<sup>xx, xxi, xxii</sup> datele privind siguranța la administrare îndelungată sunt mai limitate<sup>xxiii</sup> și există rezerve la utilizarea lor din cauza riscului de infecții la locul de aplicare și a îngrijorărilor privind un potențial risc de malignități<sup>xxiv</sup>.

Mai recent, s-au investigat agenți antiinflamatori inovatori de tipul “oligodeoxinucleotidelor topice momeală (*decoy*)”, implicate în blocarea legării factorilor de transcripție la regiunile promotoare ale genelor implicate în procesul inflamator<sup>xxv, xxvi</sup>, suplatat tosilatul (inhibitor al sintezei de citokine de către limfocitele Th2 în combinație cu tacrolimus)<sup>xxvii, xxviii</sup>. Aceștia au dovedit o oarecare eficacitate în tratamentul antiinflamator din dermatite, dar nu au fost încă autorizați pentru utilizare în practica clinică. Administrarea de doxepină sub formă de cremă 5% prezintă un efect relativ scăzut comparativ cu antihistaminicele orale și poate conduce la reacții adverse – ușoară somnolență, senzație de arsură, uneori chiar exacerbarea simptomelor dermatitei<sup>xxix, xxx, xxxi</sup>. Naltrexona administrată cutanat a produs o scădere a pruritului de 29,4% comparativ cu placebo, nefiind totuși aprobată în prezent pentru tratamentul dermatitei atopice<sup>xxxii</sup>. N-palmitoletanolamina acționează pe receptorii canabinoidici, având acțiune antiinflamatoare și analgezică<sup>xxxiii</sup>. În urma administrării unei creme cu 0,3% N-palmitoletanolamină la pacienți (2456) cu dermatită atopică s-a observat o ameliorare a simptomelor dermatitei atopice (uscarea pielii cu lichenificare, eritem, prurit) după aproximativ 6 zile, evaluarea făcându-se însă fără un grup de control<sup>xxxiv</sup>. Mentolul 16% este util în prurit. Chiar dacă mecanismul de acțiune al mentolului nu este încă pe deplin elucidat, în practică se utilizează sub formă de suspensii sau geluri (max. 16%); o explicație ar fi acțiunea asupra canalelor TRMP8, care, în urma activării fibrelor A-delta, stimulează activarea receptorilor k opioizi<sup>xxxv, xxxvi</sup>. Totuși, are reacții adverse care includ pe lângă eritem local, senzație de arsură, uscarea pielii și dermatita de contact<sup>xxxvii, xxxviii</sup>. În urma evaluării eficacității capsaicinei la pacienți cu *prurigo nodularis*, aceasta a condus la înlăturarea pruritului după 12 zile<sup>xxxix</sup>. Capsaicina se leagă de canalele ionice TRPV1 conducând la depleția depozitelor de neuropeptide și desensibilizarea receptorilor la nivelul fibrelor C<sup>xl</sup>. Reacțiile adverse includ senzație de arsură, eritem și intensificarea pruritului. Terapia cu capsaicină este de ultimă alegere; este recomandată începerea cu doze de 0,025% sau 0,006% (în zone sensibile) și creșterea graduală a acestora<sup>xli</sup>.

Efectele adverse care însoțesc tratamentul topic sunt însemnate, acestea uneori limitând utilizarea medicamentelor existente. Plantele medicinale reprezintă alternativa terapeutică la tratamentele descrise anterior. Cu toate că au fost raportate efectele adverse la administrarea topică a plantelor medicinale, efectele sunt de intensitate redusă și pot fi controlate prin

obținerea unor extracte cu reacții adverse minime sau chiar lipsite de toxicitate<sup>xlii, xliii, xliv</sup>. În continuare prezentăm speciile vegetale și biocompușii cu acțiune antialergică la administrare topică .

*Biocompușii responsabili de acțiunea antialergică.* Principalele clase de fitocompuși prezente în produse dermato-cosmetice cu acțiune antipruriginoasă, antieritematoasă și antiinflamatoare sunt: lipidele, compușii fenolici, iridoidele și alcaloizii<sup>xlv</sup>.

Lipidele (uleiurile vegetale), prin aplicare topică, pe lângă acțiunea emolientă, exercită și o serie de efecte biologice specifice: antiinflamatoare, antieczematoasă și cicatrizantă; în afară de aceste efecte, lipidele vegetale constituie vehicule importante pentru substanțele active, în special cele lipofile<sup>xlvi</sup>. Astfel, uleiul de *Helianthus annuus*, untul de cacao din *Theobroma cacao* și uleiul de mango (*Mangifera indica*) sunt bogate în acid linoleic. Acesta este util în tratarea leziunilor psoriazisului (asemănătoare cu cele din dermatita atopică). Ceara lichidă de jojoba (*Simmondsia chinensis*) favorizează penetrarea steroizilor în straturile inferioare ale epidermei; uleiurile grase obținute din semințele de *Borago officinalis*, *Plukenetia volubilis* și *Oenothera biennis* au un conținut crescut de acizi grași polinesaturați (în special  $\omega$ -3  $\alpha$ -linolenic, și  $\omega$ -6 linoleic) – cu acțiune antieczematoasă. Totuși, îmbunătățirea scorurilor în dermatita atopică a fost demonstrată statistic numai la administrarea sistemică, la administrarea topică observându-se ameliorarea simptomelor, fără a fi însă semnificativă statistic comparativ cu placebo<sup>xlvii</sup>.

Compușii fenolici sunt prezenți în specii vegetale superioare (*Dicotyledonatae* și *Monocotyledonatae*). Cu toate acestea polifenolii variază din punct de vedere calitativ și cantitativ de la o specie la alta. Adminstrarea topică a extractelor vegetale cu polifenoli în tratarea dermatitelor s-a dovedit a fi benefică. În acest sens s-a demonstrat că extractul etanolic 70 % (cu conținut bogat în acid shikimic) din fructele de *Illicium verum* aplicat topic, a inhibat dezvoltarea leziunilor induse la șoareci NC/Nga și a scăzut nivelul seric de IgE și de histamină. Consecutiv acestui efect, s-a înregistrat și o scăderea a citokinelor, chemokinelor și moleculelor de adeziune<sup>xlviii</sup>. Un alt compus fenolic, epigalocatechin-3-galatul, unul dintre biocompușii principali din frunzele de *Camellia sinensis*, aplicat direct pe leziunile induse pe model experimental la animal a redus semnificativ comparativ cu martorul eritemul, edemul, lichenificarea și leziunile cutanate. Rezultatele au fost totuși inferioare celor obținute cu unguentul cu tacrolimus 0,1%. În același timp s-a înregistrat scăderea semnificativă a citokinelor produse de celulele Th<sub>2</sub><sup>xlix</sup>. *Houttuynia cordata* și *Ulmus davidiana* var. *japonica* sunt alte două specii bogate în polifenoli care au prezentat acțiune antialergică la administrarea topică într-un gel pe bază de alcool polivinilic<sup>l</sup>. Conținutul majori din *Houttuynia cordata* sunt quercitrina, quercetolul, și hiperozida<sup>li</sup>, iar în *Ulmus davidiana* var. *japonica* sunt taninurile

catehice și sesquiterpenele<sup>lii, liii</sup>. Frunzele de *Psidium guajava* sunt utilizate tradițional pentru acțiunea antiinflamatoare și cicatrizantă<sup>liv</sup>. Acțiunea antiinflamatoare a fost demonstrată *in vitro* și *in vivo* (șoarece) de Seo et al.(2005); mecanismul propus este de reglare a raportului dintre Th1/Th2 prin creșterea Th1<sup>lv</sup>. La administrarea topică a extractului apos din frunze (ale speciei *P. guajava*) în experimente pe șoareci, rezultatele din studiile anterior menționate au fost confirmate<sup>lvi</sup>. Principalii biocompuși identificați sunt taninurile (8,5%), flavonoidele (miricetol – 208,44 mg/Kg, quercetol – 2883,08 mg/Kg, luteol – 51,22 mg/Kg și kaempferol – 97,25 mg/Kg), alături de uleiuri volatile, steroli și rezine<sup>lvii</sup>. Nu au fost încă efectuate studii clinice privind această acțiune topică. Nepetina, jaceosidina și hispidulina sunt flavonoide izolate din partea aeriană de *Eupatorium arnottianum*, a căror activitate antiinflamatoare a fost demonstrată în modele experimentale la șoarece<sup>lviii</sup>. Alte specii vegetale pentru care s-a demonstrat acțiunea antialergică/antiinflamatoare (a polifenolilor) la administrare topică pe animale de laborator sunt: *Tanacetum parthenium*<sup>lix</sup>, *Cayaponia tayuya*<sup>lx</sup> și *Hamamelis virginiana*<sup>lxi</sup>.

