



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2013 01005**

(22) Data de depozit: **17/12/2013**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/04/2019** BOPI nr. **4/2019**

(41) Data publicării cererii:
30/06/2015 BOPI nr. **6/2015**

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

(72) Inventatori:
• **OLARU OCTAVIAN TUDOREL, STR. ZBOINA NEAGRĂ NR. 5, BL. 98, SC. 1, ET. 1, AP. 8, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **ȘEREMET OANA CRISTINA, STR. VINTILĂ MIHĂILESCU NR. 23, BL. 63A, AP. 22, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **MARGINĂ DENISA, STR. ALEXANDRU MORUZZI NR. 3, BL. A 11, SC. 2, ET. 2, AP. 48, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;**

• **NIȚULESCU GEORGE MIHAI, NR. 82, SĂRATA MONTEORU, BZ, RO;**
• **ILIE MIHAELA, STR. DUMBRAVA NOUĂ NR. 10, BL. M 82, SC. 2, ET. 3, AP. 76, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **GRIGORE ALICE ELENA, BD. UVERTURII NR. 43, BL. 1, AP. 131, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **NEGREȘ SIMONA, ȘOS. GIURGIULUI NR. 121, BL. 5, SC. 2, AP. 44, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;**
• **VELESCU BRUNO ȘTEFAN, STR. NEAGOE VODĂ NR. 53, BACĂU, BC, RO;**
• **APOSTOL THEODORA VENERA, SAT MOVILIȚA, COMUNA MOVILIȚA, VR, RO;**
• **ISTUDOR VIORICA, STR. SIRET NR. 39, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
WO 2010083937 A1; WO 2010129524 A2

(54) **EXTRACTE STANDARDIZATE DIN FALLOPIA CONVULVULUS ȘI FALLOPIA AUBERTII, PROCEDEU DE OBȚINERE ȘI UTILIZARE TERAPEUTICĂ**



RO 130321 B1

1 Prezenta invenție se referă la o serie de extracte vegetale obținute din specii ale
2 genului *Fallopia*, respectiv *F. convolvulus* și *F. aubertii*, caracterizate calitativ și cantitativ, la
3 procedeul de obținere și la proprietățile antioxidante și hipoglicemiant, utile ca adjuvante
4 în terapia diabetului zaharat de tip II.

5 Diabetul este o boală metabolică cu repercusiuni importante asupra societății umane
6 actuale. Structurile sociale diferite, stresul cotidian, prescrierea abuzivă a unor medicamente,
7 obezitatea, dezechilibrele hormonale și factorul ereditar au adus această boală la stadiul
8 unei adevărate pandemii. În prezent, tratamentul medicamentos disponibil constă în principal
9 în reducerea valorilor glicemiei cu biguanide, derivați de sulfoniluree, tiazolidindione, derivați
10 ai D-fenilalaninei, metiglinide și inhibitori ai α -glucozidazei, și, în cazurile care o impun, cu
11 insulină. Datorită numeroaselor efecte nedorite asociate tratamentelor amintite, cercetarea
12 a noi compuși, chimici sau naturali, cu acțiuni benefice în tratamentul diabetului este într-o
13 continuă dezvoltare. Stresul oxidativ este o consecință a hiperglicemiei și determină
14 modificări ale metabolismului energetic și proceselor inflamatorii, având astfel un rol
15 important în fiziopatologia diabetului asociat cu sisteme endogene antioxidante deficitare și
16 creșterea speciilor oxigen reactive [Bocci și colab., *Diabetes & Metabolic Syndrome:
17 Clinical Research & Reviews*, 2011, 5(1): 45-49; Matsuda și colab., *Obesity Research
& Clinical Practice*, 2013, 7(5): 330-e341].

18 Speciile vegetale constituie surse bogate, complexe, de multe ori neexplorate de
19 constituenți cu potențial antioxidant și hipoglicemiant.

20 Compușii polifenolici prezintă un interes deosebit în ultimul timp datorită nume-
21 roaselor acțiuni farmacologice, printre care și proprietățile antioxidante și hipoglicemiant
22 [Grassi și colab., *Nutrients*, 2010, 2: 889-902; Sandhar și colab. *Int. Pharm. Sci.*, 2011,
23 1(1): 25-41; Devasagayam și colab. *JAPI*, 2004, 52: 794-804].

