

(19)



(10) **LT 5240 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patent numeris: **5240**

(51) Int. Cl. ⁷: **A61K 31/195**
A61K 31/375
A61K 35/78

(21) Paraiškos numeris: **2004 076**

(22) Paraiškos padavimo data: **2004 08 11**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **2005 02 25**

(45) Patent paskelbimo data: **2005 07 25**

(62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: **PCT/EP03/00236**

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: **2003 01 13**

(85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: **2004 08 11**

(30) Prioritetas: **60/348, 143, 2002 01 11, US**

(72) Išradėjas:

Matthias RATH, NL
Shrirang NETKE, CA
Aleksandra NIEDZWIECKI, US

(73) Patent savininkas:

Matthias RATH, Twentepoort Oost 3a, 7609 RG-Almelo, NL

(74) Patentinis patikėtinis:

Jurga PETNIŪNAITĖ, AAA Baltic Service Company, Jasinskio g. 16B, Biurų
centras Victoria, LT-01112 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Polifenolių turinti maistinė farmacinė kompozicija, skirta vėžio gydymui

(57) Referatas:

Pateikta maistinė farmacinė kompozicija, apimanti askorbo rūgštį, L-liziną, L-proliną ir bent vieną polifenolinį junginį, pasirinktą iš grupės, susidedančios iš epigalokatechingalato, epikatechingalato, epigalokatechino, epikatechino ir katechino, skirta panaudoti vėžiui ir kitiems augliams gydyti. Aprašyta maistinė farmacinė kompozicija EPICAN FORTETM®, skirta panaudoti vėžio ir kai kurių uždegiminių ligų prevencijai ir gydymui.□

Išradimo sritis

Šis išradimas yra susijęs su maistine farmacine kompozicija ir jos panaudojimu vėžiui gydyti. Konkrečiau, šis išradimas yra susijęs su polifenolių turinčiomis farmacinėmis kompozicijomis, kuriose yra efektyvus kiekis polifenolių, skirtomis vėžiui gydyti. Šio išradimo kompozicijos yra naudojamos kaip agentas vėžiui gydyti, susidedantis iš askorbo rūgšties, lizino, prolino ir bent vieno polifenolinio junginio, pasirinkto iš grupės, susidedančios iš epigalokatechingalato, epikatechingalato, epigalokatechino, epikatechino ir katechino.

Išradimo kilmė

Pramoniniame pasaulyje vėžys yra viena iš vyraujančių mirties priežasčių. Nėra specifinio ir priežastio vėžio gydymo, ir mirtingumas nuo vėžio yra vienas iš didžiausių lyginant su kitomis ligomis. Plačiausiai naudojami gydymo būdai – chemoterapija ir radioterapija – nedaro skirtumo tarp sveiko audinio ir vėžio, ir yra susiję su sunkiais šalutiniais poveikiais. Taigi, yra reikalingas selektyvus vėžio gydymas.

Vienas iš pagrindinių mechanizmų, kurį naudoja plintančios ir metastazuojančios organizme vėžio ląstelės, apima supančio jungiamojo audinio fermentinę destrukciją. Terapinės strategijos šiam procesui kontroliuoti naudojant specifinius vaistus nebuvo sėkmingos, ir dabartiniu metu nėra priemonių vėžio metastazavimui kontroliuoti. Šiuolaikinės gydymo metodikos, naudojant chemoterapiją ir radioterapiją, koncentruojasi į vėžinių ląstelių suardymą organizme ir nėra nukreiptos į metastazes. Be to, tokie gydymo būdai yra toksiški, nespecifiniai ir susiję su sunkiais šalutiniais poveikiais. Chemoterapija ir radioterapija atneša naujų vėžio židinių susidarymo pavojų ir per jungiamojo audinio destrukciją organizme gali palengvinti vėžio atsiradimą.

Kad išaugtų ir išplistų į kitas organizmo dalis, vėžinės ląstelės skaldo ekstraląstelinę matricą per įvairias matricines metalproteinazes (MMP) ir plazminą,

kurių aktyvumai buvo siejami su auglio augimo agresyvumu. Rath ir Pauling (1992) padarė prielaidą, kad maistinės medžiagos, tokios kaip aminorūgštis, lizinas ir askorbo rūgštis, gali veikti kaip ekstraląstelinės matricos proteolizės gamtiniai inhibitoriai ir kaipo tokie jie gali moduluoti auglio augimą ir plitimą. Šios maistinės medžiagos gali panaudoti savo priešvėžinį potencialą keliais mechanizmais, tarp jų yra MMP inhibavimas ir vėžines ląsteles supančio jungiamojo audinio stiprinimas (auglio „įkapsuliavimo“ efektas).