Iridoidele sunt biocompuși care au dovedit eficacitate în tratarea leziunilor dermatitei atopice pe model experimental la animal. Liofilizatul obținut din extractul metanolic de rădăcină de *Sophora flavescens* inhibă degranularea mastocitelor în experimentele *in vitro* și *in vivo* (șoarece)<sup>lxii</sup>. O altă specie verificată ca potențială alternativă terapeutică în dermatita atopică este *Catalpa ovata*. În urma aplicării topice a unui unguent cu 1 și respectiv 2% extract din scoarță, la ambele concentrații au fost înregistrate îmbunătățiri ale valorilor markerilor biochimici și ale scorurilor farmacologice, neputând însă a fi corelată concentrația cu efectele observate. Activitatea antiinflamatoare a extractului a fost pus pe seama iridoidelor<sup>lxiii</sup>, identificate de Lino von Poser et al. (2000)<sup>lxiv</sup>. Jeong. et al. (2002) au evidențiat acțiunea antiinflamatoare *in vivo* a iridoidelor din *Rehmannia glutinosa*, iar Sung et al. (2011) acțiunea antialergică pe model animal de dermatită atopică,<sup>lxv, lxvi</sup>. Specia conține iridoide, în special aucubină<sup>lxvii</sup>.

Polifenolii din specii aparținând diferitelor familii (*Solanaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Rosaceae, Liliaceae, Orchidaceae* etc.)<sup>lxviii, lxix, lxxl, lxxii, lxxiii, lxxiv</sup> obținuți fie din alimentație, fie prin aplicarea pe piele, pot ameliora simptomele și pot inhiba dezvoltarea diferitelor afecțiuni ale acesteia. Ei reprezintă un instrument promițător în tratarea sau ameliorarea diferitelor afecțiuni ale pielii. De aceea recent au apărut numeroase rapoarte privind terapia afecțiunilor cutanate cu compuși dintr-un extract sau combinații de compuși sau extracte provenite de la diferite specii<sup>lxv</sup>.

Fructele diferitelor specii cunoscute tradițional pentru tratarea inflamației, edemului au

fost utilizate pentru obținerea unor extracte. Efectele acestora sau ale diferitelor fracțiuni au fost investigate la șoarecii NC / Nga expuși la extractul *Dermatophagoides farinae*. Aplicarea topică a extractului *F. suspensa* și constituentul său matairezanolul a redus în mod eficient simptomele AD. Rezultate bune s-au obținut și în cazul extractului din fructe de *Gardenia jasminoides* și a genipozidei. Deci acestea ar putea fi soluții terapeutice pentru tratarea tulburărilor inflamatorii alergice cum ar fi AD<sup>lxxvi</sup>, <sup>lxxvii</sup>.

Multe specii vegetale au fost investigate pentru potențialul terapeutic în dermatita atopică fie singure, fie sub diferite formulări. Astfel pentru formula cunoscută în China ca Pei Tu Qing Xin Tang (PTQXT) ce conține *Radix Pseudostellariae*, *Forsythia suspensa*, *Ramulus Uncariae cum Uncis*, *Medulla Junci*, *Herba Lophatheri*, *Semen Coicis*, *Rhizoma Dioscoreae*, *Concha Ostreae*, *Radix Glycyrrhizae* - a fost demonstrată eficacitatea în reducerea severității bolii și îmbunătățirea calității vieții pacienților cu dermatită atopică, severă sau moderată<sup>lxxviii</sup>. O altă formulă cunoscută în medicina tradițională chineză, Huang-Lian-Jie-Du decoct (HLJDD) asociază *Coptidis rhizoma* (Huang-Lian), *Scutellariae radix* (Huang-Qin), *Phellodendri Chinensis cortex* (Huang-Bai) și *Gardenia fructus* (Zhi-Zi) într-un studiu *in vitro* și demonstrează efectele antiinflamatoare și anti-alergice semnificative ale acestuia prin suprimarea producției de mediatori alergici și inflamatoare prin inactivarea NF-kB și MAPK și degradarea IκBα în celulele RAW24.7 stimulate cu LPS, pe calea inactivării MAPK și Lyn în celulele RBL-2H3 antigen induse<sup>lxxix</sup>. Asocierea a două specii *Saussurea costus* (*Aucklandia lappa* Decne, *Aucklandiae Radix-Asteraceae*, SC) și *Thuja orientalis* L. (TOL) utilizate în mod tradițional ca agenți antiinflamatori în Coreea a fost verificată comparativ cu extractele plantelor separate, în atenuarea simptomelor dermatitei atopice prin aplicare locală. Extractele asociate standardizate (SC în acid clorogenic, iar TOL în catechină și apigenină) au ameliorat simptomele AD prin reducerea activității pro-inflamatorii și a răspunsurilor imune supra-activate. Rezultatele sugerează că asocierea celor două extracte poate fi o alternativă mai eficientă în managementul dermatitei atopice<sup>lxxx</sup>. Însă nu întotdeauna asocierea are rezultate mai bune. Astfel rezultatele unui alt studiu au dus la concluzia că tratamentul cu o combinație a trei plante: *Eleutherococcus*, *Achillea millefolium* și *Lamium album* deși scade rapid simptomele AD și induce o rată ridicată de remisiune parțială, nu diferă de efectele placebo. Prin urmare, cercetătorii care au desfășurat studiul nu susțin utilizarea clinică a acestei combinații de trei plante<sup>lxxxii</sup>.

Au fost înregistrate o serie de brevete care se referă la obținerea unor noi forme farmaceutice cu efect antialergic utile în tratamentul unor patologii cutanate diverse (dermatită atopică, eczema, urticarie). Harry A. Dugger (2007) a constatat că o combinație a unui

antihistaminic cu un corticosteroid este mai eficientă în remiterea simptomelor de dermatită atopică.<sup>lxxxii</sup>

Pentru tratamentul dermatitei atopice a fost realizată o combinație de polividonă – lipozomi.<sup>lxxxiii</sup> Masahiko Kuroda et al. (2010) au demonstrat eficacitatea celulelor stem în această afecțiune.<sup>lxxxiv</sup> Diversi compuși au fost testați și propuși ca tratament al dermatitei atopice: xantină<sup>lxxxv</sup>, antagonist de interleukin-4<sup>lxxxvi</sup>, rafinoză<sup>lxxxvii</sup>, glucozamina<sup>lxxxviii</sup>, 1-kestoza<sup>lxxxix</sup>, violet de gențiană<sup>xc</sup>, acizi polinesaturați cu lanț lung (LC-PUFA)<sup>xcii</sup> sau steviolglicozide<sup>xcii</sup>.

Sung Sick Woo et al.(2012) au brevetat o combinație din două extracte obținute din *Bambus sp.* și *Scutellaria sp.* pentru tratamentul și prevenirea dermatitei atopice prin inhibarea eliberării histaminei și leucotrienelor.<sup>xciii</sup> Un alt brevet se referă la tratamentul afecțiunilor alergice cu pulbere obținută din frunzele de *Psidium guajava*.<sup>xciv</sup> De asemenea a fost brevetat (2010) un remediu vegetal conținând o combinație de extracte obținute din *Sophora sp.*, *Glycyrrhiza glabra*, *Lonicera sp.*, *Angelica sp.*, *Aralia sp.*, *Saussurea sp.*, *Seselos sp.* (rădăcina), *Zizyphus spinosi*, *Houttuynia cordata*, *Forsythia sp. (fruct)*, *Epimedium koreanum* Nakai, *Panax ginseng*, *Lithospermum sp.*, *Cnidium sp.*, *Scrophularia sp.* și *Fallopia sachalinensis*.<sup>xcv</sup> Efecte antiinflamatoare s-au constatat pentru extractul obținut din *Abeliophyllum distichum* Nakai.<sup>xcvi</sup>

Chiang Zuan-Hsiang (2014) a realizat lipozomi care conțin acid lactic combinat cu extracte vegetale.<sup>xcvii</sup> Kim Jeoung Hyoun a brevetat o combinație de trei extracte (*Houttuynia cordata*, *Centella asiatica* și *Glycyrrhiza glabra*) cu efecte benefice în dermatita atopică<sup>xcviii</sup>. Eficientă în tratarea acestei afecțiuni s-a dovedit combinația a patru extracte obținute din *Ulmus davidiana*, *Cassia obtusifolia*, *Taraxacum platycarpum* și *Prunus salicina*<sup>xcix</sup>. Pentru efectul antidermatitic au fost breveteate următoarele extracte vegetale: *Rhododendron mucronulatum*<sup>c</sup>, *Momordica charantia*<sup>ci</sup>, *Vitis sp.* și *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.<sup>cii</sup> Combinația extractelor obținute din rădăcină de *Lindera sp.*, *Scutellaria sp.*, *Achyranthis sp.* și *Asiasarum sp.*, semințe de *Theobroma cacao*, fruct de *Citrus aurantium*, lujeri de *Mucuna birdwoodiana*, scoarță de *Cinnamomum, sp.* și *Magnolia sp.*, frunze de *Geranium thunbergii* a demonstrat un efect antialergic prin inhibarea eliberării histaminei<sup>ciii</sup>. Același efect antihistaminic a fost experimentat și pentru *Copaiba multijuga* Hayne, *Operculina altissima* Meissn, *Symphytum officinale* Linne<sup>civ</sup>, *Rubus palmatus* și *Momordica grosvenorii*<sup>cv</sup>.

