



(12) **CERERE DE BREVET DE INVENȚIE**

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

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

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

(71) Solicitant:
• **UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI
FARMACIE "CAROL DAVILA",
STR.DIONISIE LUPU NR.37, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO**

(72) Inventatori:
• **UIVAROȘI VALENTINA,
BD. ALEXANDRU OBREGIA NR. 31, BL. J5,
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. G6,
SC. 1, AP. 28, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO**

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

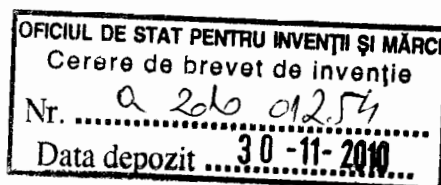
(57) Rezumat:

Prezenta invenție se referă la compuși de oxovanadiu (IV), la un procedeu de obținere și la acțiunea acestora de scădere a glicemiei, utilă în tratamentul diabetului. Produsul conform invenției este reprezentat de un compus de oxovanadiu (IV) cu derivat de flavanonă (hesperetină, respectiv, naringenină) cu formula generală $VO_{L_2} \cdot nH_2O$ (L: hesperetină; n = 4; L: naringenină; n = 5). Procedeu conform invenției presupune dizolvarea ligandului în apă, în prezența NaOH solid (pH = 8), adăugare $VOSO_4$ în raport molar ligand:ion metalic de

2:1, corectarea pH-ului soluției cu H_2SO_4 până la obținerea unui precipitat de culoare verde deschis, agitarea amestecului de reacție timp de 30 min la temperatura camerei, filtrarea precipitatului la vid, spălare cu apă distilată, metanol și etanol, și uscarea precipitatului prin păstrare la temperatura camerei.

Revendicări: 3
Figuri: 4





COMPUȘI DE OXOVANADIU(IV) CU FLAVANONE, PROCEDEU DE OBTINERE ȘI UTILIZARE TERAPEUTICĂ

Invenția se referă la compuși de oxovanadiu(IV), la un procedeu de obținere și la acțiunea acestora de scădere a glicemiei, utilă în tratamentul diabetului.

Diabetul zaharat cuprinde un grup de maladii cu diverse etiologii. Toate sunt caracterizate de hiperglicemie variabilă și cronică și alte tulburări în metabolismul 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 tip II este însoțit de hiperinsulinemie cu rezistență la insulină (diabet noninsulinodependent). Diabetul de tip I este controlat prin injectarea zilnică de insulină. Pornind de la observația că 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. Aproximarea 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 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).

Proprietățile insulino – mimetice ale compușilor vanadiului au suscitat un interes deosebit în găsirea unor înlocuitori ai insulinei sau agenților insulino – mimetici cu 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 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 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 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 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; Shechter, Y., Karlsh, S. D. T., Insulin-

like stimulation of glucose oxidation in rat adipocytes by vanadyl (IV) ions. *Nature (London)* 1980, 284, 556-558).

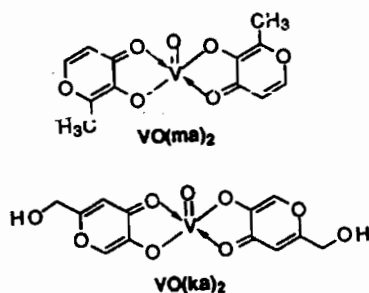
Deoarece diabetul de tip II se caracterizează prin hiperinsulinemie și rezistență la insulină, fără deficiență de insulină, este semnificativ că vanadiul stimulează metabolismul glucozei fără a crește concentrația insulinei circulante (Bendayan, M., Gingras, D., Effect of vanadate administration on blood glucose and insulin levels as well as on the 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., 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 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 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 disfuncție miocardică, chiar și în absența unor tulburări coronariene sau hipertensiunii, efectele combinate ale vanadatului sunt de o importanță deosebită (Takeda, S., Mochizuki, 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. Physiol.* 2005, 99, 999-1005).