U.S. Pat. No.5,962,517 aprašoma farmacinė kompozicija įvairioms medicininėms indikacijoms (nuplikimui gydyti). Į aprašytą kompoziciją įeina plikimą mažinantis komponentas, bent jau varnalėšos šaknis, geltonųjų rūgštynių šaknis, arba kompozicija katechino pagrindu ir odos ląsteles kondicionuojantis komponentas, turintis pereinamosios grupės metalo. Neparodyta, kad aprašyta kompozicija yra bent kiek naudinga vėžio gydymui ir/arba prevencijai.

PCT WO 007/76492 aprašoma maistinė kompozicija ligos slopinimui, kurioje yra katechininio junginio. Tačiau buvo parodyta, kad katechininio junginio bioprieinamumas yra mažas (Chen L., Lee M.J., Yang S.C. Drug Metab. Dispos. 25: 1045-1050 (1997); Yang C.S., Chen L., Lee M.J., Balentine D.A., Kuo M.C., Schantz S. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. 7: 351-35 (1998); Bell J.R., Danovan J.L., Wong R., Waterhouse H., German J.B., Walzem R.L., Kasim K. Am. J. Clin. Nutr. 71: 103-108 (2000); Sherry Chow H.H., Cai Y., Alberts D.S., Hakim I., Dorr R., Shahi F., Crowell J.A., Yang S.C., Hara H. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. 10: 53-58 (2001)) ir PCT WO 007/76492 nepavyko surasti priemonių bioprieinamumui padidinti kaip yra reikalaujama vėžio gydyme ir/arba prevencijoje.

Demeule ir kt. aprašo, kad žaliosios arbatos katechinai gali turėti inhibicinį poveikį matricinei metalproteinazei. Bet nėra pasiūlymų arba patarimų kaip naudoti katechinus vėžio gydymui ir/arba prevencijai. Atsižvelgiant į tai, kad polifenolių bioprieinamumas žmonėms yra ypatingai mažas, maža katechinų koncentracija audiniuose labai sumažina polifenolių, įskaitant epigalokatechingalato (EGCD), terapinę vertę. Todėl yra pastovus poreikis surasti geresnę polifenolių turinčią maistinę farmacinę kompoziciją, kuri būtų efektyvesnė neoplazinėms ligoms ir kitoms ligoms, įskaitant uždegimines ligas, gydyti.

Išlieka poreikis saugių ir efektyvių natūralių strategijų, kurios gali būti naudojamos vėžio plitimo organizme procesams kontroliuoti. Taip pat egzistuoja poreikis prevencinės priemonės prieš įvairių vėžio formų arba gerybinių auglių

atsiradimą žmonėms, kad tokios priemonės galėtų būti taikomos pacientams be su gydymu susijusių šalutinių efektų rizikos. Maistinės farmacinės kompozicijos tapo populiarios, kadangi pastaruoju metu padaugėjo vėžio atvejų. Tokių kompozicijų pareikalavimas tęsis ir tikriausiai didės.

Išradimo santrauka

Kaip vienas šio išradimo tikslas, yra pateikiama vėžiui gydyti tinkanti maistinė farmacinė kompozicija, sudaryta iš: a) askorbo junginio; b) L-lizino junginio; c) L-prolino junginio ir d) bent vieno polifenolinio junginio, pasirinkto iš grupės, susidedančios iš epigalokatechingalato, epikatechingalato, epigalokatechino, epikatechino ir katechino. Junginiai a-c) stiprina polifenolinio junginio aktyvumą blokuojant vėžinę proliferaciją ir metastazavimą.

Pageidautina, kad askorbo junginys būtų pasirinktas iš grupės, susidedančios iš askorbo rūgšties, farmaciniu požiūriu priimtinių askorbato druskų, askorbato esterių ir/arba jų mišinių. Pageidautina, kad farmaciniu požiūriu priimtina askorbato druska būtų kalcio askorbatas arba magnio askorbatas. Dar geriau, kad askorbato esteris būtų askorbilpalmitatas. Pageidautina, kad lizino junginys būtų pasirinktas iš grupės, susidedančios iš lizino hidrochlorido ir lizininių farmaciniu požiūriu priimtinių lizino druskų. Pageidautina, kad prolino junginys būtų pasirinktas iš grupės, susidedančios iš prolino hidrochlorido ir prolininių farmaciniu požiūriu priimtinių prolino druskų.

Kaip kitas tikslas, į pateiktą maistinę farmacinę kompoziciją įeina dar ir mikroelementai, pasirinkti iš grupės, susidedančios iš seleno, vario, mangano, kalcio ir magnio.

Kaip kitas tikslas, į pateiktą maistinę farmacinę kompoziciją įeina dar ir aminorūgštis. Geriau, kai aminorūgštis yra argininas. Dar geriau, kai į pateiktą maistinę farmacinę kompoziciją įeina dar ir N-acetilcisteinas.