### **Expunerea detaliată a invenției**

Invenția de față se referă la obținerea unui extract selectiv de *Morus alba* L. și la evaluarea proprietăților antialergice în vederea utilizării ca tratament dermic. Obiectul invenției constă într-un procedeu de obținere a extractului vegetal caracterizat calitativ și cantitativ și evaluarea capacității antialergice prin model experimental pe șoarece.

Extractul conform invenției este un extract vegetal purificat din frunzele de *Morus alba* L., cu un conținut de polifenoli totali exprimați în acid galic de 0,60 - 4,69 g% și un conținut de flavonoide totale exprimate în quercetol de 1,18 - 1,59 g%. Procedeu conform invenției presupune obținerea unui extract total și purificarea prin fracționare a acestuia pe coloană. Procedeu de obținere a extractului total conform invenției presupune extracția la cald de 1-2 ori timp de 30 - 60 min a produsului vegetal cu amestec de alcool etilic și apă în proporție de 1:1, în raport cantitativ volum material vegetal:solvent de 1:10, urmată de concentrarea la evaporator rotativ și uscarea prin liofilizare.

Procedeu de purificare conform invenției presupune fracționarea extractului total pe coloană deschisă ( $d = 30$  mm,  $L = 500$  mm) cu fază staționară de silicagel 60 70-230 mesh, 63-200  $\mu\text{m}$  și solvent în gradient treptat: 100:0, 25:75, 50:50, 75:25 și 0:100. Au fost folosite următoarele perechi de solvenți: eter etilic:acetat de etil, acetat de etil:metanol și metanol:1% acid acetic în metanol; cu colectarea fracțiunii finale eluate cu solventul metanol:1% acid acetic în proporție de 100:0...0:100. Procedeu de fracționare poate extinde utilizând solvenți de tipul eter etilic:acetonitril, acetat de etil:diclormetan și diclormetan:1% acid acetic în etanol.

Pentru caracterizarea calitativă a extractului s-au efectuat amprentele prin spectrometrie infraroșu (IR) și cromatografie de lichide (HPLC), iar pentru caracterizarea cantitativă s-au efectuat dozări spectrofotometrice de polifenoli totali și flavonoide totale. Extractul selectiv a fost testat *in vivo* (la șoarece) pentru efectul de reducere a hipersensibilității întârziate în dermatite de tip alergic.

#### **Avantajele aplicării invenției sunt:**

- materia primă vegetală se obține din culturi biologice;
- obținerea extractului vegetal se face utilizând solvenți convenabili;
- extractul vegetal selectiv este obținut printr-un procedeu cu un randament bun de extracție a principiilor active;
- extractul vegetal selectiv obținut prezintă proprietăți antialergice și oferă o alternativă terapeutică pentru tratamentul dermatitei alergice;
- extractul vegetal selectiv poate fi ușor încorporat într-un preparat de uz topic.



Descrierea pe scurt a desenelor:

- fig.1 prezintă amprenta IR a extractului selectiv de *Morus alba* L.;
- fig.2 prezintă evaluarea acțiunii antialergice a a extractului selectiv de *Morus alba* L.;
- fig.3 prezintă profilul reologic pentru hidrogelul experimental cu extract vegetal selectiv.

În continuare invenția este ilustrată prin 4 exemple.

### **EXEMPLUL 1**

Descrierea etapelor de obținere a extractului selectiv de *Morus alba* L:

#### *Etapa I. Prelucrarea materiei prime (produsul vegetal)*

Frunzele de *Morus alba* L. se recoltează dintr-o cultură ecologică permanentă (de preferință în perioada mai-iunie), desprinderea frunzelor de pe ramurile tinere făcându-se prin strunjire. După recoltare frunzele sunt supuse procesului de uscare. Materia rezultată, denumită în continuare produs vegetal, conține mai puțin de 0,5% impurități provenite din alte specii vegetale și mai puțin de 1,5% impurități provenite din aceeași plantă. Materialul vegetal uscat a fost măcinat și trecut prin sita de 2 mm; pentru extracție s-a păstrat materialul reținut de sita de 1 mm;

#### *Etapa II. Obținerea extractului total intermediar*

Extracția s-a realizat la cald de 1-2 ori timp de 30 - 60 min a produsului vegetal cu amestec de alcool etilic și apă în proporție de 1:1, în raport cantitativ volum material vegetal:solvent de 1:10, urmată de concentrarea la evaporator rotativ (Ingos RVO 004, Cehia) și uscarea prin liofilizare. Randamentul de obținere a extractului total a fost de 14,21% cu un conținut de polifenoli totali exprimați în echivalenți acid galic de 7,33 g% și un conținut de flavonoide totale exprimate în echivalenți quercetol de 2,39 g%.

#### *Etapa III. Obținerea extractului selectiv*

Extractul total s-a supus fracționării pe coloană deschisă ( $d = 30$  mm,  $L = 500$  mm) cu fază staționară de silicagel 60 70-230 mesh,  $63-200$   $\mu\text{m}$  și solvent în gradient treptat: 100:0, 25:75, 50:50, 75:25 și 0:100. Au fost folosite următoarele perechi de solvenți: eter etilic:acetat de etil, acetat de etil:metanol and metanol:1% acid acetic în metanol. S-au colectat fracțiuni pentru fiecare treaptă de gradient, iar fracțiunile eluate cu solventul metanol:1% acid acetic în proporție s-au reunit. Soluțiile reunite anterior au fost concentrate la evaporator rotativ (Ingos RVO 004, Cehia) și uscate prin liofilizare. Randamentul de obținere a extractului selectiv a fost de 36,82% cu un conținut de polifenoli totali exprimați în echivalenți acid galic de 2,64 g% și un conținut de flavonoide totale exprimate în echivalenți quercetol de 1,38g %.

#### *Etapa V. Condiționarea extractului selectiv liofilizat*

Extractul obținut a fost condiționat în flacoane din sticlă brună cu dop din pvc, bine închise, la întuneric și conservat la temperatura camerei.

## EXEMPLUL 2

Caracterizarea extractului selectiv de *Morus alba* L.

### *Identificarea prin spectrometrie IR*

Spectrele IR au fost efectuate în pulbere solidă folosind un spectrometrul JASCO FT/IR4200 echipat cu un accesoriu ATR PRO450. Analizele s-au efectuat în dublicat, în domeniul spectral 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  analizând prezența grupelor funcționale. S-a măsurat coeficientul de corelare interspectrală pentru a dovedi caracterul unitar al extractului selectiv comparativ cu extractul total. Rezultatele au fost prelucrate cu ajutorul softului Spectra Manager v.2.

Analiza IR a extractului selectiv de *Morus alba* L indică prezența polifenolilor totali (fig. 1). De asemenea, spectrul prezintă o regiune de amprentă caracteristică extractului selectiv, regiune diferită de spectrul extractului total. Coeficientul de corelare dintre cele două spectre este de numai 0,60, confirmând o compoziție chimică selectivă.

### *Identificarea prin HPLC*

0,010 g extract selectiv se dizolvă în 10 mL etanol. Soluțiile se centrifughează la 6000 rpm (Centurion C2) și se folosește supernatantul filtrat în prealabil printr-un filtru de 0,22  $\mu\text{m}$ . Au fost aplicate metode specifice HPLC pentru acizii fenolici și flavonoide conform protocolului descris de Dinu și colab., 2016 cu unele modificări. S-a utilizat un sistem pentru cromatografie lichida HPLC-DIONEX, pompa P580 și detector UVD 340U-șir de diode. S-a utilizat o coloană Zorbax SB-18 (150 mm x 4.6 mm i.d. 3.5  $\mu\text{m}$ , HiChrom) la 25°C și o fază mobilă (faza A: metanol:acetonitril 1:1 cu 1% acid formic; faza B: apă cu 1% acid formic) în gradient liniar. Debitul a fost de 1 mL/min, iar volumul de injecție de 20  $\mu\text{L}$ . Detecția s-a realizat la 369 nm pentru flavonoide și 320 nm pentru acizii fenolici.

