



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 01254**

(22) Data de depozit: **30.11.2010**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **29.11.2013** BOPI nr. **11/2013**

(41) Data publicării cererii:
29.04.2011 BOPI nr. **4/2011**

(73) Titular:

- UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE "CAROL DAVILA" DIN BUCUREȘTI, STR.DIONISIE LUPU NR.37, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
- UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI, BD.MIHAIL KOGĂLNICEANU NR.36-46, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

- UIVAROȘI VALENTINA, BD.ALEXANDRU OBREGIA NR.31, BL.I 5, SC.2, AP.49, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
- VELESCU BRUNO ȘTEFAN, STR.NEAGOE VODĂ NR.53, BACĂU, BC, RO;

• ALDEA VICTORIA, CALEA MOȘILOR NR.205, BL.11, SC.A, ET.6, AP.22, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;

• NEGREȘ SIMONA, ȘOS.GIURGIULUI NR.121, BL.5, SC.2, AP.44, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;

• OLAR MARIOARA RODICA, STR.CRINUL DE PĂDURE NR.3, BL.G 6, SC.1, AP.28, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:

VALENTINA UIVAROSI, ȘTEFANIA FELICIA BĂRBUCEANU, VICTORIA ALDEA, CORINA-CRISTINA ARAMĂ, MIHAELA BADEA, RODICA OLAR ȘI DANA MARINESCU, "SYNTHESIS, SPECTRAL AND THERMAL STUDIES OF NEW RUTIN VANADYL COMPLEXES", 10 MARCH 2010; US 5688784 A

(54) **COMPUȘI DE OXOVANADIU (IV) CU FLAVANONE,
PROCEDEU DE OBȚINERE ȘI UTILIZARE TERAPEUTICĂ**



RO 126184 B1

1 Invenția se referă la compuși de oxovanadiu(IV), la un procedeu de obținere și la
acțiunea acestora pentru scăderea glicemiei, utili în tratamentul diabetului.

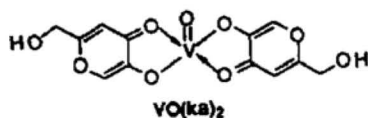
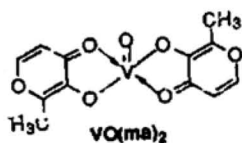
3 Diabetul zaharat cuprinde un grup de maladii cu diverse etiologii. Toate sunt
caracterizate de hiperglicemie variabilă și cronică și alte tulburări în metabolismul
5 carbohidraților și lipidelor, ca și de o varietate de complicații vasculare și neurologice.
Diabetul de tip I este însoțit de hipoinsulinemie (diabet insulinodependent), iar diabetul de
7 tip II este însoțit de hiperinsulinemie cu rezistență la insulina (diabet noninsulinodependent).
Diabetul de tip I este controlat prin injectarea zilnică de insulină. Pornind de la observația că
9 la persoanele cu diabet s-a constatat o scădere a concentrației hepatice a vanadiului, s-a
sugerat ca urmele de vanadiu din organism pot fi importante pentru acțiunea insulinei.
11 Apropierea structurală a VO^{2+} și Zn^{2+} , ca și unele observații experimentale au condus la
încercarea de a înlocui Zn^{2+} din complexii Zn - insulină și verificarea unei eventuale activități
13 antidiabetice (Sakurai, H., Katoh, A., Yoshikawa, Y., **Chemistry and Biochemistry of
Insulin-Mimetic Vanadium and Zinc Complexes. Trial for Treatment of Diabetes
Mellitus, Bull. Chem. Soc. Jpn. 2006, 79, 1645-1664**).

15 Proprietățile insulino - mimetice ale compușilor vanadiului au suscitad un interes
deosebit în găsirea unor înlocuitori ai insulinei sau agenților insulino - mimetici cu
17 administrare orală. Efectele insulino - mimetice ale vanadatului au fost puse în evidență *in*
vitro pentru prima dată în 1980 și confirmate *in vivo* în 1985, la șobolanii cu diabet indus de
19 streptozocină (Heyliger, C. E., Tahiliani, A. G., McNeill, J. H., **Effect of vanadate on
elevated blood glucose and depressed cardiac performance of diabetic rats. Science
21 1985, 227, 1474-1477**). Printre efectele cele mai semnificative ale vanadatului *in vitro* asupra
țesuturilor izolate sunt: creșterea captării glucozei și stimularea sintezei glicogenului în
23 diafragma de șobolan, celulele din ficat și țesut adipos, intensificarea transportului și oxidării
glucozei în mușchiul scheletic și adipocitele de șobolan și activarea lipogenezei în
25 adipocitele de șobolan (Tolman, E. L., Barris, E., Burns, M., Pansisni, A., Partridge, R.,
Effects of vanadium on glucose metabolism in vitro. Life Sci 1979, 25, 1159-1164;
27 Shechter, Y., Karlish, S. D. T., **Insulin like stimulation of glucose oxidation in rat
adipocytes by vanadyl (IV) ions. Nature (London) 1980, 284, 556-558**).