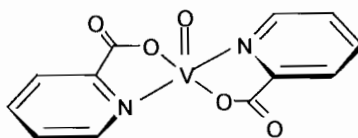
După descoperirea proprietăților insulino – mimetice ale ionului vanadat, cercetările au fost orientate și spre acțiunea altor compuși cu vanadiu, deoarece vanadatul este puțin absorbit din tractul gastrointestinal în sânge, iar doza necesară este apropiată de nivelul toxic. Ulterior, s-a constatat că 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

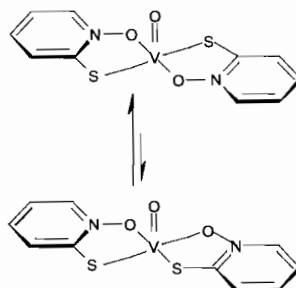
analog al maltolului (Yuen, V.G., Caravan, P., Gelmini, L., Glover, N., McNeill, J. H., Setyawati, I. A., Zhou, Y., Orvig C., Glucose-lowering properties of vanadium compounds: comparison of coordination complexes with maltol or kojic acid as ligands. *J. Inorg. Biochem.* 1997, 68, 109-116; J.H. McNeill, 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:



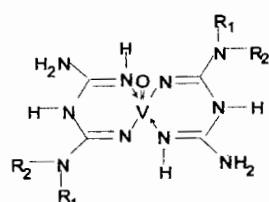
Compusul $VO(\text{picolinat})_2$ ($VO(\text{PA})$) este activ în normalizarea nivelelor de glucoză serică la șobolanii cu diabet indus cu streptozotocină atunci când a fost administrat intraoperitoneal sau oral (Sakurai, H., Fujii, K., Watanabe, H., Tamura H., Orally active and long-term acting insulin-mimetic vanadyl complex:bis(picolinato)oxovanadium (IV). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995, 214, 1095). Structura complexului este:



Compusul bis(1-oxi-2-piridintiolato)oxovanadiu(IV), $VO(\text{OPT})$ 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 $VO(\text{S}2\text{O}2)$ coordination mode; in vitro and in vivo evaluations in rats. *J. Inorg. Biochem.* 2000, 80, 99-105). Complexul prezintă următoarele structuri posibile:



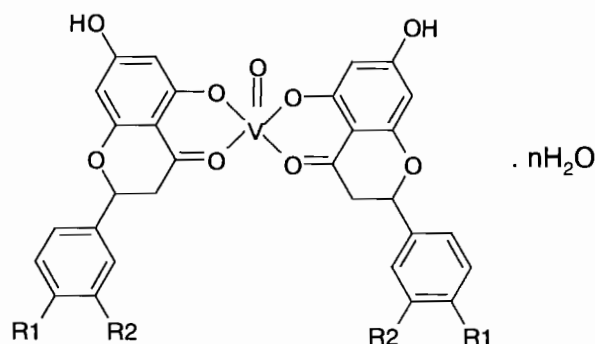
Se cunosc o serie de compuși de oxovanadiu(IV) cu liganzi cu activitate antidiabetică distinctă cum sunt: 1,1-dimetilbiguanid (metformin), 1-fenetilbiguanid (fenformin) și 1-butilbiguanid (buformin) (C. Orvig, J.H. McNeill, Pharmaceutical compositions of vanadium biguanide complexes and their use, US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



Folosirea unor liganzi naturali cu toxicitate scăzută, cum sunt flavanonele, ar contribui la reducerea efectelor adverse ale compușilor de oxovanadiu(IV). În plus, flavanonele 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. 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., 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., 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 hypercholesterolemic hamsters. J. Med. Food. 2010, 13, 808-14), de corectare a tulburărilor metabolice asociate rezistenței la insulină (Mulvihill, E.E., Allister, E.M., 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 hyperinsulinemia in LDL receptor-null mice with diet-induced insulin resistance. Diabetes 2009, 58, 2198-2210).

Prezenta invenție propune noi compuși ai ionului vanadil cu flavanonele hesperetina (3',5,7-trihidroxi-4'-metoxiflavanona) și naringenina (4',5,7-trihydroxiflavanona) cu acțiune hipoglicemiantă.