În extractul selectiv au fost identificați următorii polifenoli: acid clorogenic (TR=6,55), kaempferol (TR=19,60) și quercetol (TR=26,2).

### *Determinarea cantitativă a principiilor active*

Analiza principiilor active antioxidante - polifenoli totali exprimați în echivalenți de acid galic și flavonoide totale s-a efectuat prin metode spectrofotometrice cantitative.

0,020 g extract (exemplul 1) se dizolvă în 10 mL etanol 50%. Soluțiile se centrifughează la 6000 rpm (Centurion C2) și se folosește supernatantul. Volume corespunzătoare de supernatant

se folosesc pentru determinarea polifenolilor totali la 750 nm și a flavonoidelor totale la 430 nm conform procedurii descris de Olaru OT și colab., 2015<sup>vi</sup>.

Extractul selectiv prezintă un conținut de polifenoli totali exprimați în acid galic de 0,60 - 4,69 g% și un conținut de flavonoide totale exprimate în quercetol de 1,18 - 1,59 g%.

### EXEMPLUL 3

#### *Evaluarea acțiunii antialergice topice a extractului selectiv de Morus alba*

S-a evaluat eficacitatea extractului selectiv de *Morus alba* L. (300 μg/20 μL) în tratament topic, cronic, în model experimental de hipersensibilizare de contact indusă de 2,4-dinitrofluorobenzen la șoareci BALB/c/Br de sex feminin<sup>vii</sup>.

Animale: șoareci femele, BALB/c/Br, cu vârsta de 6-8 săptămâni, având greutatea cuprinsă între 21,12 ± 1,21g, (N=20), proveniți de la INCDMI CANTACUZINO Filiala Băneasa. Șoarecilor li s-a oferit acces la hrană și la apă ad libitum. Temperatura și umiditatea relativă au fost menținute la 21-24° C, respectiv 45-60% pe tot parcursul experimentului, și determinate cu ajutorul unui higrometru. Toate procedurile au fost efectuate respectând normele de bioetică în cercetarea pe animale de experiență în scop științific, conform Legii 43/2014 privind protecția animalelor utilizate în scopuri științifice și Directivei 2010/63/UE a Parlamentului European și a Consiliului din 22 septembrie 2010, privind protecția animalelor utilizate în scopuri științifice.

Substanțe utilizate. Extractul selectiv de *Morus alba* L s-a aplicat topic sub formă de suspensie obținută prin suspendare în acetonă/ulei de măsline în raport 4:1 (A/UM) în concentrație 0,15 % (300μg/20μL) și s-a păstrat la frigider (2-8°C).

S-a utilizat ca referință soluție obținută prin dizolvare de dexametazonă bază (Zentiva - România) în A/UM în concentrație 0,0375 % (75μg/20μL), și s-a păstrat la frigider (2-8°C). Pentru faza de sensibilizare s-a utilizat soluție de 2,4-dinitrofluorobenzen (Sigma-Aldrich, Germania) 0,5% în A/UM, iar pentru faza de elucidare soluție de 2,4-dinitrofluorobenzen 0,2% în A/UM.

Metode utilizate: *hipersensibilizarea în urma contactului cu 2,4-dinitrofluorobenzen* – s-a utilizat modelul experimental de hipersensibilizare de contact, descris de Gaspari et.al., 2001, utilizând ca alergen 2,4-dinitrofluorobenzen (DNFB).

Protocol experimental. În ziua -5 (Z<sub>-5</sub>) animalelor li s-a îndepărtat blana în zona dorsală (tunse până la piele). Șoarecii au fost împărțiți în 4 loturi a câte 5 animale/lot, care au fost tratate. S-a evaluat hipersensibilitatea prin măsurarea grosimii urechii cu ajutorul unui șubler digital (micrometru), cu sensibilitate de 0,01 mm. S-a determinat grosimea inițială a celor două urechi,

după 24 de ore de la aplicare alergenului la nivelul urechii și la diferite momente ale experimentului.

Rezultate experimentale și calcul statistic. Calculul statistic s-a realizat utilizând GraphPad Prism versiunea 5.00 pentru Windows, (GraphPad Software - San Diego, California, SUA, [www.graphpad.com](http://www.graphpad.com)). Stabilirea normalității s-a făcut utilizând testul *D'Agostino & Pearson*. Pentru compararea grupurilor s-au utilizat *testele parametrice: ANOVA* (compară n-grupuri) urmat de post test Dunnett (când se compară cu valoarea inițială de răspuns) sau post test Bonferroni (când se compară cu lotul martor) și *testele neparametrice: Kruskal-Wallis* (compară n-grupuri) urmat de post test Dunn's (când se compară cu valoarea inițială de răspuns sau cu un alt lot).

#### Rezultate

Modificarea grosimii urechii stângi pe parcursul experimentului, față de grosimea urechii drepte, respectiv grosimea urechii stângi, precum și modificarea grosimii urechii stângi, față de lotul M, respectiv lotul DEX este redată în graficele de mai jos.

Pentru animalele din lotul martor nu se observă modificări semnificative în ceea ce privește grosimea urechii stângi față de grosimea urechii drepte. Astfel vehicolul utilizat, A/UM, nu modifică parametrul (grosimea urechii) prin care se evaluează edemul produs de reacția alergică determinată de DNFB. În urma măsurării grosimii urechii stângi cu ajutorul micrometrului digital, pentru lotul DNFB, se observă valori mai mari ale mediei/lot atât față de urechea dreaptă cât și față de valorile lotului M. Acestea apar încă din ziua 6 și devin semnificative statistic din ziua 12 (vs UD 153,01%,  $p < 0,05$ ; vs M 155,58%,  $p < 0,001$ ) și ziua 14 (vs UD 212,20%,  $p < 0,015$ ; vs M 212,20%,  $p < 0,001$ ). Astfel se evidențiază reacția de hipersensibilizare indusă de DNFB în zilele 12 și 14. În urma administrării topice a dexametazonei (75μg/20μL), se înregistrează creșteri reduse ale grosimii urechii stângi comparativ cu grosimea urechii drepte și cu valorile măsurate la animalele din lotul martor. Comparativ cu lotul DNFB (martorul pozitiv) dexametazona a redus apariția reacției de hipersensibilizare întârziate, efect semnificativ statistic în ziua 8 (-42,37%,  $p < 0,01$ ); ziua 10 (-126,79%,  $p < 0,001$ ); și ziua 12 (-142,87%,  $p < 0,05$ ). Aceste rezultate confirmă eficacitatea corticosteroizilor aplicați topic în fenomene de hipersensibilizare datorată contactului cu alergeni.

În urma aplicării topice a extractului selectiv de *Morus alba* L s-au înregistrat creșteri ale grosimii urechii stângi comparativ cu grosimea urechii drepte și cu grosimea măsurată la șoarecii din lotul martor. Acestea au fost semnificative statistic, în zilele 12 și 14 (vs UD: 144,87%,  $p < 0,01$  și 163,64%,  $p < 0,001$ ; vs M: 147,44%,  $p < 0,001$  și 163,64%,  $p < 0,01$ ).

Comparativ cu lotul DNFB (martorul pozitiv) apare reducerea reacției de hipersensibilizare întârziată, în toate zilele de testare. Procentele cele mai mari se înregistrează în ziua 10 (-69,65%) și ziua 14 (-48,56%).

Urmărind modificarea grosimii urechii stângi pe parcursul experimentului, față de grosimea urechii drepte se observă o aliniere lineară asemănătoare efectului dexametazonei.

Rezultatele experimentale confirmă potențialul extractului selectiv de *Morus alba* L la utilizarea ca tratament topic în afecțiuni cu componentă alergică.

Extractul selectiv (300μg/20μL) reduce pe tot parcursul experimentului reacția de hipersensibilizare întârziată. În urma acestui experiment putem afirma că eficacitate extractului selectiv din frunze de *Morus alba* L (300μg/20μL) se datorează existenței mai multor principii active, care la asociere realizează un sinergism.

#### EXEMPLUL 4

*Obținerea unui hidrogel cu utilizare topică având ca substanță activă extractul selectiv de Morus alba L.*

Hidrogelul s-a preparat conform formulei din tabelul 1. Într-un pahar Berzelius se dispersează 1g Carbopol 940 în 60 ml apă distilată și se lasă la hidratare timp de 24 h. S-au adăugat apoi alcoolii, pe rând, în mici volume aduse alternativ și sub agitare continuă în baza de gel.