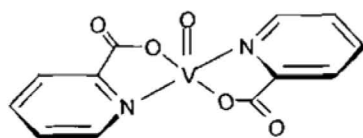
29 Deoarece diabetul de tip II se caracterizează prin hiperinsulinemie și rezistență la
insulina, fără deficiență de insulina, este semnificativ că vanadiul stimulează metabolismul
31 glucozei fără a crește concentrația insulinei circulante (Bendayan, M., Gingras, D., **Effect
of vanadate administration on blood glucose and insulin levels as well as on the
33 exocrine pancreatic function in streptozotocin-diabetic rats. Diabetologia 1989, 32,
561-567**; Ramanadham, S., Cros, G. H., Mongold, J. J., Serrano, J. J., McNeill, J. H.,
35 **Enhanced in vivo sensitivity of vanadyl treated diabetic rats to insulin. Can. J. Physiol.
Pharmacol. 1990, 68, 486-491**). Vanadatul poate influența, de asemenea, performanța
37 cardiacă. El induce un efect inotrop pozitiv asupra inimii de șobolan izolată și asupra
mușchiului papilar de pisică izolat și are un efect inotrop negativ asupra atriului. Aceste
39 observații sugerează că vanadatul poate avea un rol atât în reglarea metabolismului
glucozei, cât și a performanței cardiace *in vivo*. Întrucât diabetul este frecvent asociat cu
41 disfuncție miocardică, chiar și în absența unor tulburări coronariene sau hipertensiunii,
efectele combinate ale vanadatului sunt de o importanță deosebită (Takeda, S., Mochizuki,
43 S., Saini, H.K., Elimban, V., Dhalla, N.S., **Modification of alterations in cardiac function
and sarcoplasmic reticulum by vanadate in ischemic-reperfused rat hearts. J. Appl.
45 Physiol. 2005, 99, 999-1005**).

După descoperirea proprietăților insulino - mimetice ale ionului vanadat, cercetările au fost orientate și spre acțiunea altor compuși cu vanadiu, deoarece vanadatul este puțin absorbit din tractul gastrointestinal în sânge, iar doza necesară este apropiată de nivelul toxic. Ulterior, s-a constatat că și sulfatul de oxovanadiu(IV) are proprietăți insulino - mimetice (Pederson, R. A., Ramanadham, S., Buchan, A. M., McNeill, J. H. Long-term effects of vanadyl treatment on streptozocin-induced diabetes in rats. *Diabetes* 1989, 38, 1390-1395), dar, de asemenea este puțin absorbit.

În prezent, majoritatea compușilor cu vanadiu teșăți pentru acțiunea insulino-mimetică și antidiabetică sunt combinații complexe ale ionului oxovanadiu(IV), în general cu raportul de coordinare 2:1 ligand/metal. Unii dintre acești compuși au fost obiectul unor patente. Bis(maltolato)oxovanadiu(IV) (BMOV), un complex neutru solubil în apă, este unul dintre cei mai promițători agenți insulino-mimetici investigați biologic și clinic (McNeill, J. H., Yuen, V.G., Hoveyda, H.R., Orvig, C, Bis(maltolato)oxovanadium(IV) is a potent insulin mimic. *J. Med. Chem.* 1992, 35, 1489-1491; J.H. McNeill, C. Orvig, Bis(maltolato) oxovanadium compositions for the treatment of elevated blood sugar, US Patent 5 527 790/18.06.1996). O bună acțiune hipoglicemiantă prezintă și complexul oxovanadiului(IV) cu acidul kojic, un analog al maltolului (Yuen, V.G., Caravan, P., Gelmini, L., Glover, N., McNeill, J. H., Setyawati, I. A., Zhou, Y., Orvig C, Glucose-lowering properties of vanadium compounds: comparison of coordination complexes with maltol or kojic acid as ligands. *J. Inorg. Biochem.* 1997, 68, 109-116; J.H. McNeill, H.R. Hoveyda, C. Orvig, Complexed vanadium for the treatment of diabetes mellitus, US Patent 5 300 496/05.04.1994). Structurile celor doi complecși sunt:



Compusul VO(picolinat)₂ (VO(PA)) este activ în normalizarea nivelelor de glucoză serică la șobolanii cu diabet indus cu streptozotocină atunci când a fost administrat intraoperitoneal sau oral (Sakurai, H., Fujii, K., Watanabe, H., Tamura H., Orally active and long-term acting insulin-mimetic vanadyl complex: bis(picolinato)oxovanadium (IV). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995, 214, 1095). Structura complexului este:



Compusul bis(1-oxi-2-piridintiolato)oxovanadiu(IV), VO(OPT) prezintă o puternică activitate insulino-mimetică, administrat fie injectabil i.p., fie la administrare orală zilnică (Sakurai și colab. (Sakurai H, Sano H, Takino, T., Yasui H., An orally active antidiabetic vanadyl complex, bis(1-oxy-2-pyridinethiolato)oxovanadium(IV), with VO(S2O2) coordination mode; *in vitro* and *in vivo* evaluations in rats. *J. Inorg. Biochem.* 2000,

RO 126184 B1

1 80, 99-105). Complexul prezintă următoarele structuri posibile:



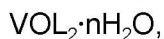
11 Se cunosc o serie de compuși de oxovanandiu(IV) cu liganzi cu activitate
antidiabetică distinctă cum sunt: 1,1-dimetilbiguanid (metformin), 1-fenetilbiguanid (fenformin)
și 1-butylbiguanid (buformin) (C. Orvig, J.H. McNeill, **Pharmaceutical compositions of
13 vanadium biguanide complexes and their use, US Patent 6 287 586 B1/11.09.2001**).
Compozițiile farmaceutice ce includ complexii cu biguanide sunt utilizate pentru tratamentul
15 hiperglicemiei și tulburărilor asociate, cum sunt hipertensiunea, obezitatea și dezechilibrele
lipidice. Combinațiile respective au structura generală:



23 Folosirea unor liganzi naturali cu toxicitate scăzută, cum sunt flavanonele, ar contribui
la reducerea efectelor adverse ale compușilor de oxovanadiu(IV). În plus, flavanonele
25 prezintă efecte farmacologice utile în ameliorarea altor disfuncții asociate diabetului. De
exemplu, hesperetina și naringenina au o acțiune proprie de reducere a glicemiei (Bok, S.-H.
27 **et al. Method for lowering blood glucose level by the administration of bioflavonoid, US Patent 6 096 364/01.08.2001**), prezintă efect antioxidant, antiinflamator (Choi, E.M.,
29 Lee, Y.S., **Effects of hesperetin on the production of inflammatory mediators in IL-1beta
treated human synovial cells. Cell. Immunol. 2010, 264, 1-3**), hipolipemiant (Kim, H.J.,
31 Jeon, S.M., Lee, M.K., Cho, Y.Y., Kwon E.Y., Lee J.H., Choi M.S. **Comparison of
hesperetin and its metabolites for cholesterol-lowering and efficacy in
33 hypercholesterolemic hamsters. J. Med. Food. 2010, 13, 808-14**), de corectare a
tulburărilor metabolice asociate rezistenței la insulina (Mulvihill, E.E., Allister, E.M.,
35 Sutherland, B.G., Telford, D.E., Sawyez, C.G., Edwards, J.Y., Markle, J.M., Hegele, R.A.,
Huff, M.W., **Naringenin prevents dyslipidemia, apolipoprotein B overproduction, and
37 hyperinsulinemia in LDL receptor-null mice with diet-induced insulin resistance. Diabetes 2009, 58, 2198-2210**).

39 Prezenta invenție propune noi compuși ai ionului vanadil cu flavanonele hesperetină
(3',5,7-trihidroxi-4'-metoxiflavanona) și naringenină (4',5,7-trihidroxi-7-metoxiflavanona) cu acțiune
41 hipoglicemiantă, un procedeu de preparare a compușilor de oxovanadiu (IV), care sunt
utilizați în prepararea unui medicament pentru tratamentul diabetului noninsulinodependent.

43 Invenția înlătură dezavantajele de mai sus prin aceea că derivatul de flavanonă este
ales dintre hesperetină respectiv naringenină și are structura corespunzătoare formulei
45 generale:



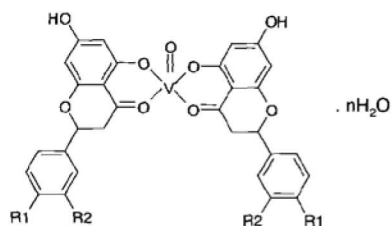
în care atunci când

47 L: hesperetină, n=4; și

RO 126184 B1

L: naringenina, n=5

și este reprezentat prin formula structurală:



în care atunci când

L= hesperetină, R₁: OCH₃, R₂: OH, n=4;

L= naringenină, R₁: OH, R₂: H, n=5).

Procedeeul conform invenției constă în dizolvarea ligandului, respectiv, hesperetina sau naringenina, în apă, în prezență de NaOH solid, la pH 8, se adaugă VOSO₄ în raport molar ligand:ion metalic de 2:1, se corectează pH-ul soluției prin adăugare de H₂SO₄ 2M la pH de 6,5 până la obținerea unui precipitat de culoare verde deschis, se agită amestecul de reacție 30 min la temperatura camerei, se filtrează precipitatul la vid, se spală cu apă distilată, apoi cu porțiuni mici de metanol și etanol și se usucă prin păstrare la temperatura camerei.

Un alt obiect al invenției îl constituie utilizarea compusului de oxovanadiu(IV) cu hesperetină, respectiv naringenină pentru tratarea diabetului noninsulinodependent. În cele ce urmează se prezintă două exemple concrete de preparare a compuşilor.

Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje: compuşii sunt ușor de preparat, de administrat și sunt eficace în scăderea glicemiei la animalele diabetice, putând fi utilizați în tratarea diabetului. Compușii sunt absorbiți din tractul gastrointestinal și distribuie în fluxul sanguin ion vanadil, cu acțiune de scădere a glicemiei. În contrast cu insulina, compuşii se pot administra oral. Vanadiul este legat în complecși de liganzi naturali, cu efecte adverse reduse și cu acțiune farmacologică proprie, benefică în tulburările asociate diabetului.

În continuare, se prezintă 2 exemple de realizare a invenției, în legătură cu fig. 1...4, care reprezintă:

- fig. 1, evoluția procentuală a glicemiei animalelor diabetice față de prima zi de tratament;

- fig. 2, efectul antidiabetic al substanțelor față de martorul diabetic;

- fig. 3, efectul antidiabetic al substanțelor față de VOSO₄;

- fig. 4, efectul hipoglicemiant al substanțelor față de VOSO₄.