24 Dintre speciile genului *Fallopia*, valorificate la nivel internațional și național sunt
25 *Fallopia japonica* (sin. *Polygonum cuspidatum*) și *Fallopia multiflora* (sin. *Polygonum
26 multiflorum*). Acestea prezintă proprietăți antioxidante, hipoglicemiant și hepatoprotectoare
27 imprimate de conținutul bogat în compuși polifenolici [Griesbacher și colab., *Am. J. Med*,
28 (1995), 98: 469; Sundaram, R. K., *Clin. Sci.*, (1996), 90: 255; Zhang și colab., *PLoS One.*,
29 (2012), 7(9): e46574; Chiu și colab., *Planta Med*, (2002), 68: 951-956;]. Speciile *Fallopia
30 convolvulus* (L.) A. Læve (sin. *Polygonum convolvulus*) și *Fallopia aubertii* (L. Henry) Holub
31 (sin. *Polygonum aubertii*, sin. *Polygonum baldschuanicum*) sunt specii înrudite îndeaproape
32 din punct de vedere filogenetic și chimic cu *F. japonica* și *F. multiflorum* [DeCraene,
33 *Cambridge University Press*, 2010: 170-174; Song și colab. *Journal of
34 Ethnopharmacology*, 2009, 124: 434-439].

35 Cercetări anterioare cu privire la compoziția chimică calitativă a polifenolilor din *F.
36 convolvulus* și *F. aubertii* au evidențiat acizii fenolici și flavonoidele [Kim și colab.,
37 *Biochemical Systematics and Ecology.*, 2000, 28: 433-441; Zhang și colab., *Journal of
38 Asian Natural Products Research*, (2011), 13(2): 136-142; Kim și colab. *Botany*, (2000),
39 78(9): 1136-1143; Bate-Smith și colab., *Biochem J*, (1954), 58 (1): 126-132].

40 Din punct de vedere cantitativ, *F. convolvulus* și *F. aubertii* reprezintă surse bogate
41 de compuși polifenolici, dintre aceștia remarcându-se flavonozidele, acizii fenolici,
42 proantocianii și antocianozidele [Smolarz H. D., *Acta Polonica Pharmaceutica: Drug
43 Res.*, (2002), 59(2): 145-148; Olaru și colab., *Farmacia*, 2013, 61(5): 991-999; Olaru și
44 colab., *Acta Medica Marisiensis*, 2013, 59(3): 162-164].

45 Invenția de față se referă la obținerea a două extracte vegetale din *Fallopia
46 convolvulus* și *Fallopia aubertii*, și la evaluarea proprietăților antioxidante și hipoglicemiant
47 în vederea utilizării ca adjuvant în terapia diabetului zaharat de tip II.