Kaip kitas tikslas, šiame išradime yra pateikiama vėžiui gydyti tinkanti maistinė farmacinė kompozicija, sudaryta iš: a) askorbo junginio; b) L-lizino junginio; c) L-prolino junginio, d) N-acetilcisteino ir e) bent vieno polifenolinio junginio, pasirinkto iš grupės, susidedančios iš epigalokatechingalato, epikatechingalato, epigalokatechino, epikatechino ir katechino. Junginiai a-d) stiprina polifenolinio junginio aktyvumą blokuojant vėžinę proliferaciją ir metastazavimą.

Kaip kitas tikslas, šiame išradime yra pateikiama maistinė farmacinė kompozicija, susidedanti iš 250 mg askorbo rūgšties, 250 mg kalcio askorbato, 250 mg magnio askorbato, 250 mg askorbilpalmitato, 1000 mg polifenolių, 200 mg L-acetilcisteino, 1000 mg lizino, 750 mg prolino, 500 mg arginino, 30 mcg seleno, 2 mg vario ir 1 mg mangano.

Kaip kitas tikslas, šiame išradime yra pateikiama maistinė farmacinė kompozicija, susidedanti iš 25 mg askorbo rūgšties, 25 mg kalcio askorbato, 25 mg magnio askorbato, 25 mg askorbilpalmitato, 200 mg polifenolių, 10 mg L-acetilcisteino, 50 mg lizino, 25 mg prolino, 50 mg arginino, 1 mcg seleno, 20 mcg vario ir 50 mcg mangano.

Kaip kitas tikslas, šiame išradime yra pateikiama maistinė farmacinė kompozicija, susidedanti iš 5000 mg askorbo rūgšties, 5000 mg kalcio askorbato, 5000 mg magnio askorbato, 5000 mg askorbilpalmitato, 5000 mg polifenolių, 1500 mg L-acetilcisteino, 5000 mg lizino, 3000 mg prolino, 3000 mg arginino, 200 mcg seleno, 9 mg vario ir 10 mg mangano.

Kaip kitas tikslas, šiame išradime yra pateikiama maistinė farmacinė kompozicija, susidedanti iš 250 mg askorbo rūgšties, 250 mg kalcio askorbato, 250 mg magnio askorbato, 250 mg askorbilpalmitato, 1000 mg polifenolių, 200 mg L-acetilcisteino, 1000 mg lizino, 750 mg prolino, 500 mg arginino, 100 mcg seleno, 2 mg vario, 1 mg mangano, 500 mg kalcio ir 400 mg magnio.

Kaip kitas tikslas, šiame išradime yra pateikiama maistinė farmacinė kompozicija, susidedanti iš 250 mg askorbo rūgšties, 250 mg kalcio askorbato, 250 mg magnio askorbato, 250 mg askorbilpalmitato, 1000 mg polifenolių, 200 mg L-acetilcisteino, 1000 mg lizino, 750 mg prolino, 500 mg arginino, 100 mcg seleno, 2 mg vario, 1 mg mangano, 500 mg kalcio, 400 mg magnio ir 200 citrusinių bioflavonoidų.

Kaip dar kitas tikslas, šiame išradime yra pateikiama vėžiui gydyti tinkanti maistinė farmacinė kompozicija, susidedanti iš L-lizino, L-prolino, L-arginino, askorbo rūgšties, kalcio, magnio, polifenolių, N-acetilcisteino, seleno, vario ir mangano.

Kaip kitas tikslas, šiame išradime yra pateikiama maistinė farmacinė kompozicija, susidedanti iš 1000 mg L-lizino, 750 mg L-prolino, 500 mg L-arginino, 710 mg askorbo rūgšties, 22 mg kalcio, 50 mg magnio, 1000 mg polifenolių, 200 mg N-acetilcisteino, 30 mcg seleno, 2 mg vario ir 1 mg mangano.

Kaip kitas tikslas, šiame išradime yra pateikiamas individo vėžio gydymo būdas, apimantis aprašytos maistinės farmacinės kompozicijos skyrimo tokiam individui stadiją. Pageidautina vėžį pasirinkti iš grupės, susidedančios iš melanomos, krūties vėžio, storosios žarnos vėžio, plaučių vėžio ir smegenų vėžio.

Kaip kitas tikslas, šiame išradime yra pateikiamas individo uždegiminės ligos gydymo būdas, apimantis aprašytos maistinės farmacinės kompozicijos skyrimo tokiam individui stadiją. Pageidautina, kad uždegiminė liga būtų osteoartritas.

Trumpas brėžinių aprašymas

Fig.1 pavaizduota polifenolių, askorbato, prolino ir lizino inhibiciniai poveikiai į žmogaus krūties vėžinių ląstelių migracijos elgseną.