Invenția se referă la un compus de oxovanadiu (IV) cu un derivat de flavanonă (hesperetina respectiv naringenina) cu formula generală: $VO_2 \cdot nH_2O$ (L: hesperetină, n=4; L: naringenină, n=5) și reprezentat prin formula structurală:



în care în cazul în care

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

L= naringenină, R1: OH, R2: H, n=5),

la un procedeu de preparare prin dizolvarea ligandului (hesperetină, respectiv naringenină) în apă în prezență de NaOH solid (pH = 8), la care se adaugă VOSO₄ pentru un raport molar L:M de 2:1. Se corectează pH-ul soluției prin adăugare de H₂SO₄ 2M până la obținerea unui precipitat de culoare verde deschis (pH ~ 6.5). Amestecul de reacție se agită 30 minute la temperatura camerei. Compusul greu solubil obținut 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. Un alt obiect al invenției îl constituie utilizarea compusului de oxovanadiu(IV) cu hesperetina, respectiv naringenina pentru tratarea diabetului noninsulinodependent.

În cele ce urmează se prezintă două exemple concrete de preparare a compușilor.

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 minute 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

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 de concentrație $10^{-3}M$ în dimetilsulfoxid are o conductanță molară de $17.34 \Omega^{-1}cm^2mol^{-1}$, caracteristică unui neelectrolit.

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 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 uniform de culoare vernil. Amestecul de reacție se agită 30 minute 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 $VO(naringenină)_2 \cdot 5H_2O$ obținut corespunde formulei chimice $C_{32}H_{32}O_{16}V$, % 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 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; $\nu(C=C)$, 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: 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).

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.

Determinări farmacologice

În cele ce urmează se prezintă modalitatea de testare, cu prezentarea grafică a rezultatelor în Fig. 1-4, care redau:

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 $VOSO_4$

Fig. 4 Efectul hipoglicemiant al substanțelor față de $VOSO_4$

Experimentele s-au realizat cu scopul determinării acțiunii hipoglicemizante și antidiabetice compușilor. Rezultatele obținute la testarea celor doi compuși sunt destul de similare. Este exemplificată realizarea experimentelor pentru compusul VO(hesperetin)₂·4H₂O, preparat ca mai sus.

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 larg utilizată pentru investigarea acțiunii antidiabetice a diverselor grupe de substanțe utilizate în diabet zaharat. Metode pentru inducerea diabetului zaharat cu aloxan au fost 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 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 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 Langerhans, secretoare de insulină) se manifestă începând cu 24 ore după administrare, iar unele modele descrise în literatură au sugerat că o determinare optimă pentru cuantificarea efectului diabetogen este la 48 ore după administrare de aloxan.

În determinările realizate, calea de administrare a aloxanului a fost calea 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 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 soluție de ser fiziologic). Am utilizat o colectivitate de 60 șobolani albi, masculi, sușa Wistar 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 ad libitum, dimineața la ora 8 și după amiaza la ora 17 (grăunțe pentru șoareci și șobolani, Institutul Cantacuzino, București). Apa a fost administrată ad libitum, din biberoane.

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 ore 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:

- animale diabetice cu glicemie mai mare de 200 mg/dl sânge (Viana GSB și colab, 2004) – 10 animale.

- animale hiperglicemice cu glicemia cuprinsă între 120 – 200 mg/dl sânge – 10 animale.

Animalele au fost cântărite inițial și la 48 ore 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.

Din șobolanii selectionați, 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:

- VO^{2+} -hesperetina 0,4 mmoli/kgc, suspensie apoasa 0,4 mmoli %

- $\text{VO}^{2+}\text{SO}_4$ 0,4 mmoli/kgc, solutie apoasa 0,4 mmoli %

- lot martor, diabetic, apă distilată (1 ml/100 g corp)

Volumul de suspensie administrat a fost de 1 ml/100g 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 minute după administrarea substanțelor, animalele au fost sacrificate. Pe sângele recoltat s-a determinat nivelul insulinei.