Exemplul 1. 2 g (0,0066 moli) hesperetină se dizolvă în 50 cm³ apă distilată în prezență de NaOH (2-3 pelete). La soluția rezultată (pH 8) se adaugă o soluție obținută prin dizolvarea a 0,8369 g VOSO₄·5H₂O (0,0033 moli) în 5 cm³ apă. După corectarea pH-ului la valoarea 6,5 cu H₂SO₄ 1M, se formează în toată masa de reacție un precipitat cu aspect uniform de verde deschis. Amestecul de reacție se agită 30 min la temperatura camerei. Compusul greu solubil rezultat se filtrează la vid, se spală cu apă distilată, apoi cu porțiuni mici de metanol și etanol și se usucă prin păstrare la temperatura camerei.

Compusul VO(hesperetin)₂·4H₂O obținut corespunde formulei chimice C₃₂H₃₄O₁₇V, % calculat (găsit): C 51,78 (51,31), H 4,58 (4,48), V 6,87 (5,21). Punctul de topire este de 215-225°C. Numărul de moli de apă de hidratare (4) a fost determinat prin analiză termogravimetrică. Spectrul în IR (metoda pastilării în KBr) prezintă benzile caracteristice ligandului și cationului (cm⁻¹): ν(H₂O), 3401i ((bandă largă), ν(OH)fenol, 3220i; ν(C=O), 1619fi; ν(C=C), 1581i; ν(C-OH), 1342m; ν(C-O-C), 1276i; ν(V=O), 972m. Spectrul în vizibil în stare solidă prezintă benzile d-d caracteristice ionului VO²⁺ într-o coordinare de tip

RO 126184 B1

1 piramidă pătrată: banda I ${}^2B_2(dx^2 - y^2) \rightarrow {}^2E(dxz, dyz)$ și banda II ${}^2B_2(dx^2 - y^2) \rightarrow {}^2B_1(dx^2 - y^2)$: bandă
largă, cu maxim la 686 nm, banda III ${}^2B_2(dx^2 - y^2) \rightarrow {}^2A_1(dz^2)$: 420 nm (umăr). Soluția de compus
3 de concentrație $10^{-3}M$ în dimetilsulfoxid are o conductanță molară de $17,34 \Omega^{-1}cm^2mol^{-1}$,
caracteristică unui neelectrolit.

5 **Exemplul 2.** 2 g (0,0073 moli) naringenină se dizolvă în $50 cm^3$ apă distilată în
prezență de NaOH (2-3 pelete). La soluția rezultată (pH 8 - 8,5) se adaugă o soluție obținută
7 prin dizolvarea a 0,9289 g $VOSO_4 \cdot 5H_2O$ (0,0036 moli) în $5 cm^3$ apă. După corectarea pH-ului
la valoarea 6,5 cu H_2SO_4 1M, se formează în toată masa de reacție un precipitat cu aspect
9 uniform de culoare vernil. Amestecul de reacție se agită 30 min la temperatura camerei.
Compusul greu solubil rezultat se filtrează la vid, se spală cu apă distilată, apoi cu porțiuni
11 mici de metanol și etanol și se usucă prin păstrare la temperatura camerei.

Compusul $VO(naringenină)_2 \cdot 5H_2O$ obținut corespunde formulei chimice $C_{32}H_{32}O_{16}V$,
13 % calculat (găsit): C 51,46 (51,95), H 4,57 (4,33), V 7,29 (7,68). Punctul de topire este mai
mare de $330^\circ C$. Numărul de moli de apă de hidratare (5) a fost determinat prin analiză
15 termogravimetrică. Spectrul în IR (metoda pastilării în KBr) prezintă benzile caracteristice
ligandului și cationului (cm^{-1}): $\nu(H_2O)$, 3412i, $\nu(OH)$ fenol, 3286m; $\nu(C=O)$, 1613fi; $\nu(C=C)$,
17 1604i; $\nu(C-OH)$, 1343m; $\nu(C-O-C)$, 1251m; $\nu(V=O)$, 970m. Spectrul în vizibil în stare solidă
prezintă benzile d-d caracteristice ionului VO^{2+} într-o coordinare de tip piramidă pătrată:
19 banda I ${}^2B_2(dx^2 - y^2) \rightarrow {}^2E(dxz, dyz)$: 865 nm, banda II ${}^2B_2(dx^2 - y^2) \rightarrow {}^2B_1(dx^2 - y^2)$: 564nm (umăr),
banda III ${}^2B_2(dx^2 - y^2) \rightarrow {}^2A_1(dz^2)$: 454 nm(umăr).

21 Soluția de compus de concentrație $10^{-3}M$ în dimetilsulfoxid are o conductanță molară
de $18,73 \Omega^{-1}cm^2mol^{-1}$, caracteristică unui neelectrolit.

23 *Determinări farmacologice*

În cele ce urmează se prezintă modalitatea de testare.

25 Experimentele s-au realizat cu scopul determinării acțiunii hipoglicemizante și
antidiabetice compușilor. Rezultatele obținute la testarea celor doi compuși sunt destul de
27 similare. Este exemplificată realizarea experimentelor pentru compusul $VO(hesperetin)_2$
 $\cdot 4H_2O$, preparat ca mai sus.