RO 130321 B1

Obiectul invenției constă într-un procedeu de obținere a extractelor vegetale hidroalcoolice, caracterizate calitativ și cantitativ, la verificarea reproductibilității procesului și evaluarea capacității antiradicalare <i>in vitro</i> și de scădere a valorilor glicemiei la modelul experimental pe șobolan diabetic.	1
Extracțiile conform invenției sunt reprezentate de extracții vegetale totale uscate, cu un conținut de polifenoli totali exprimați în quercetol de 20,94...21,88 g% (extractul de <i>Fallopia convolvulus</i>) și de 26,50...27,13 g% (extractul de <i>Fallopia aubertii</i>). Procedeu conform invenției presupune refluxarea materiei vegetale de trei ore cu etanol 50%, în raport de masă: volum produs vegetal solvent de 1:5, concentrarea la evaporator rotativ și uscarea prin nebulizare.	3
Refluxarea s-a realizat la instalații de reflux pe o baie electrică Fale MM500. Concentrarea soluțiilor extractive s-a realizat la un evaporator rotativ BUCHI R.200, sub vid, la temperatura de maxim 50°C. Uscarea extractelor prin nebulizarea concentratului s-a efectuat la un nebulizator BUCHI Mini Spray Dryer B-290 cu aer comprimat, la o temperatură a aerului de 130°C la intrare și 60°C la ieșire, și un debit de 6 ml/min.	5
Pentru caracterizarea calitativă a extractelor și verificarea reproductibilității procesului de obținere, s-au efectuat amprentele extractelor uscate prin cromatografie în strat subțire (TLC), spectrometrie IR și UV/VIS. Verificarea reproductibilității procesului de obținere s-a realizat pe câte trei șarje din fiecare extract.	7
Pentru analiza TLC s-au folosit: plăcuțe silicagel 60 F254 (Merck), faza mobilă: acetat de etihacid formic:acid acetic:apă 72:7:7:14, v/v (3.3.1); scanarea cromatoplăcilor și achiziția spectrelor UV cu aparatul CAMAG TLC Scanner (Elveția) în UV (254 și 366 nm), pe domeniul λ de 200...700 nm. Spectrele IR s-au achiziționat în fază solidă folosind un spectrofotometru JASCO FT/IR-4200 prevăzut cu un accesoriu ATR PRO450-S cu optică de diamant, lucrând în tehnica de reflexie totală atenuată (ATR) în intervalul spectral de 400...4000 cm^{-1} , la o rezoluție de 4 cm^{-1} . Determinările cantitative s-au realizat la un spectrofotometru UV/Vis Jasco V650, acuratețe ± 2 nm prin metoda Folin Ciocâlțeu [Gonzalez și colab., Lat. Am. J. Pharm., 2003, 22(3): 243-248].	9
Evaluarea proprietăților antioxidante s-a efectuat prin înregistrarea spectrelor de fluorescență la un spectrofluorimetru Perkin Elmer LS50B. Pregătirea suspensiei lipozomale și metodologia de lucru sunt descrise în literatura de specialitate [Margină D. și colab., Romanian Biotechnological Letters, 2012, 17(3), 7366-7372].	11
Evaluarea toxicității și a proprietăților hipoglicemice au fost efectuate respectând normele de bioetică în cercetarea pe animale de experiență în scop științific, conform Directivei 86/609/EEC din 24 noiembrie 1986.	13
Avantajele aplicării invenției sunt:	15
- valorificarea speciilor vegetale <i>F. convolvulus</i> și <i>F. aubertii</i> ;	17
- obținerea extractelor vegetale se face utilizând solvenți netoxici pentru om și nepoluanți;	19
- extractele vegetale sunt obținute printr-un procedeu validat cu un randament bun de extracție a principiilor active;	21
- extractele obținute prezintă proprietăți antioxidante și hipoglicemice. Descrierea pe scurt a desenelor:	23
- fig. 1 prezintă amprenta TLC (cromatogramele în UV la $\lambda = 366$ nm și densitogramele la $\lambda = 254$ nm) a extractelor vegetale de <i>F. convolvulus</i> (A) și <i>F. aubertii</i> (B);	25
- fig. 2 prezintă evaluarea capacității antioxidante asupra peroxidării lipozomale;	27
- fig. 3 prezintă efectul asupra glicemiei al extractelor de <i>F. convolvulus</i> și <i>F. aubertii</i> administrate p.o. la șobolan.	29
În continuare, invenția este ilustrată prin 2 exemple nelimitative de realizare.	31

RO 130321 B1

1 Exemplul 1

Descrierea etapelor de obținere a extractului de *Fallopia convolvulus*:

3 Au fost obținute 3 șarje de extract.

Etapa I. Prelucrarea materiei prime (produsul vegetal)

5 Materialul vegetal constituit din partea aeriană a plantei recoltată în timpul înfloririi și fructificării se supune sortării, uscării la umbră la temperatura camerei și apoi unei noi sortări. 7 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. 9

Aproximativ 105 g produs vegetal se cântăresc, se mărunțesc și se trec prin sita IV 11 (Farmacopeea Română, ed. a X-a). 100 g produs vegetal mărunțit, anterior cântărit la balanța analitică, se aduc într-un balon cu fund rotund și se umectează cu aproximativ 13 150 ml alcool etilic 50%.

Etapa II. Extracția principiilor active

15 În balon se adaugă 500 ml alcool etilic 50% peste produsul vegetal umectat și se montează la o instalație prevăzută cu refrigerent ascendent. Se refluxează timp de 60 min. 17 După refluxare, soluția extractivă se filtrează la presiune normală și apoi la presiune redusă. Procedul de refluxare se repetă până când se ajunge la o concentrație de polifenoli totali 19 (exprimați în quercetol/100 g produs vegetal) a soluțiilor reunite, care variază între limitele 3,87...4,36 g.

21 *Etapa III. Concentrarea soluției extractive*

Concentrarea s-a efectuat la un evaporator rotativ BUCHI R.200, sub vid, la 23 temperatura de 50°C, până la obținerea unei suspensii apoase cu un volum de aproximativ $\frac{1}{4}$ ori mai mic decât volumul inițial.

25 *Etapa IV. Uscarea prin nebulizare a suspensiei apoase concentrate*

Uscarea soluției extractive concentrată a fost realizată prin nebulizarea acesteia la 27 un aparat BUCHI Mini Spray Dryer B-290 cu aer comprimat, la o temperatură a aerului de 130°C la intrare și 60°C la ieșire, și un debit de 6 ml/min.

29 Randamentul de obținere a extractului uscat a fost de $19,29 \pm 1,01\%$ cu un conținut de 20,94...21,88 g polifenoli totali/100 g extract uscat.