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.

Nivelul glicemiei a fost măsurat utilizând BioLand G-423, BioLand Technology LTD iar rezultatele obținute sunt prezentate în tabelele I-V care urmează.

Tabelul I
Evoluția glicemiei animalelor din lotul marilor diabetici, tratat cu apă distilată

	initial	48 de ore 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 (%) fata de valoarea initiala		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 (%) fata 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

Tabelul II
Evoluția glicemiei animalelor din lotul de animale diabetice, tratat cu $VO_2^+SO_4$ 0,4 mmoli/kgc, soluție apoasă 0,4 mmoli %

	initial	48 de ore 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 initiala		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

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

	initial	48 de ore dupa 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 (%) fata de valoarea initiala		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 (%) fata 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

Tabelul IV
Evoluția glicemiei animalelor din lotul de animale hiperglicemice, tratat cu VO²⁺SO₄ 0,4 mmoli/kgc, soluție apoasă 0,4 mmoli %

	initial	48 de ore dupa 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 (%) fata de valoarea initiala		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 (%) fata 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

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

	initial	48 de ore dupa 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 (%) fata de valoarea initiala		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 (%) fata 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

Administrarea complexului VO^{2+} -hesperetina demonstrează efecte benefice asupra evoluției glicemiei animalelor diabetice.

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 $VOSO_4$.

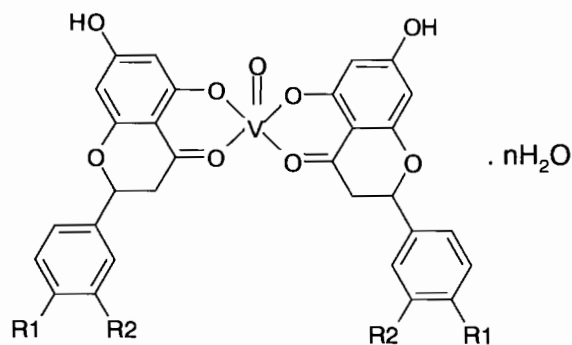
Efectul mediu antidiabetic față de referința $VOSO_4$ calculat după formula (Ef antidiabetic = Evoluția a glicemiei lotului tratat cu referința $VOSO_4$ în ziua X de tratament – Evoluția a glicemiei lotului tratat cu compusul VO^{2+} -hesperetina în ziua X de tratament) apare din ziua 2 de tratament și se menține pe toată durata tratamentului.

Efectul mediu hipoglicemiant față de 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.

Invenția prezintă următoarele avantaje: compușii 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, compușii 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.

REVEDICĂRI

1. Compus de oxovanadiu (IV) cu derivat de flavanonă (hesperetina respectiv naringenina) cu formula generală: $VOL_2 \cdot nH_2O$ (L: hesperetină, $n=4$; L: naringenină, $n=5$) și reprezentată prin formula structurală:



în care în cazul în care L= hesperetină, R1: OCH_3 , R2: OH, $n=4$; L= naringenină, R1: OH, R2: H, $n=5$).

2. Procedeu de preparare a compușilor de la revendicarea 1 caracterizat prin aceea că se dizolvă ligandul (hesperetină, respectiv naringenină) în apă în prezență de NaOH solid (pH 8), se adaugă $VOSO_4$ în raport molar ligand:ion metallic de 2:1, se corectează pH-ul soluției prin adăugare de H_2SO_4 2M (pH ~ 6.5) până la obținerea unui precipitat de culoare verde deschis, se agită amestecul de reacție 30 minute 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 de la revendicarea 1 pentru tratarea diabetului noninsulinodependent.