29 Ca model experimental de diabet zaharat, s-a utilizat modelul animal de șobolan
diabetic, diabetul fiind indus prin administrare de aloxan. Această metodă experimentală este
31 larg utilizată pentru investigarea acțiunii antidiabetice a diverselor grupe de substanțe
utilizate în diabet zaharat. Metode pentru inducerea diabetului zaharat cu aloxan au fost
33 descrise pentru șoarece, șobolan, iepure, câine [Ho E et al, 1999; Viana SGB et al, 1994;
Nitz de Carvalho et al, 2003; Dave RK, Katyare SS, 2002; Gomathy R et al, 1990; Goe
35 RK, 2004; Schratzberger P et al, 2001; Sousa S et al, 2003; Zhao G et al, 1999]. În
modelele descrise în literatură s-a utilizat o scală largă de doze și căi de administrare a
37 aloxanului, astfel: 40 mg/kg în vena peniană, 60 mg/kg iv, în venele cozii, 120 mg/kg sc,
180 mg/kg sc, 150 mg/kg ip. Toxicitatea pancreatică a aloxanului (distrucția celulelor beta
39 Langerhans, secretoare de insulina) se manifestă începând cu 24 h după administrare, iar
unele modele descrise în literatură au sugerat că o determinare optimă pentru cuantificarea
41 efectului diabetogen este la 48 h după administrare de aloxan.

În determinările realizate, calea de administrare a aloxanului a fost calea
43 intraperitoneală și s-a tatonat doza de aloxan necesară inducerii diabetului zaharat la un
procent > de 50% din animalele unei colectivități. Sușa de șobolani utilizată a fost de
45 șobolani masculi, albi, Wistar (biobaza Institutului National Cantacuzino). Doza utilizată în
acest experiment a fost 130 mg/kg corp aloxan (preparat proaspăt înaintea administrării, în
47 soluție de ser fiziologic). Am utilizat o colectivitate de 60 șobolani albi, masculi, sușa Wistar

RO 126184 B1

în greutate de 110-210 g. Animalele aduse din crescătorie au fost lăsate să se obișnuiască cu noul habitat timp de 3 zile. Hrana a fost administrată <i>ad libitum</i> , dimineața la ora 8 și după amiaza la ora 17 (grăunțe pentru șoareci și șobolani, Institutul Cantacuzino, București). Apa a fost administrată <i>ad libitum</i> , din biberone.	1
Inducerea diabetului zaharat noninsulinodependent s-a făcut prin administrarea unei doze de 130 mg/kg corp aloxan intraperitoneal (soluția de aloxan a fost preparată în ser fiziologic, în concentrația 13%, astfel că s-a administrat un volum de 0,1 ml/100 g corp, intraperitoneal). La 48 h după administrarea aloxanului, s-a determinat glicemia cu un aparat BioLand G-423, BioLand Technology LTD. Sângele a fost recoltat din venele cozii prin puncționare. Această determinare a servit la selecționarea animalelor la care s-a instalat hiperglicemia. Animalele selecționate au fost împărțite în loturi după valoarea hiperglicemiei:	5
- animale diabetice cu glicemie mai mare de 200 mg/dl sânge (Viana GSB și colab, 2004) -10 animale.	13
- animale hiperglicemice cu glicemia cuprinsă între 120 și 200 mg/dl sânge - 10 animale.	15
Animalele au fost cântărite inițial și la 48 h după administrarea aloxanului, pentru a putea cuantifica influența substanței asupra parametrului greutate corporală, deoarece datele din literatură arată faptul că aloxanul scade greutatea corporală. Glicemia a fost determinată dimineața, la ora 8 a.m., animalele fiind lăsate cu hrană în timpul nopții.	17
Din șobolanii selecționați, au fost alcătuite 5 loturi (10 animale/lot), care au fost tratați zilnic, prin gavaj cu o doză/zi, dimineața la ora 8,30 am, înainte de administrarea hranei, cu substanțele:	21
- VO^{2+} -hesperetina 0,4 mmoli/kgc, suspensie apoasă 0,4 mmoli %;	23
- $VO^{2+}SO_4$ 0,4 mmoli/kgc, soluție apoasă 0,4 mmoli %;	
- lot martor, diabetic, apă distilată (1 ml/100 g corp).	25
Volumul de suspensie administrat a fost de 1 ml/100 g corp.	
Administrarea s-a făcut timp de 14 zile, la ora 8,30 am, iar în a 5-a zi, la o oră și 30 min după administrarea substanțelor, animalele au fost sacrificate. Pe sângele recoltat s-a determinat nivelul insulinei.	27
Pentru animalele martor și tratate a fost determinată greutatea corporală, zilnic, și nivelul glicemiei în fiecare zi de tratament pe parcursul celor 14 zile de administrare a apei distilate sau a substanțelor de cercetat.	29
Nivelul glicemiei a fost măsurat utilizând BioLand G-423, BioLand Technology LTD iar rezultatele obținute sunt prezentate în tabelele I-V care urmează.	31
	33