4,5 g extractul selectiv de *Morus alba* L se dispersează în 10 g glicerină, peste care se aduce în porțiuni mici, baza de gel, sub continuă agitare. S-a definitivat neutralizarea folosind 0,2 g trietanolamină, până la un pH 6.5 - 6.7. Gelul a fost adus la masa constantă de 100 g, adăugându-se restul de apă distilată. Încorporarea extractului selectiv de *Morus alba* L în baza de gel s-a realizat prin amestecare mecanică lentă (25 rpm) la agitator (Velp Scientifia type BS) și a fost continuată timp de 10 min după aducerea la masă constantă a hidrogelului experimental.

S-a caracterizat hidrogelul obținut din punct de vedere al proprietăților reologice și capacității de etalare<sup>cvi</sup>. Vâscozitatea a fost măsurată în funcție de viteza de forfecare aplicată. Condițiile experimentale au fost menținute constante în timpul desfășurării măsurătorilor. S-a urmărit revenirea de la cea mai mare valoare a tensiunii de forfecare la cea mai mică valoare, pentru a verifica tixotropia gelului. Temperaturile de lucru selectate au fost  $37,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  (temperatura corpului) și  $23,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  (temperatura de conservare a hidrogelurilor). Profilul reologic corespunzător ramurii ascendente a graficului vâscozitate în funcție de viteza de forfecare este reprezentat spre exemplificare în fig. 3 la temperaturile de  $23^{\circ}\text{C}$  și  $37^{\circ}\text{C}$ . Din

examinarea reogramei se constată că gelul prezintă o comportare nenevtoniană, pseudoplastică la ambele temperaturi.

**Tabelul 1 Compoziția hidrogelului**

Codul formulării	Compoziția	Cantitatea (g)
G2	Carbopol 940	1
	Alcool etilic	10
	Propilenglicol	10
	Glicerină	12
	TEA	0,2
	Apă distilată	q.s. ad 100

Pentru cuantificarea comportării pseudoplastice a formulării topice testate se utilizează modelul legii puterii care exprimă relația între vâscozitate și viteză de forfecare.

Acest model reologic se exprimă sub forma ecuației:

$$\eta = m \cdot \dot{\gamma}^{-n} \quad (1)$$

unde,  $m$  și  $n$  sunt parametri corelați cu factorii de formulare ai hidrogelurilor testate și sunt determinați prin linearizarea ec. (1) prin metoda dublei logaritmări. Se poate aprecia că valoarea lui  $m$  corespunde vâscozității obținute pentru valoarea vitezei de forfecare de  $1 \cdot s^{-1}$  (logaritmul pentru viteza de forfecare egală cu 1 este zero).

Valorile parametrilor reologici  $m$  și  $n$  descriși anterior, cât și a coeficientului de determinare  $R^2$  specific modelului ce descrie relația dintre vâscozitate și viteză de forfecare sunt înscrise în **tabelul 2**. Valorile coeficienților de determinare  $R^2$  obținute prin aplicarea modelului reologic al legii puterii arată că datele experimentale, la cele două temperaturi, verifică acest model.

**Tabel 2:** Valorile parametrilor  $m$  și  $n$  și ale coeficientului de determinare specifici modelului legii puterii aplicate hidrogelului testat la 23°C și 37°C

Hidrogel	23°C			37°C		
	$m$	$n$	$R^2$	$m$	$N$	$R^2$
G2	129.093	0.887	0.9998	104.607	0.917	0.9996

Pentru fiecare set de date reologice s-a evidențiat și aria de tixotropie, determinată la 23°C și 37°C, arie corespunzătoare transformării gelului în fluid, cu pierderea vâscozității, respectiv revenirii la starea de gel cu refacerea vâscozității pierdute. Tixotropia apare deoarece hidrogelul necesită o perioadă finită de timp pentru recuperarea vâscozității inițiale, respectiv pentru refacerea structurii originale care s-a distrus în timpul măsurătorilor de forfecare continue.

Examinarea reogramelor vâscozitate în funcție de viteza de forfecare, respectiv a reogramelor tensiune de forfecare în funcție de vâscozitate arată că hidrogelul testat prezintă o comportare nenevtoniană, pseudoplastică, respectiv tixotropă, la ambele temperaturi (23°C și 37°C). Caracterul pseudoplastic este demonstrat de scăderea vâscozității la creșterea tensiunii de forfecare, respectiv vitezei de forfecare; iar caracterul tixotrop este demonstrat de faptul că pentru aceeași viteză de forfecare, punctele de pe curbele de revenire corespund la tensiuni de forfecare mai joase decât de pe curbele directe. La aceeași viteză de forfecare se constată că vâscozitatea este mai mică la 37°C decât la 23°C ceea ce demonstrează faptul că la 37°C gelul devine mai puțin vâscos și astfel este favorizată cedarea principiului activ încorporat în hidrogel. Această comportare reologică permite o etalare corespunzătoare la administrarea cutanată a hidrogelurilor testate.

## Bibliografie

- <sup>i</sup> Steinhoff M, Cevikbas F, Yeh I, Chong K, Buddenkotte J, Ikoma A. Evaluation and management of a patient with chronic Pruritus, *J Allergy Clin Immunol*, 2012: 1015-6.
- <sup>ii</sup> Hong J, Buddenkotte J, Berger T, Steinhoff M. Management of Itch in Atopic Dermatitis, *Semin Cutan Med Surg* 30:71-86.
- <sup>iii</sup> Peyron JL. Management of atopic dermatitis, *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique* . 2006; 46 S18 -21.
- <sup>iv</sup> Thiers BH. Topical steroid therapy of atopic skin diseases. *Allergy Proc*. 1989; 10:413-416.
- <sup>v</sup> Eschler DC, Klein PA. An evidence-based review of the efficacy of topical antihistamines in the relief of pruritus. *J Drugs Dermatol*, 2010; 9:992-997.
- <sup>vi</sup> Kempers S, Boguniewicz M, Carter E, et al. A randomized investigator-blinded study comparing pimecrolimus cream 1% with tacrolimus ointment 0.03% in the treatment of pediatric patients with moderate atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol*, 2004; 51:515-525.
- <sup>vii</sup> Hong J., Buddenkotte J., Berger T., Steinhoff M., op. cit.
- <sup>viii</sup> Schneider L, Tilles S, Lio P, Boguniewicz M, Beck L, LeBovidge J, Novak N, MD, Atopic dermatitis: A practice parameter update 2012, *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131:295-9.
- <sup>ix</sup> Garnacho-Saucedo G, Salido-Vallejo R, Moreno-Giménez JC. Atopic Dermatitis: Update and Proposed Management Algorithm, *Actas Dermosifiliogr*. 2013;104(1):4-16.
- <sup>x</sup> Ong PY, Boguniewicz M. Investigational and unproven therapies in atopic dermatitis. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2010; 30:425-439.
- <sup>xi</sup> Ong PY: Emerging drugs for atopic dermatitis. *Expert Opin Emerg Drugs*. 2009; 14:165-179,
- <sup>xii</sup> Cheong W.: Gentle cleansing and moisturizing for patients with atopic dermatitis and sensitive skin. *Am J Clin Dermatol*. 2009; 10 (1):13-17.
- <sup>xiii</sup> Msika P, De Belilovsky C, Piccardi N, et al. New emollient with topical corticosteroid-sparing effect in treatment of childhood atopic dermatitis: SCORAD and quality of life improvement. *Pediatr Dermatol*. 2008; 25: 606-612.
- <sup>xiv</sup> Grimalt R, Mengeaud V, Cambazard F, Study Investigators Group. The steroid-sparing effect of an emollient therapy in infants with atopic dermatitis: A randomized controlled study. *Dermatology*. 2007; 214: 61-67.