30-11-2010

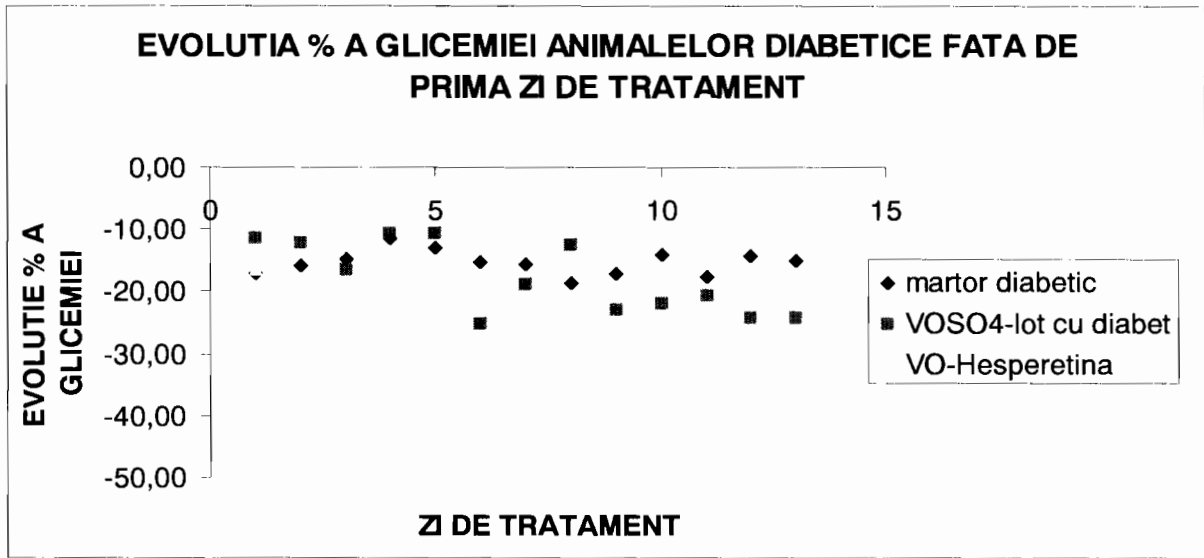


Fig. 1 Evoluția procentuală a glicemiei animalelor diabetice față de prima zi de tratament