RO 126184 B1

Tabelul I

Evoluția glicemiei animalelor din lotul martor diabetic, tratat cu apă distilată

	inițial	48 h după aloxan / z1	z2	z3	z4	z5	z6	z7	z8	z9	z10	z11	z12	z13	z14
MEDIE	91,50	517,3	428,67	435,50	440,50	457,50	450,33	437,50	437,33	421,17	428,33	444,8	426,33	443,50	439,6
SD	11,04	111,6	104,39	128,89	127,77	124,63	120,62	132,00	115,22	136,18	108,17	114,35	121,19	125,73	123,4
Evoluția glicemiei (%) față de valoarea inițială		465,3	368,49	375,96	381,42	400,00	392,17	378,14	377,96	360,29	368,12	386,16	365,94	384,70	380,4
Evoluția glicemiei (%) față de z1 de tratament			-17,14	-15,82	-14,85	-11,57	-12,95	-15,43	-15,46	-18,59	-17,20	-14,01	-17,59	-14,27	-15,02

RO 126184 B1

Tabelul II 1

Evoluția glicemiei animalelor din lotul de animale diabetice, tratat cu $VO^{2+}SO_4$ 0,4 mmoli/kgc, soluție apoasă 0,4 mmoli % 3

	inițial	48 h după aloxan/ z1	z2	z3	z4	z5	z6	z7	z8	z9	z10	z11	z12	z13	z14
MEDIE	102,4	389,3	344,33	341,67	324,33	347,67	347,67	290,67	315,67	341,00	300,00	303,67	309,33	294,67	294,67
SD	14,26	182,4	149,14	232,02	230,26	222,62	222,62	262,00	247,09	225,63	260,43	212,46	185,10	183,63	192,83
Evoluția glicemiei (%) fata de valoarea inițială		279,9	236,03	233,43	216,52	239,29	239,29	183,66	208,06	232,78	192,77	196,35	201,88	187,56	187,56
Evoluția glicemiei (%) fata de z1 de tratament			-11,56	-12,24	-16,70	-10,70	-10,70	-25,34	-18,92	-12,41	-22,95	-22,00	-20,55	-24,32	-24,32

RO 126184 B1

Tabelul III

Evoluția glicemiei animalelor din lotul de animale diabetice, tratat cu VO²⁺-hesperetina 0,4 mmoli/kgc, suspensie apoasă 0,4 mmoli %

1
3
5
7
9
11
13
15
17

	inițial	48 h după aloxan/ z1	z2	z3	z4	z5	z6	z7	z8	z9	z10	z11	z12	z13	z14
MEDIE	101	472,6	395,33	309,00	304,67	334,67	321,67	300,33	317,00	324,67	306,67	310,00	297,33	300,33	283,33
SD	10,75	115,7	210,20	245,11	255,92	230,41	243,79	259,52	245,20	241,94	240,67	252,49	262,88	237,15	244,81
Evoluția glicemiei (%) față de valoarea inițială		367,9	291,41	205,94	201,65	231,35	218,48	197,35	213,86	221,45	203,63	206,93	194,38	197,35	180,52
Evoluția glicemiei (%) față de z1 de tratament			-16,36	-34,62	-35,5	-29,20	-31,95	-36,46	-32,93	-31,31	-35,12	-34,41	-37,09	-36,46	-40,06

RO 126184 B1

Tabelul IV 1

Evoluția glicemiei animalelor din lotul de animale hiperglicemice, tratat cu $VO^{2+}SO_4$ 0,4 mmoli/kgc, soluție apoasă 0,4 mmoli % 3

	inițial	48 h după aloxan/ z1	z2	z3	z4	z5	z6	z7	z8	z9	z10	z11	z12	z13	z14
MEDIE	97,45	166,00	152,33	142,00	144,67	155,00	155,00	123,67	159,33	138,33	133,33	126,00	126,67	131,00	128,33
SD	10,23	18,52	64,36	7,81	5,13	28,35	28,35	21,03	10,60	13,43	18,58	20,42	46,48	38,00	31,50
Evoluția glicemiei (%) față de valoarea inițială		70,34	56,32	45,72	48,45	59,06	59,06	26,90	63,50	41,95	36,82	29,30	29,98	34,43	31,69
Evoluția glicemiei (%) față de z1 de tratament			-8,23	-14,46	-12,85	-6,63	-6,63	-25,50	-4,02	-16,67	-19,68	-24,10	-23,69	-21,08	-22,69

RO 126184 B1

Tabelul V

Evoluția glicemiei animalelor din lotul de animale hiperglicemice, tratat cu VO²⁺- hesperetină 0,4 mmoli/kgc, suspensie apoasă 0,4 mmoli %

	inițial	48 h după aloxan/ z1	z2	z3	z4	z5	z6	z7	z8	z9	z10	z11	z12	z13	z14
MEDIE	93,86	150,18	138,73	132,73	135,09	126,55	137,73	146,00	149,00	157,00	139,67	148,00	139,00	133,33	131,33
SD	12,73	20,37	18,14	18,17	20,92	17,97	14,37	10,16	15,00	14,18	6,66	13,53	6,56	6,66	10,69
Evoluția glicemiei (%) față de valoarea inițială		60,01	47,80	41,41	43,93	34,82	46,74	55,55	58,75	67,27	48,80	57,68	48,09	42,06	39,92
Evoluția glicemiei (%) față de z1 de tratament			-7,63	-11,62	-10,05	-15,74	-8,29	-2,78	-0,79	4,54	-7,00	-1,45	-7,45	-11,22	-12,55