- <sup>xv</sup> Ong PY: op. cit.
- <sup>xvi</sup> Boguniewicz M, Zeichner JA, Eichenfield LF, et al. MAS063DP is effective monotherapy for mild to moderate atopic dermatitis in infants and children: A multicenter, randomized, vehicle-controlled study. *J Pediatr*. 2008;152:854-859.
- <sup>xvii</sup> Madaan A. Epiceram for the treatment of atopic dermatitis. *Drugs Today (Barc)*. 2008; 44:751-755.
- <sup>xviii</sup> Wirén K, Nohlgård C, Nyberg F, et al. Treatment with a barrierstrengthening moisturizing cream delays relapse of atopic dermatitis. A prospective and randomized controlled clinical trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2009; 23:1267-1272.
- <sup>xix</sup> Furue M, Terao H, Rikihisa W, Urabe K, Kinukawa N, Nose Y, Koga T. Clinical dose and adverse effects of topical steroids in daily management of atopic dermatitis, *British Journal of Dermatology*, 2003; 148(1): 128-133.
- <sup>xx</sup> Hanifin JM, Ling MR, Langley R, et al. Tacrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis in adult patients: part I, Efficacy. *J Am Acad Dermatol* 2001; 44(1):S28-S38.
- <sup>xxi</sup> Paller AS, Lebwohl M, Fleischer AB Jr, et al. Tacrolimus ointment is more effective than pimecrolimus cream with a similar safety profile in the treatment of atopic dermatitis: Results from 3 randomized, comparative studies. *J Am Acad Dermatol*. 2005; 52:810-822.
- <sup>xxii</sup> Hon KL, Lam MC, Leung TF, et al. Assessing itch in children with atopic dermatitis treated with tacrolimus: Objective versus subjective assessment. *Adv Ther*. 2007; 24:23-28.
- <sup>xxiii</sup> Siegfried EC, Jaworski JC, Kaiser JD, Hebert AA. Systematic review of published trials: long-term safety of topical corticosteroids and topical calcineurin inhibitors in pediatric patients with atopic dermatitis. *BMC Pediatr*. 2016 Jun 7;16:75. doi: 10.1186/s12887-016-0607-9.
- <sup>xxiv</sup> Silverberg JI, Nelson DB, Yosipovitch G. Addressing treatment challenges in atopic dermatitis with novel topical therapies. *J Dermatolog Treat*. 2016; 27(6):568-576.
- <sup>xxv</sup> Ong PY, Boguniewicz M: op. cit.
- <sup>xxvi</sup> Igawa K, Satoh T, Yokozeki H. A therapeutic effect of STAT6 decoy oligodeoxynucleotide ointment in atopic dermatitis: A pilot study in adults. *Br J Dermatol*. 2009; 160:1124-1126 .
- <sup>xxvii</sup> Miyachi Y, Katayama I, Furue M, et al. Suplatast/tacrolimus combination therapy for refractory facial erythema in adult patients with atopic dermatitis: A meta-analysis study. *Allergol Int*. 2007; 56:269-275.
- <sup>xxviii</sup> Chase EP, Armstrong AW. Advances in Management of Atopic Dermatitis: New Therapsies and Novel Uses of Existing Treatments, *Semin Cutan Med Surg*. 2012; 31:17-24.
- <sup>xxix</sup> Drake L.A., Millikan L. E. The Antipruritic Effect of 5% Doxepin Cream in Patients With Eczematous Dermatitis, *JAMA Dermatology*,1995, 131(12): 1403-1408.
- <sup>xxx</sup> Hoare C, Li W, Po A, et al. Systematic review of treatments for atopic eczema. *Health Technol Assess*. 2000; 4:1-191.
- <sup>xxxi</sup> Bonnel RA, La Grenade L, Karwoski CB, et al. Allergic contact dermatitis from topical doxepin: Food and Drug Administration's postmarketing surveillance experience. *J Am Acad Dermatol*. 2003; 48:294-296
- <sup>xxxii</sup> Bigliardi PL, Stammer H, Jost G, et al. Treatment of pruritus with topically applied opiate receptor antagonist. *J Am Acad Dermatol*. 2007; 56:979-988
- <sup>xxxiii</sup> Dvorak M, Watkinson A, McGlone F, et al. Histamine induced responses are attenuated by a cannabinoid receptor agonist in human skin. *Inflamm Res*. 2003; 52:238-245,
- <sup>xxxiv</sup> Eberlein B, Eicke C, Reinhardt HW, et al. Adjuvant treatment of atopic eczema: Assessment of an emollient containing N-palmitoylethanolamine (ATOPA study). *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008; 22:73-82.
- <sup>xxxv</sup> Peier AM, Moqrich A, Hergarden AC, et al. A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. *Cell*. 2002; 108:705-715.
- <sup>xxxvi</sup> Galeotti N, Di Cesare ML, Mazzanti G, et al. A natural analgesic compound. *Neurosci Lett*. 2002; 322:145-148.
- <sup>xxxvii</sup> Hatem S, Attal N, Willer JC, et al. Psychophysical study of the effects of topical application of menthol in healthy volunteers. *Pain*. 2006; 122:190- 196.
- <sup>xxxviii</sup> Yosipovitch G, Szolar C, Hui XY, et al. Effect of topically applied menthol on thermal, pain and itch sensations and biophysical properties of the skin. *Arch Dermatol Res*. 1996; 288:245-248.
- <sup>xxxix</sup> Ständer S, Luger T, Metze D. Treatment of prurigo nodularis with topical capsaicin. *J Am Acad Dermatol*. 2001; 44:471-478.
- <sup>xl</sup> Dray A. Neuropharmacological mechanisms of capsaicin and related substances. *Biochem Pharmacol*. 1992; 44:611-615.
- <sup>xli</sup> Gooding SM, Canter PH, Coelho HF, et al. Systematic review of topical capsaicin in the treatment of pruritus. *Int. J. Dermatol*. 2010; 49:858-865.
- <sup>xlii</sup> Amagai Y, Katsuta C, Nomura Y, Oida K, Matsuda K, Jang H, Ahn G, Hamasaki T, Matsuda H, Tanaka A. Amelioration of atopic-like skin conditions in NC/Tnd mice by topical application with distilled *Alpinia intermedia* Gagnep extracts. *J Dermatol*. 2017 Aug 16. doi: 10.1111/1346-8138.13995. [Epub ahead of print]



- <sup>xliii</sup> Wang K, Coyle ME, Mansu S, Zhang AL, Xue CC. *Gentiana scabra* Bunge. Formula for Herpes Zoster: Biological Actions of Key Herbs and Systematic Review of Efficacy and Safety. *Phytother Res*. 2017 Mar;31(3):375-386. doi: 10.1002/ptr.5769.
- <sup>xliv</sup> Hashempur MH, Ghasemi MS, Daneshfard B, Ghoreishi PS, Lari ZN, Homayouni K, Zargaran A. Efficacy of topical chamomile oil for mild and moderate carpal tunnel syndrome: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Complement Ther Clin Pract*. 2017 Feb;26:61-67. doi: 10.1016/j.ctcp.2016.11.010.
- <sup>xlv</sup> Burlando B, Verotta L, Cornara L, Bottini-Massa E. *Herbal Principles in Cosmetics: Properties and Mechanisms of Action*, CRC Press, Boca Raton, 2010, p.37.
- <sup>xlvi</sup> Ibid.
- <sup>xlvii</sup> World Health Organization, WHO monographs on selected medicinal plants, Vol. 2, 2002, p.217.
- <sup>xlviii</sup> Sung Y-Y, Yang W-K, Lee A Y, Kim D.-S, Nho KJ, Kim YS, Kim HK. Topical application of an ethanol extract prepared from *Illicium verum* suppresses atopic dermatitis in NC/Ngamice, *Journal of Ethnopharmacology*. 2012;144 151-159.
- <sup>xlix</sup> Up S, Cho N, Kim HO, Park YM. Epigallocatechin-3-gallate improves *Dermatophagoides pteronissinus* extract-induced atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice by suppressing macrophage migration inhibitory factor, *International Immunopharmacology*. 2008; 8: 1172-1182.
- <sup>l</sup> Lim YM, An S.-J., Kim H.-K., Kim Y.-H., Youn M.-H., Gwon H.-J., Shin J., Nho Y.-C., Preparation of hydrogels for atopic dermatitis containing natural herbal extracts by gamma-ray irradiation, *Radiation Physics and Chemistry*. 2009; 78: 441-444.
- <sup>li</sup> Tian L, Shi X, Yu L, Zhu J, Ma R, Yang X. Chemical composition and hepatoprotective effects of polyphenol-rich extract from *Houttuynia cordata* tea, *J Agric Food Chem*. 2012 60(18):4641-8.
- <sup>lii</sup> Jung M J, Heo S II, Wang MH, Free radical scavenging and total phenolic contents from methanolic extracts of *Ulmus davidiana*, *Food Chemistry*. 2008; 108: 482-487.
- <sup>liii</sup> Kim YC, Lee MK, Sung SH, Kim SH. Sesquiterpenes from *Ulmus davidiana* var. *japonica* with the inhibitory effects on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production, *Fitoterapia*, 2007, 78(3): 196-199;
- <sup>liv</sup> Gutiérrez, R.M., Mitchell, S., Solis, R.V., *Psidium guajava*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol*. 2008; 117: 1-27.
- <sup>lv</sup> Seo, N., Ito, T., Wang, N., Yao, X., Tokura, Y., Furukawa, F., Takigawa, M., Kitanaka, S., Anti-allergic *Psidium guajava* extracts exert an antitumor effect by inhibition of T regulatory cells and resultant augmentation of Th1 cells. *Anticancer Res*. 2005; 25: 3763-3770.
- <sup>lvi</sup> Choi JH, Park BH, Kim HG, Hwang Y P, Han E H, Jin SW, Seo JK, Chung YC, Jeong HG. Inhibitory effect of *Psidium guajava* water extract in the development of 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis in NC/Nga mice, *Food and Chemical Toxicology*. 2012; 50: 2923-2929.
- <sup>lvii</sup> Perez Gutierrez RM, Mitchell S, Vargas Solis R., *Psidium guajava*. A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology, *Journal of Ethnopharmacology*. 2008; 117: 1-27.
- <sup>lviii</sup> Clavin M, Gorzalczany S, Macho A, Muñoz E, Ferraro G, Acevedo C, Martino V. Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Eupatorium arnottianum*, *Journal of Ethnopharmacology*. 2007; 112: 585-589.
- <sup>lix</sup> Martin K, Sur R, Liebel F, et al: Parthenolide-depleted Feverfew (*Tanacetum parthenium*) protects skin from UV irradiation and external aggression. *Arch Dermatol Res*. 2008; 300:69-80.
- <sup>lx</sup> Aquila S., Giner R. M., Recio M. C., Spegazzini E. D., Rios J. L., Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Cayaponia tayuya* roots, *Journal of Ethnopharmacology*. (2009); 121: 333-337.
- <sup>lxi</sup> Anti-inflammatory activity of hamamelis distillate applied topically to the skin, *European Journal of Clinical Pharmacology*, 1993, 44(4): 315-318.
- <sup>lxii</sup> Kim H, Lee M R, Lee GS, An W G, Cho S I. Effect of *Sophora flavescens* Aiton extract on degranulation of mast cells and contact dermatitis induced by dinitrofluorobenzene in mice, *Journal of Ethnopharmacology*. 2012; 142: 253-258.
- <sup>lxiii</sup> Yang G, Choi CH, Lee K, Lee M, Ham I, Choi HY. Effects of *Catalpa ovata* stem bark on atopic dermatitis-like skinlesions in NC/Ngamice *Journal of Ethnopharmacology*. 2013;145: 416-423.
- <sup>lxiv</sup> Lino von Poser G, Schripsema J, Henriques AT, Rosendal Jensen S. The distribution of iridoids in Bignoniaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*. 2000; 28: 351-366.
- <sup>lxv</sup> Jeong HJ, Koo HN, Na HJ, Kim MS, Hong SH, Eom JW, Kim KS, Shin TY, Kim HM. Inhibition of TNF-alpha and IL-6 production by Aucubin through blockade of NF-kappaB activation RBL-2H3 mast cells. *Cytokine*. 2002; 18: 252-259.
- <sup>lxvi</sup> Sunga Y-Y, Yoona T., Janga J Y, Parkb S-J, Kima H. K. Topical application of *Rehmannia glutinosa* extract inhibits mite allergen-induced atopic dermatitis in NC/Nga mice *Journal of Ethnopharmacology*. 2011; 134: 37-44.
- <sup>lxvii</sup> Oshio, H., Inouye, H., Iridoid glycosides of *Rehmannia glutinosa*. *Phytochemistry*. 1982; 21, 133-138.
- <sup>lxviii</sup> Kang MA, Choung SY. *Solanum tuberosum* L. cv *Hongyoung* extract inhibits 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis in NC/Nga mice. *Mol Med Rep*. 2016 ;14(4):3093-103.