31 *Etapa V. Condiționarea extractelor uscate*

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

Exemplul 2

35 Descrierea etapelor de obținere a extractului de *Fallopia aubertii*:

Au fost obținute 3 șarje de extract.

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

39 Materialul vegetal constituit din inflorescențele plantei recoltate în timpul înfloririi se supune sortării, uscării la umbră la temperatura camerei și apoi unei noi sortări. Materia rezultată, denumită în continuare produs vegetal, conține mai puțin de 0,5% impurități 41 provenite din alte specii vegetale și mai puțin de 0,5% impurități provenite din aceeași plantă.

Aproximativ 125 g produs vegetal se cântăresc, se mărunțesc și se trec prin sita IV 43 (Farmacopeea Română, ed. a X-a). 120 g produs vegetal mărunțit, anterior cântărit la balanța analitică, se aduc într-un balon cu fund rotund și se umectează cu aproximativ 45 300 ml alcool etilic 50%.

Etapa II. Extracția principiilor active

47 Se adaugă 600 ml alcool etilic 50% și se montează balonul la o instalație prevăzută cu refrigerent ascendent. Se refluxează timp de 60 min. După refluxare, soluția extractivă se 49 filtrează la presiune normală și apoi la presiune redusă. Refluxarea se repetă de 1...2 ori până la o concentrație a soluțiilor reunite de 7,06...8,59 g polifenoli totali exprimați în 51 quercetol/100 g produs vegetal.

RO 130321 B1

Etapa III. Concentrarea soluției extractive

Concentrarea s-a efectuat la un evaporator rotativ BUCHI R.200, sub vid, la temperatura de 50°C, până la obținerea unei suspensii apoase cu un volum de aproximativ 1/2 ori mai mic decât volumul inițial.

Etapa IV. Uscarea prin nebulizare a suspensiei apoase concentrate

Operația de uscare a soluției extractive concentrată a fost supusă nebulizării la un nebulizator BUCHI Mini Spray Dryer B-290 cu aer comprimat, la o temperatură a aerului de 130°C la intrare și 60°C la ieșire și un debit de 6 ml/min.

Randamentul de obținere a extractului uscat a fost de 21,06 ± 3,09% cu un conținut de 26,50...27,13 g polifenoli totali/100 g extract uscat.

Etapa V. Condiționarea extractelor uscate

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

Verificarea reproductibilității procesului de obținere

Verificarea reproductibilității procesului de obținere prin cromatografie în strat subțire. 0,1000 g extract (exemplul 1, exemplul 2) se dizolvă în 10 ml etanol 50%. Soluțiile se concentrează la ~ 1 ml. Substanțele de referință aplicate: acidul clorogenic (0,5 μg/spot), hiperozida (1,0 μg/spot) și izoquercitrozida (0,75 μg/spot) - în amestec;

În cele trei șarje s-au identificat:

- pentru exemplul 1 hiperozida la valoarea Rf = 0,71; spectrele UV corespund.
- pentru exemplul 2 acidul clorogenic la valoarea Rf = 0,71 și, respectiv, izoquercitrozida la valoarea Rf = 0,71; spectrele UV corespund;
- celelalte spoturi corespund între șarje pentru ambele exemple (aceleași valori Rf și spectre UV/VIS) (fig. 1).

Verificarea reproductibilității procesului de obținere prin spectrometrie în IR

Compararea spectrelor IR ale extractelor indică o compoziție chimică similară între cele 3 șarje pentru fiecare extract în parte. Extractele se aseamănă între ele prin prezența unor grupări funcționale comune, dar pot fi diferențiate prin compararea regiunilor de amprentă, caracteristice fiecărui extract în parte și prin urmare identificate prin intermediul spectrelor IR.

În tabelul 1 sunt prezentate atribuirile principalelor benzi din spectrele IR înregistrate pentru cele trei șarje ale extractului PC și PAF:

Tabelul 1

Extract	Exemplul 1						Exemplul 2					
	1		2		3		1		2		3	
Șarja	λ [cm ⁻¹]	%T	λ [cm ⁻¹]	%T	λ [cm ⁻¹]	%T	λ [cm ⁻¹]	%T	λ [cm ⁻¹]	%T	λ [cm ⁻¹]	%T
Lun-gimea de undă/trans-mitanță	3263,0	82,85	3256,2	80,87	3258,1	86,45	3184,9	89,70	3182,9	88,65	3197,4	86,81
	2925,5	85,86	2925,5	83,92	2925,5	88,84	2112,6	97,02	2131,0	95,77	2126,1	96,99
	1604,5	81,97	1604,5	81,00	1604,5	85,27	1602,6	86,66	1601,6	86,80	1598,7	84,60
	1517,7	93,08	1517,7	92,34	1518,7	93,64	1441,5	88,49	1441,5	88,93	1443,5	87,59
	1440,6	87,59	1439,6	86,81	1440,6	89,50	1360,5	87,74	1341,3	88,66	1359,6	85,13
	1364,4	87,85	1362,5	87,01	1364,4	89,95	1204,3	87,86	1208,2	88,42	1203,4	85,38
	1282,4	87,28	1281,5	86,79	1282,4	89,30	1039,4	81,46	1039,4	82,81	1040,4	79,55
	1203,4	88,38	1203,4	87,78	1202,4	90,26	765,6	95,00	765,6	95,29	765,6	95,93
	1048,1	67,87	1048,1	67,81	1048,1	73,32	690,4	93,05	671,1	94,30	652,8	92,19
	821,5	95,25	822,5	96,13	822,5	95,81	605,5	88,85	595,9	91,77	596,9	90,72
	766,6	95,70	768,5	96,67	766,6	95,17	485,0	87,50	510,1	88,14	555,4	91,21
	517,8	78,02	519,7	80,75	519,6	80,75	470,6	87,51	494,7	88,01	494,7	87,06
404,0	80,65	405,0	88,59	404,0	86,99	426,2	92,35	423,3	94,43	418,5	89,00	

RO 130321 B1

1 *Evaluarea toxicității și a proprietăților antioxidante și hipoglicemiante*
2 *Evaluarea toxicității acute*

3 Pentru evaluarea toxicității acute s-a utilizat o colectivitate de șoareci albi, șușa
4 NMRI, masculi, cu greutatea inițială de 24...36 g, proveniți de la biobaza Universității de
5 Medicină și Farmacie "Carol Davila", București.

6 Animalele aduse din crescătorie, au fost lăsate să se obișnuiască cu noul habitat timp
7 de 2 zile, timp în care animalele au avut acces liber la hrană și apă. S-au alcătuit loturi
8 formate din 10 șoareci care au primit, în doză unică, p.o. 1000 mg/kg corp extract descris la
9 exemplul 1 și 1000 mg/kg corp extract descris la exemplul 2.

10 Administrarea extractelor nu a produs modificări timp de 14 zile ale parametrilor
11 urmăriți: letalitate, greutate corporală, comportament motor, aspect exterior - blană și
12 mucozități.

13 Screeningul privind toxicitatea acută pentru extractele din *Fallopia sp.* a arătat că
14 acestea, administrate în doză unică (1000 mg/kg p.o.), nu influențează comportamentul
15 motor și nici aspectul exterior al animalelor tratate. Toxicitatea extractelor este redusă
16 conform scalei Hodge-Sternier de clasificare a substanțelor chimice în funcție de DL50,
17 redusă [Hodge H. C. și Sternier J., 1956].

Evaluarea proprietăților antioxidante

18 Soluțiile de analizat au fost obținute prin dizolvarea în 10 ml etanol 50% a 30 mg
19 extract descris în exemplul 1 și a 24 mg extract descris în exemplul 2. Suspensia lipozomală
20 stoc (în 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DMPC)) se diluează 1:100 în apă
21 distilată și se supune ultrasonării timp de 5 min. Marcarea suspensiei lipozomale se
22 efectuează cu 1 μ l soluție DPPP, urmată de incubare la întuneric timp de 20 min. Se
23 înregistrează spectrul de fluorescență bazal al suspensiei marcate cu DPPP. Se adaugă
24 10 μ l soluție CuOOH 10 mM, 2, 5, 10 μ l soluție extract vegetal pentru a obține soluții de
25 concentrații 4, 10, 20 mM EQ (la un volumul final de probă = 2 ml) și se măsoară, în cinetică,
26 spectrele de emisie ale DPPP-oxidului format (înregistrări din minut în minut timp de 5 min).
27 Măsurătorile se efectuează față de un martor negativ (lipozomi netratați) și pozitiv (tratați cu
28 quercetol). Rezultatele sunt înscrise în tabelul 2 și fig. 2 și dovedesc proprietățile
29 antioxidante ale extractelor.