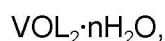
RO 126184 B1

- Administrarea complexului VO^{2+} -hesperetină demonstrează efecte benefice asupra evoluției glicemiei animalelor diabetice. 1
- Efectul mediu antidiabetic față de martorul diabetic calculat după formula (Ef antidiabetic = Evoluția glicemiei martorului diabetic în ziua X de tratament - Evoluția glicemiei lotului tratat în ziua X de tratament) este mai mare pentru compusul VO^{2+} -hesperetina decât pentru referința $VOSO_4$. 3 5
- Efectul mediu antidiabetic față de referința $VOSO_4$ calculat după formula (Ef antidiabetic = Evoluția a glicemiei lotului tratat cu referința $VOSO_4$ în ziua X de tratament - Evoluția a glicemiei lotului tratat cu compusul VO^{2+} -hesperetina în ziua X de tratament) apare din ziua 2 de tratament și se menține pe toată durata tratamentului. 7 9
- Efectul mediu hipoglicemiant față referința $VOSO_4$ calculat după formula (Ef hipoglicemiant = Evoluția glicemiei lotului tratat cu referința $VOSO_4$ în ziua X de tratament - Evoluția a glicemiei lotului tratat cu compusul VO^{2+} -hesperetina în ziua X de tratament, pentru animalele hiperglicemice) nu a fost superior referinței pe parcursul tratamentului. 11 13

RO 126184 B1

Revendicări

1. Compuși de oxovanadiu (IV) cu derivați de flavanonă, **caracterizați prin aceea că** derivatul de flavanonă este ales dintre hesperitină, respectiv, naringenină, cu structura corespunzătoare formulei generale:

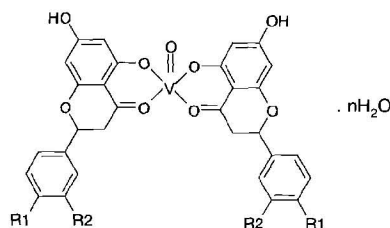


în care atunci când

L: hesperetină, $n=4$; și

L: naringenina, $n=5$

și este reprezentat prin formula structurală:



în care în cazul în care L= hesperetină, $R_1: \text{OCH}_3$, $R_2: \text{OH}$, $n=4$; L= naringenină, $R_1: \text{OH}$, $R_2: \text{H}$, $n=5$).

2. Procedeu de preparare a compușilor, definit în revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că** se dizolvă ligandul, respectiv, hesperetina sau naringenina, în apă în prezență de NaOH solid, la pH 8, se adaugă VOSO_4 în raport molar ligand:ion metalic de 2:1, se corectează pH-ul soluției prin adăugare de H_2SO_4 2 M la pH de 6,5 până la obținerea unui precipitat de culoare verde deschis, se agită amestecul de reacție 30 min la temperatura camerei, se filtrează precipitatul la vid, se spală cu apă distilată, apoi cu porțiuni mici de metanol și etanol, și se usucă prin păstrare la temperatura camerei.

3. Compus conform revendicării 1, utilizat în prepararea unui medicament pentru tratamentul diabetului noninsulinodependent.

(51) Int.Cl.

A61K 31/351 (2006.01);

A61K 31/724 (2006.01);

A61K 31/427 (2006.01)