- lxxix Son HU, Lee S, Heo JC, Lee SH. The solid-state fermentation of *Artemisia capillaris* leaves with *Ganoderma lucidum* enhances the anti-inflammatory effects in a model of atopic dermatitis. *Int J Mol Med*. 2017;39(5):1233-1241.
- lxxx Kawahara T, Tsutsui K, Nakanishi E, Inoue T, Hamauzu Y. Effect of the topical application of an ethanol extract of quince seeds on the development of atopic dermatitis-like symptoms in NC/Nga mice. *BMC Complement Altern Med*. 2017 Jan 31;17(1):80.
- lxxxi Kim B, Choi YE, Kim HS. *Eruca sativa* (Brassicaceae) and its flavonoid components, quercetin and isorhamnetin, improve skin barrier function by activation of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- $\alpha$  and suppression of inflammatory cytokines. *Phytother. Res*. 2014 Sep; 28(9):1359-66.
- lxxxii Park KH, Jeong MS, Park KJ, Choi YW, Seo SJ, Lee MW. Topical application of *Rosa multiflora* root extract improves atopic dermatitis-like skin lesions induced by mite antigen in NC/Nga mice. *Biol Pharm Bull*. 2014;37(1):178-83.
- lxxxiii Finberg MJ, Muntingh GL, van Rensburg CE. A comparison of the leaf gel extracts of *Aloe ferox* and *Aloe vera* in the topical treatment of atopic dermatitis in Balb/c mice. *Inflammopharmacology*. 2015 Dec;23(6):337-41.
- lxxxiv Wu CT, Huang KS, Yang CH, Chen YC, Tsay HS. Inhibitory effects of cultured *Dendrobium tosaense* on atopic dermatitis murine model. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014;463(2):193-200
- lxxxv Działo M, Mierziak J, Korzun U, Preisner M, Szopa J, Kulma A. The Potential of Plant Phenolics in Prevention and Therapy of Skin Disorders. *Int J Mol Sci*. 2016; 17(2): 160.
- lxxxvi Sung YY, Lee AY, Kim HK. *Forsythia suspensa* fruit extracts and the constituent matairesinol confer anti-allergic effects in an allergic dermatitis mouse model *Journal of Ethnopharmacology*. 2016;187: 49–56.
- lxxxvii Sung YY, Lee AY, Kim HK. The *Gardenia jasminoides* extract and its constituent, geniposide, elicit anti-allergic effects on atopic dermatitis by inhibiting histamine in vitro and in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014;156: 33-40.
- lxxxviii Liu J, Mo X, Wu D, Ou A, Chen D. Efficacy of a Chinese herbal medicine for the treatment of atopic dermatitis: A randomised controlled study. *Complementary Therapies in Medicine*. 2015; 23(5): 644-651.
- lxxxix Chen Y, Xian Y, Lai Z, Loo S, Lin ZX. Anti-inflammatory and anti-allergic effects and underlying mechanisms of Huang-Lian-Jie-Du extract: Implication for atopic dermatitis treatment. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016; 185: 41-52.
- lxxx Yang HJ, Kim MJ, Kang S, Moon NR, Park S. Topical treatments of *Saussurea costus* root and *Thuja orientalis* L. synergistically alleviate atopic dermatitis-like skin lesions by inhibiting protease-activated receptor-2 and NF- $\kappa$ B signaling in HaCaT cells and NC/Nga mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2017; 199: 97-105
- lxxxii Shapira MY, Raphaelovich Y, Gilad L, Or R, Dumb AJ, Ingber A. Treatment of atopic dermatitis with herbal combination of *Eleutherococcus*, *Achillea millefolium*, and *Lamium album* has no advantage over placebo: A double blind, placebo-controlled, randomized trial. *J Am Acad Dermatol* 2005;52:691-3.
- lxxxiii Dugger HA. Antihistamine/Corticosteroid preparations for the treatment of atopic dermatitis, US 20090136430 A1, 2007.
- lxxxiv Fleischer W, Reimer K, Use of PVP-iodine liposomes for treatment of atopic dermatitis, EP 1449521 A1, 2003.
- lxxxv Kuroda M, Takanashi M, Sudo K, Yamauchi S. Therapeutic composition for atopic dermatitis, US 20110070207 A1, 2010.
- lxxxvi Eitan A, Nachman R, Cohen S. Composition for topical treatment of psoriasis and atopic dermatitis comprising a xanthine derivative, US 5565462 A, 1994.
- lxxxvii Adeleanu M. Methods for treating atopic dermatitis by administering an il-4r antagonist, EP 2892927 A1, 2013.
- lxxxviii Matsuda M, Takeuchi S, Nagura T, Aritsuka T, Kouji S. Anti-atopic dermatitis composition, US 5994326 A, 1998.
- lxxxix Kim S-Y, A composition for treatment of atopic dermatitis comprising glucosamine and derivatives thereof and a method for treatment of atopic dermatitis using them WO2008048076 A1, 2008.
- lxxxix Koga Y, Rumiko Shibata, Yuji Aiba, Yasunori Fukumori, Hiroyuki Takeda, 1-kestose for treating allergy and atopic dermatitis, EP1878738 B1, 2006.
- xc Rosenberg EW, Skinner RB Jr. Use of gentian violet in treatment of atopic dermatitis, 2007.
- xci Secretin M-C, Infant or follow-on formula, WO 2004112507 A1, 2004.
- xcii Yukinaga N, Norihiro T, Kanae W, Hiroshi A. Antiallergic agent containing steviol glycoside, JP2006213726, 2006.
- xciii Woo SS, Kim DS, Lee YC, Son EJ. Composition for treating atopic dermatitis comprising extracts of bamboo and scutellaria, US8771761 B2, 2012.
- xciv Hamada S, Kitanaka S, Method of treatment of atopic dermatitis with dried guava leaves, US5942231 A, 1996.
- xcv Jin Yeul Ma et al. Composition for preventing or treating atopic dermatitis including galenical extract or lactobacillus fermentation thereof, US9295704 B2, 2010.