30 Tabelul 2
31 *Proprietățile antioxidante ale extractelor asupra peroxidării lipozomale*

Nr. crt.	Proba	Concentrație (μ M/mL EQ)	P%					
			60 s	120 s	180 s	240 s	300 s	
32	1.	M	-	50,27	112,65	162,81	203,31	240,67
33	2.	Quercetol	2,5 μ M	31,49	61,46	88,61	113,87	135,24
34			5,0 μ M	18,30	39,21	56,79	70,47	83,45
35	3.	Exemplul 1	4 μ M	9,48	22,75	36,07	49,21	63,15
36			10 μ M	7,66	19,92	32,05	43,81	55,26
37			20 μ M	12,65	12,65	26,56	39,53	51,83
38	4.	Exemplul 2	4 μ M	20,67	42,50	65,36	90,48	110,58
39			10 μ M	18,86	39,15	60,57	82,29	102,62
40			20 μ M	13,23	33,19	51,60	73,28	91,96

RO 130321 B1

<i>Evaluarea proprietăților hipoglicemizante</i>	1
Ca model experimental de diabet zaharat s-a utilizat modelul animal de șobolan cu diabet indus cu aloxan descris în literatură [Schratzberger P și colab., 2001; Sousa S și colab. 2003; Goe RK și colab., 2004]. S-a utilizat o colectivitate de 80 de șobolani albi, masculi, sușa Wistar, cu greutate de 212...346 g. Animalele au fost cazate în cutii de pexiglas și au avut acces liber la apă și hrană. Pe tot parcursul experimentului a fost menținută o temperatură de 21...24°C și umiditatea relativă între 45...60%.	3 5 7
Unui număr de 80 de șobolani i-a fost indus diabetul aloxanic prin administrarea i.p. a unei doze de 130 mg/kg corp. Anterior administrării animalele au fost ținute la post de hrană timp de 24 h. După 48 h a fost determinată glicemia prin puncționarea venelor cozii cu un aparat Accu-Check Activ Roche. Au fost selectate 40 de animale hiperglicemice (glicemie 120...200 mg/dl sânge) sau diabetice (glicemie \geq 200 mg/dl sânge). Au fost alcătuite 5 loturi, fiecare a câte 10 animale, care au fost tratate astfel: lot nr. 1 (M) - șobolani normoglicemici - ser fiziologic 1 ml/100 g corp p.o., lot nr. 2 (H/D) - șobolani hiperglicemici/diabetici - ser fiziologic 1 ml/100 g corp p.o., lot nr. 3 (MET) - șobolani hiperglicemici/diabetici - Metformin 100 mg/kg corp, sol. 1%, p.o., lot nr. 4 (exemplul 2) - șobolani hiperglicemici/diabetici - extract 200 mg/ kg corp, susp 2%, p.o., lot nr. 5 (exemplul 1) - șobolani hiperglicemici/diabetici - extract 200 mg/kg corp, susp 2%, p.o. Administrările s-au făcut o dată pe zi, pe parcursul a 7 zile. Determinarea glicemiei s-a făcut astfel: în ziua doua - la o oră de la administrare, în ziua a patra și a șasea - la 1 h și la 2 h de la administrare.	9 11 13 15 17 19
Compararea acțiunii extractelor sus menționate asupra glicemiei s-a făcut față de un lot martor normoglicemic, un lot martor hiperglicemic/diabetic și față de un lot tratat cu o substanță de referință: Metformin.	21 23
Rezultatele cercetării au fost interpretate statistic prin testele t Student, Mann-Whitney și Wilcoxon.	25
Pentru exemplul 1, se observă un efect hipoglicemiant intens, astfel că în ziua a 4-a reducerea glicemiei este de -54,65, iar în ziua a 6-a de -41,01.	27
Pentru exemplul 2, se înregistrează reduceri semnificative ale glicemiei începând cu ziua a 4-a a experimentului (-38,96%). În ziua a 6-a a determinărilor, reducerea glicemiei este de -35,90%.	29
Comparând glicemiile loturilor tratate cu extractele vegetale cu lotul tratat cu substanța de referință, metformin se observă:	31
- pentru lotul tratat cu extractul descris în exemplul 1 o scădere a glicemiei în ziua 4 (-7,82%) și o creștere în ziua 6 (6,17%);	33
- pentru lotul tratat cu extractul descris în exemplul 2: o creștere a glicemiei în zilele 4 (7,87%) și 6 (11,28).	35
A fost evidențiat un efect hipoglicemiant pentru extractele descrise în cele două exemple la doza de 200 mg/kg p.o.	37
Rezultatele obținute indică utilitatea celor două extracte în terapia adjuvantă a diabetului zaharat de tip II.	39

RO 130321 B1

Tabelul 3

Efectul asupra glicemiei al substanțelor administrate, comparativ cu lotul H/D, hiperglicemic, tratat cu ser fiziologic 1 ml/100 g corp p.o., în zilele 2, 4 și 6