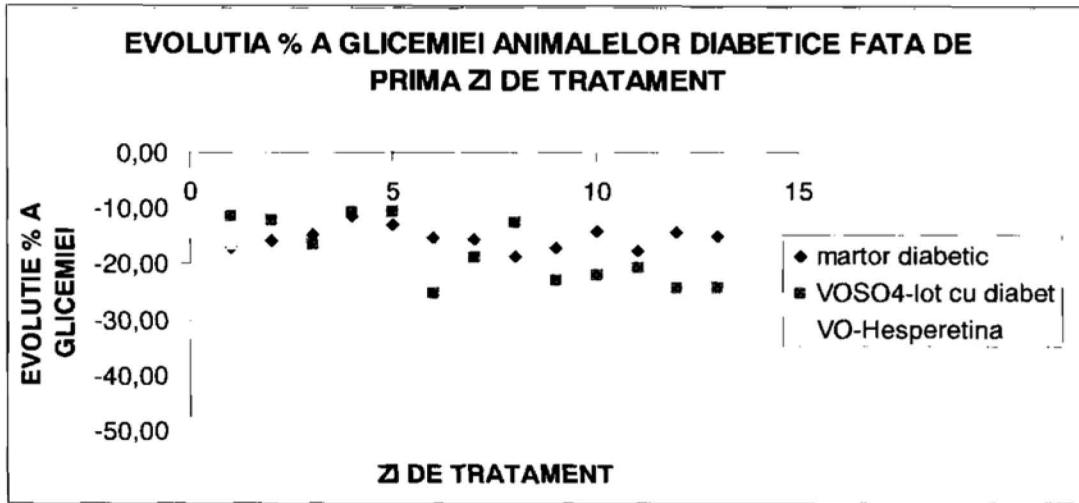


Fig. 1

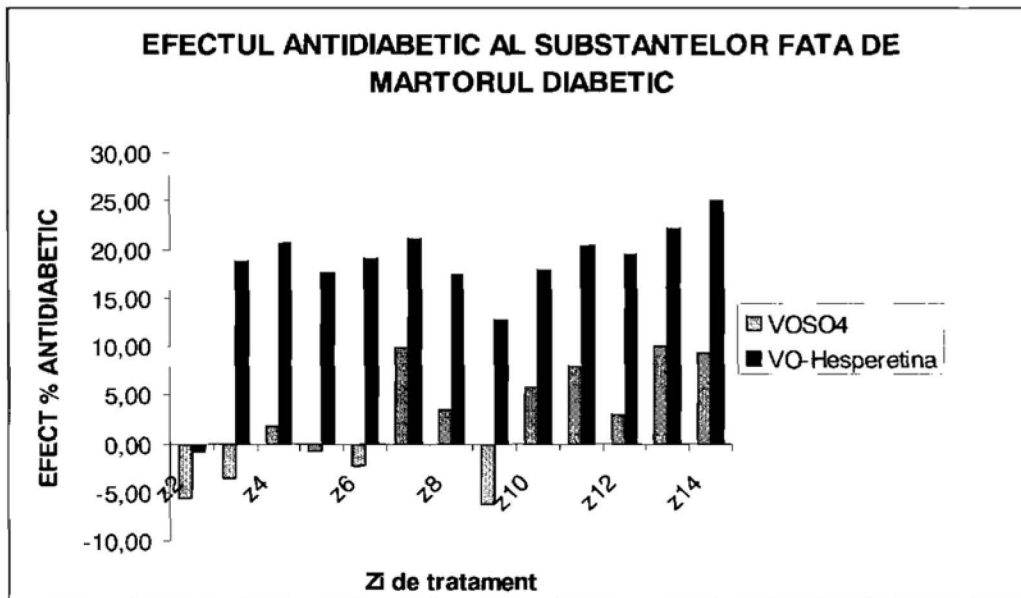


Fig. 2

(51) Int.Cl.

A61K 31/351 (2006.01),

A61K 31/724 (2006.01),

A61K 31/427 (2006.01)

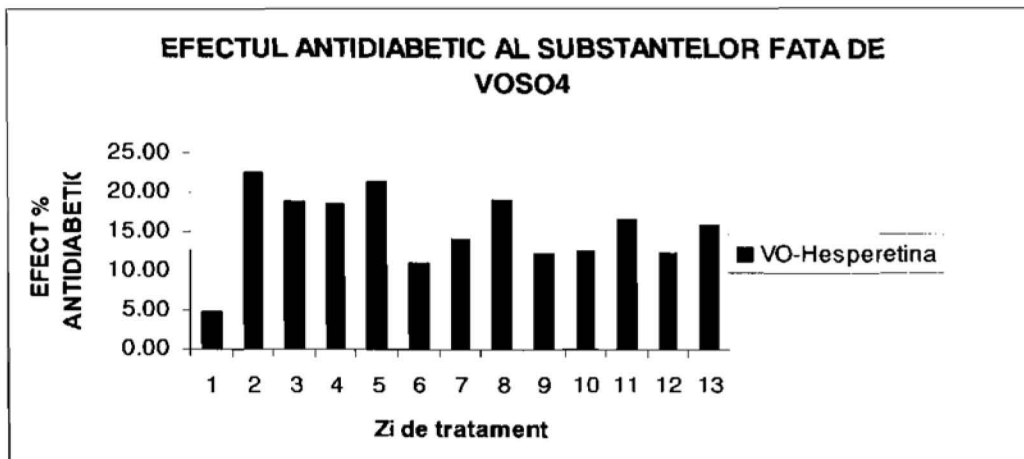


Fig. 3

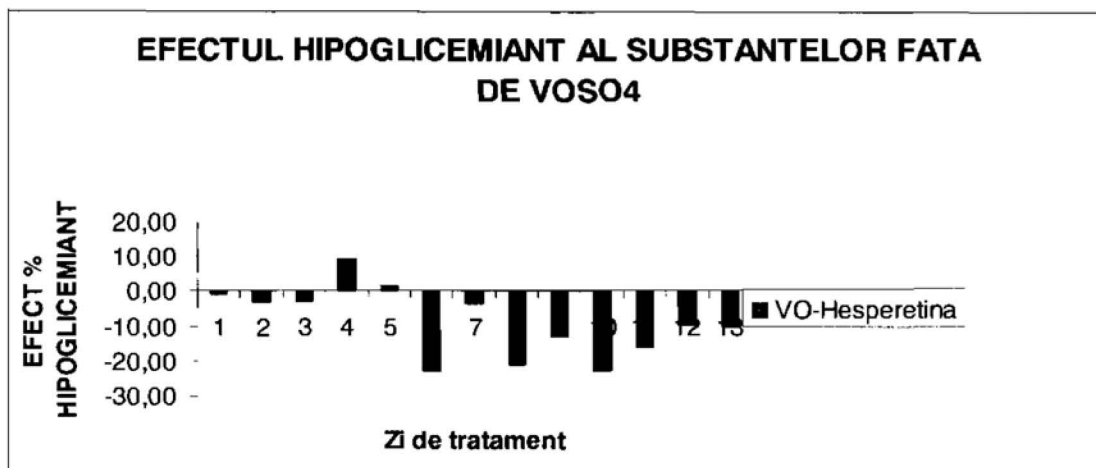


Fig. 4



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
 Tipărit la Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
 sub comanda nr. 1087/2013