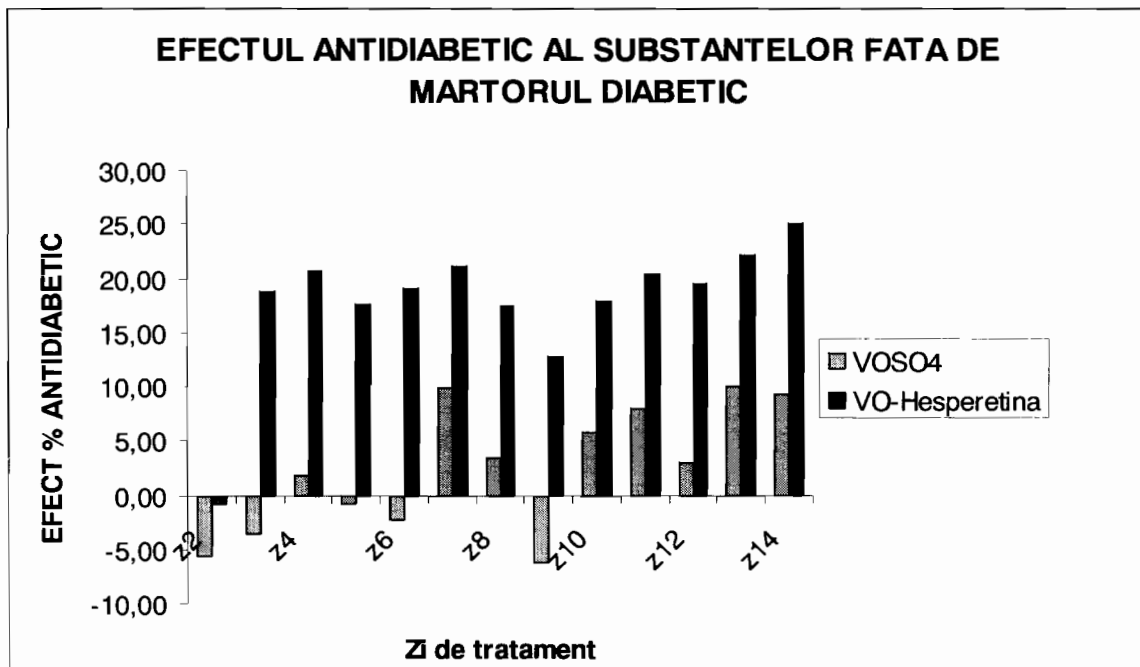


Fig. 2 Efectul antidiabetic al substanțelor față de martorul diabetic

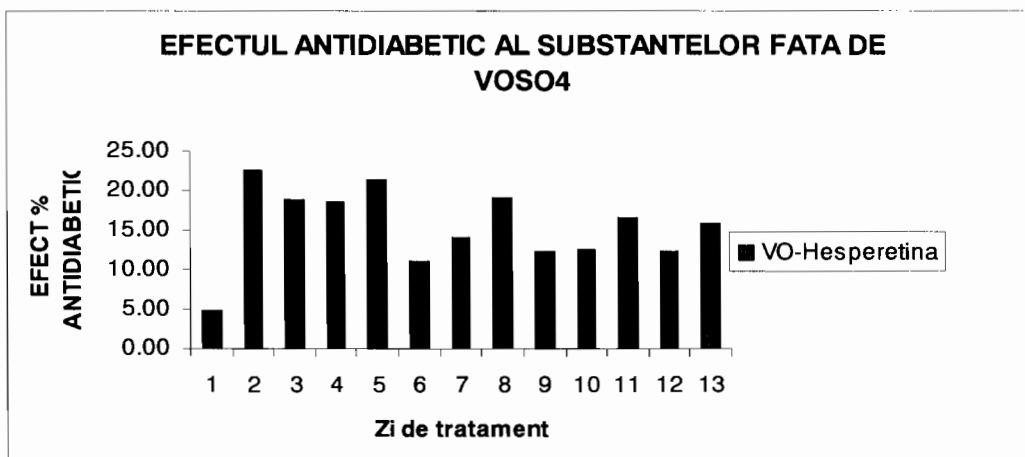


Fig. 3 Efectul antidiabetic al substanțelor față de VOSO₄

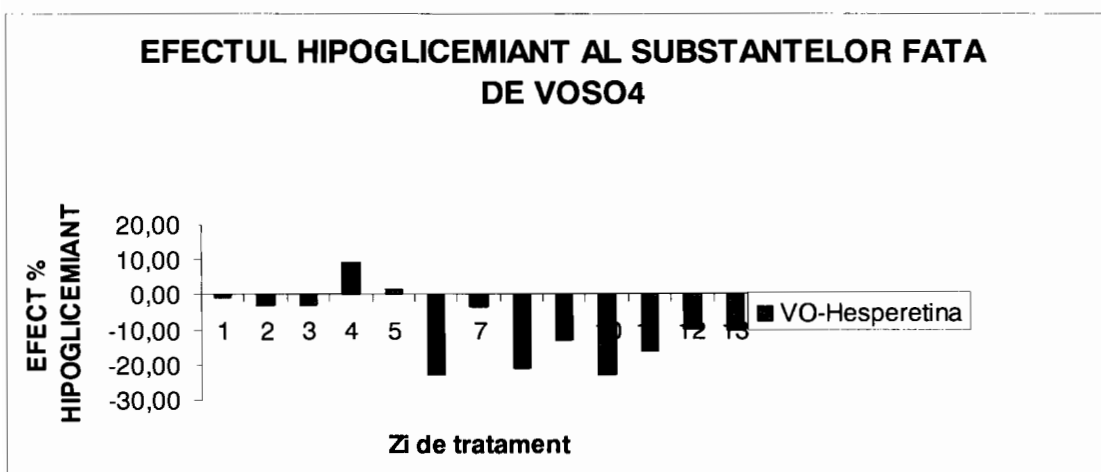


Fig. 4 Efectul hipoglicemiant al substanțelor față de VOSO₄