Ziua determinării	Ziua 2				Ziua 4				Ziua 6			
Lot	H/D	MET	Exemplul 2	Exemplul 1	H/D	MET	Exemplul 2	Exemplul 1	H/D	MET	Exemplul 2	Exemplul 1
$\Delta\%$ față de glicemia inițială	18,44	-4,74	18,39	8,07	24,84	-46,83	-38,96	-54,65	-14,42	-47,18	-35,90	-41,01
Efect asupra glicemiei % față de M		-23,18	-0,05	-10,37		-71,67	-63,8	-79,49		-32,76	-21,48	-26,59

Tabelul 4

Efectul asupra glicemiei al substanțelor administrate, comparativ cu lotul MET, tratat cu ser fiziologic 1 ml/100 g corp p.o., în zilele 2, 4 și 6

Ziua determinării	Ziua 2			Ziua 4			Ziua 6		
Lot	MET	Exemplul 2	Exemplul 1	MET	Exemplul 2	Exemplul 1	MET	Exemplul 2	Exemplul 1
A% față de glicemia inițială	-4,74	18,39	8,07	-46,83	-38,96	-54,65	-47,18	-35,90	-41,01
Efect asupra glicemiei % față de M		23,13	12,81		7,87	-7,82		11,28	6,17

RO 130321 B1

Revendicări

	1
1. Extract vegetal obținut din <i>Fallopia convolvulus</i> și standardizat în polifenoli totali, caracterizat prin aceea că acesta cuprinde 20,94...21,88 g% polifenoli totali exprimați în quercetol.	3 5
2. Extract vegetal obținut din <i>Fallopia aubertii</i> și standardizat în polifenoli totali, caracterizat prin aceea că acesta cuprinde 26,50...27,13 g% polifenoli totali exprimați în quercetol.	7
3. Procedeu de obținere și validarea acestuia pentru cele două extracte vegetale definite în revendicările 1 și 2, care cuprinde următoarele etape:	9
- obținerea și caracterizarea materiei prime (produsul vegetal);	11
- extracția principiilor active: extracția la reflux de 1...3 ori a produsului vegetal cu etanol 50% în raport de 1:5 (m/v) timp de 30...60 min.;	13
- după răcire, amestecul se filtrează la presiune normală (filtrare I) și apoi la presiune redusă sub vid (filtrare II);	15
- concentrarea soluțiilor extractive la evaporator rotativ, la temperatură scăzută (50°C);	17
- uscarea extractului prin nebulizarea suspensiei apoase concentrate.	
4. Extracte vegetale obținute conform revendicărilor 1 și 2, pentru utilizare ca adjuvante în terapia diabetului zaharat de tip II.	19