- <sup>xcvi</sup> Jeong Jin Boo, Park Gwang Hun, Eo Hyun Ji, Song Hun Min, Development of antiatopic dermatitis targeted Products using ABELIOPHYLLUM DISTICHUM NAKAI, KR20160089256 (A).
- <sup>xcvii</sup> Chiang ZH. Dual sphere liposome structure of lactic acid combined with organic plant extracts for treatment and prevention of atopic dermatitis, eczema, heat rash, child diaper rash, acne and other skin inflammation, TWM483083, 2014.
- <sup>xcviii</sup> Kim JH, Lee HJ, Lim YM, Gwon HJ, Kim CM, Chou SS. Methods for preparing microgel containing capsuled atopic dermatitis treatment composition, KR101418084, 2014.
- <sup>xcix</sup> Chung HK, Cho SM, Kim HS, Park KM, Han SH, Yeum KJ. Composition of matter having plant extract to improve atopic dermatitis, KR20090101600.
- <sup>c</sup> Nam P, Lee S, Nam Y, Composition for treatment of atopic dermatitis.including natural plant extract, KR20070079641, 2007.
- <sup>ci</sup> Tachibana Hirofumi, Fujimura Yuki, Okubo Hiroshi, Ozaki Yukio, Histamine release inhibitor, WO2007111294, 2007.
- <sup>cii</sup> Suwa A, Yasuhiro K. Composition for Prophylaxis or treatment of allergic dermatitis , JP2002047193, 2002.
- <sup>ciii</sup> Yukinaga N, Naba Yoshohiko. Antiallergic agent , JP2000169383, 2000
- <sup>civ</sup> Yukinaga N, Norihiro T, Shinko K, Kanae W, Hiroshi A. External preparation for skin and Bathing agent , JPH07278001 (A), 1995.
- <sup>cv</sup> Yukinaga N, Norihiro T. Antiallergic drug containing plant extract, JPH1053532, 1998.
- <sup>cvi</sup> Olaru, O. T., Venables, L., van de Venter, M., Nitulescu, G. M., Margina, D., Spandidos, D. A., & Tsatsakis, A. M. (2015). Anticancer potential of selected Fallopiia Adans species. *Oncology letters*, 10(3), 1323-1332.
- <sup>cvi</sup> Christensen AD, Skov S, Haase C. The role of neutrophils and G-CSF inDNFB-induced contact hypersensitivity in mice. *Immun Inflamm Dis*.2014 Jun;2(1): 21-34.
- <sup>cvi</sup> Suhaime IHB, Minaketan T, Mohamed MS, Abdul Majeed AB, The pharmaceutical applications of carbomer, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2012, 2(2):1-15.

## REVENDICĂRI

1. Extractul selectiv vegetal obținut din *Morus alba* și standardizat în polifenoli totali și flavonide totale caracterizat printr-un conținut de polifenoli totali exprimați în acid galic de 0,60 - 4,69 g% și un conținut de flavonoide totale exprimate în quercetol de 1,18 - 1,59 g%.
2. Procedeele de obținere al unui extract selectiv vegetal din *Morus alba* care cuprinde următoarele etape:
  - obținerea și caracterizarea unui extract total din frunze de *Morus alba*: extracția principiilor active: extracția la reflux de 1-2 ori a produsului vegetal cu etanol 50% în raport de 1:10 timp de 30 – 60 min, filtrare la presiune scăzută, concentrarea soluțiilor extractive la evaporator rotativ, la temperatură scăzută (50°C), uscarea extractului prin liofilizare.
  - purificare prin fracționarea extractului total pe coloană deschisă cu fază staționară de silicagel 60 70-230 mesh, 63-200 μm și solvent în gradient treptat (eter etilic:acetat de etil, acetat de etil:metanol și metanol:1% acid acetic în metanol; gradient: 100:0, 25:80, 50:50, 75:25 și 0:100) cu colectarea fracțiunii finale eluate cu solventul metanol:1% acid acetic în proporție de 1:1.
3. Extractul vegetal obținut conform revendicărilor 1 și 2 pentru utilizare în terapia antialergică.
4. Extractul vegetal obținut conform revendicărilor 1 și 2 pentru utilizare la formularea unor forme farmaceutice reprezentată de soluții, loțiuni, creme, unguente, geluri, paste, plasturi transdermici, spume sau aerosoli, forma preferată fiind gel.

Fig. 1. Amprenta IR a extractului selectiv de *Morus alba* domeniul 400-4000 cm<sup>-1</sup>

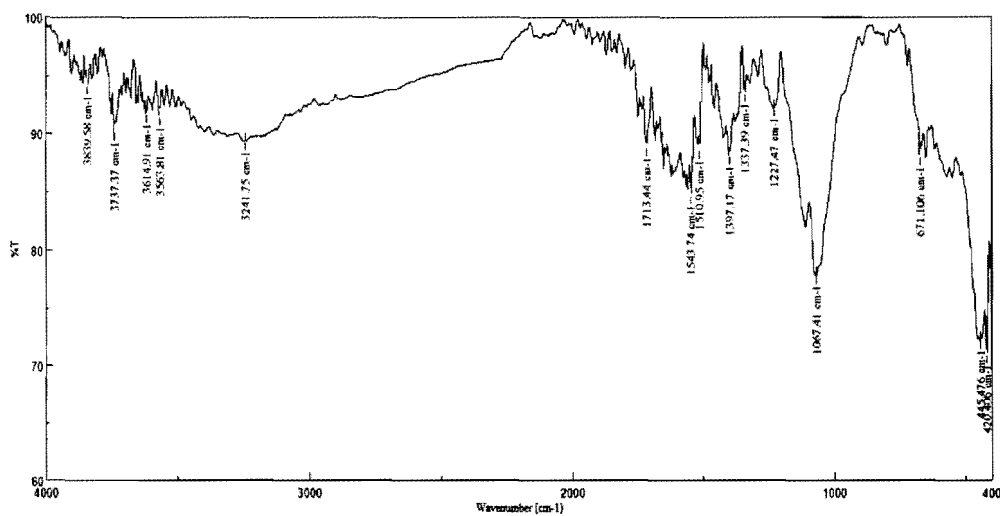


Fig. 2 Efectul administrării topice de dexametazonă și extract selectiv de *Morus alba*, asupra hipersensibilizării de contact indusă de 2,4-dinitrofluorobenzen

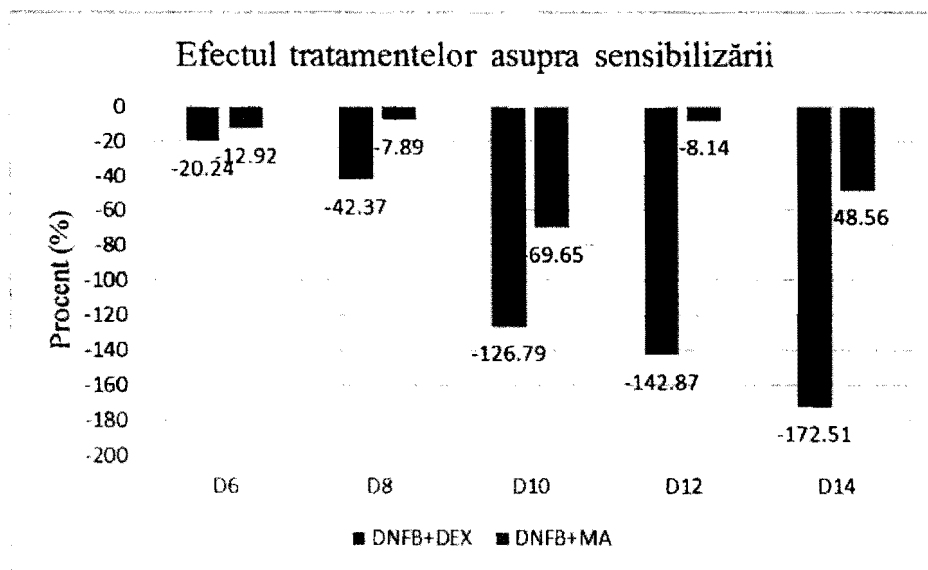


Fig. 3. Profilul reologic pentru hidrogelul experimental: a - testat la 23°C și 37°C vâscozitate funcție de viteza de forfecare; b - curbele ascendente și descendente ale reogramei corespunzătoare hidrogelului testat la 37°C și 23°C.