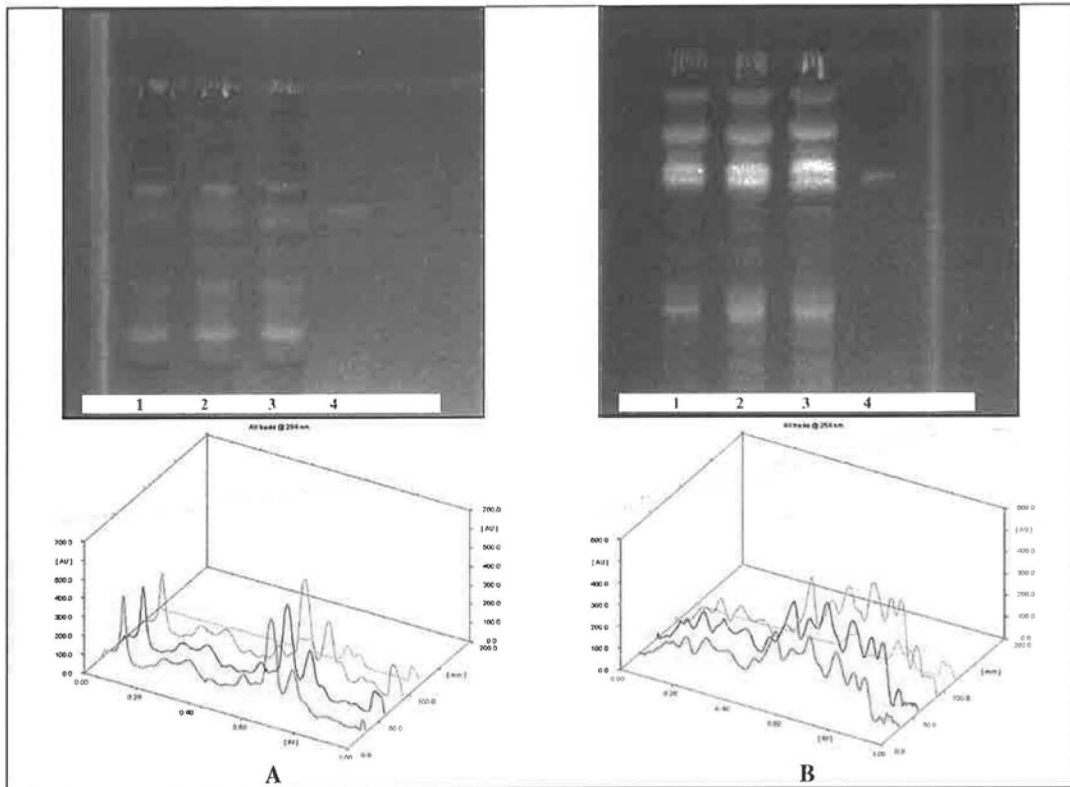


Fig. 1

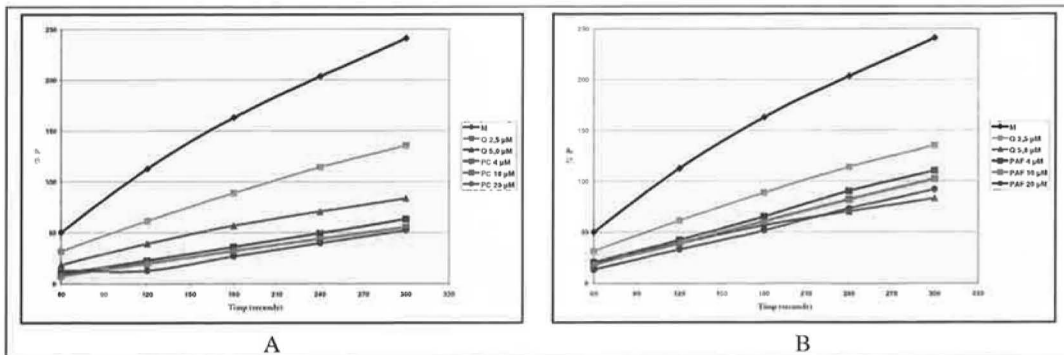


Fig. 2

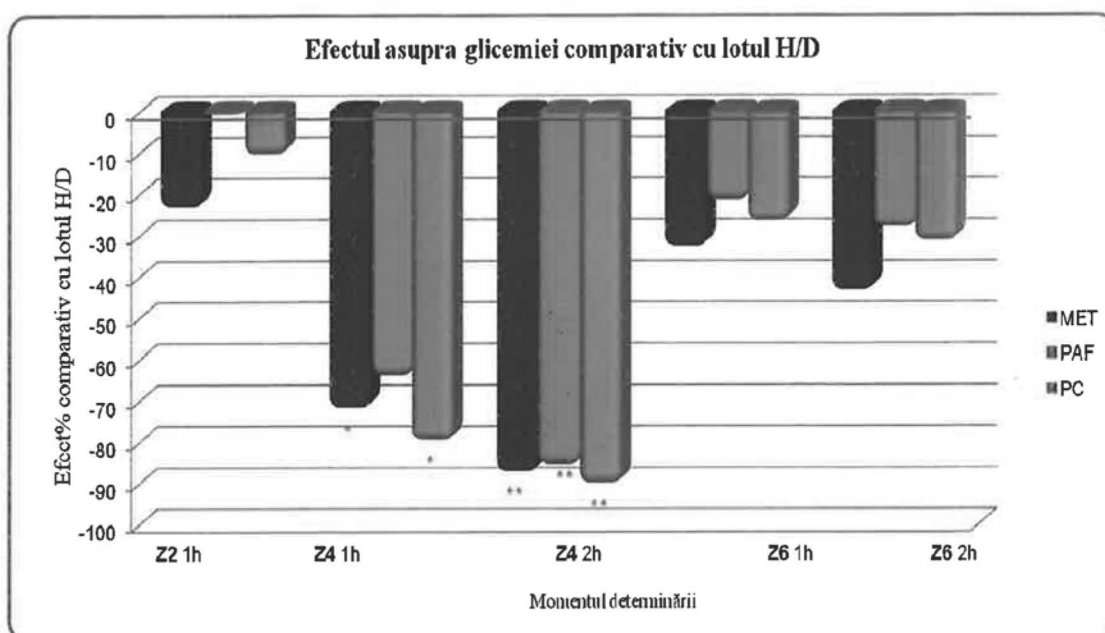


Fig. 3