Fig.2 pavaizduota polifenolių, askorbato, prolino ir lizino inhibiciniai poveikiai į žmogaus storosios žarnos vėžio ląstelių migracijos elgseną.

Fig.3 pavaizduota polifenolių, askorbato, prolino ir lizino inhibiciniai poveikiai į žmogaus melanomos ląstelių migracijos elgseną.

Fig.4 pavaizduota polifenolių, askorbato, prolino ir lizino inhibiciniai poveikiai į žmogaus melanomos ląstelių apoptozę.

Fig.5 pavaizduota askorbo rūgšties, prolino, lizino ir įvairių EGCG kiekių inhibiciniai poveikiai į žmogaus melanomos ląstelių (A 2058) proliferaciją.

Fig.6 pavaizduota EGCG inhibiciniai poveikiai į žmogaus krūties vėžio ląstelių (MDA-MB 231) proliferaciją.

Fig.7 pavaizduota pagrindinės terpės papildymo askorbo rūgštimi, prolinu, lizinu ir įvairiais EGCG kiekiais poveikiai į žmogaus krūties vėžio ląstelių (MDA-MB-231) proliferaciją.

Fig.8 pavaizduota pagrindinės terpės papildymo askorbo rūgštimi, prolinu, lizinu ir įvairiais EGCG kiekiais poveikiai į žmogaus storosios žarnos vėžio ląstelių (HCT 116) proliferaciją.

Fig.9 pavaizduota pagrindinės terpės papildymo askorbo rūgštimi, prolinu, lizinu ir įvairiais EGCG kiekiais poveikiai į matricinių metalproteinazių (MMP) ekspresiją žmogaus melanomos ląstelėse.

Fig.10 pavaizduota pagrindinės terpės papildymo askorbo rūgštimi, prolinu, lizinu ir įvairiais EGCG kiekiais poveikiai į žmogaus krūties vėžio ląstelių (MDA-MB-231) skverbimąsi per matrigelį.

Fig.11 pavaizduota pagrindinės terpės papildymo askorbo rūgštimi, prolinu, lizinu ir įvairiais EGCG kiekiais poveikiai į žmogaus storosios žarnos vėžio ląstelių (HCT 116) skverbimąsi per matrigelį

Fig.12 pavaizduota pagrindinės terpės papildymo askorbo rūgštimi, prolinu, lizinu ir įvairiais EGCG kiekiais poveikiai į įsiskverbiančių ląstelių skaičiaus mažinimą bandyme su žmogaus melanomos ląstelėmis (A 2058).

Smulkus išradimo aprašymas

Čia naudojamas terminas "lizinas" yra naudojamas pakeistinais su L-lizinu, "prolinas" yra naudojamas pakeistinais su L-prolinu, "argininas" yra naudojamas pakeistinais su "L-argininu", "vitaminas C" yra naudojamas pakeistinais su askorbo rūgštimi ir gali apimti askorbato druskas arba askorbato esterius. "MMP" reiškia matricines metalproteinazes, pvz., MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11 ir t.t. "EGCG" reiškia (-)-epigalokatechin-3-galatą, kuris yra pagrindinė polifenolinė sudedamoji dalis, esanti žaliojoje arbatoje. "NHDF" reiškia normalų žmogaus dermalinį fibroblastą, įskaitant žmogaus chondocitus ir žmogaus stromines ląsteles.

Šiame išradime yra pateikiama maistinė farmacinė kompozicija iš askorbo rūgšties, lizino, prolino ir bent vieno polifenolinio junginio. Pageidautina, kad askorbato junginys būtų pasirinktas iš grupės, susidedančios iš askorbo rūgšties, askorbato druskų ir askorbato esterių. Pageidautina, kad lizinas būtų lizino hidrochloridas arba farmaciniu požiūriu priimtinos lizino druskos. Pageidautina, kad prolinas būtų prolino hidrochloridas arba farmaciniu požiūriu priimtinos prolino druskos.

Polifenoliniai junginiai yra žaliosios arbatos ekstraktai. Jie taip pat yra žinomi kaip katechinai. Polifenolių yra žaliojoje arbatoje ir jie buvo pasiūlyti apsaugai nuo įvairių ligų, įskaitant vėžį (Mukhtar H., Ahmed N. Am. J. Clin. Nutr. 71: 1698S-1702S (2000)). Peroralinis žaliosios arbatos įvedimas sustiprino doksorubicino auglių inhibuojantį poveikį bandymuose su pelėmis.

Potencialus priešvėžinis katechinų aktyvumas gali būti susijęs su jų poveikiu į keletą faktorių, dalyvaujančių vėžinių ląstelių proliferacijoje ir metastazavime. Yra žinoma, kad katechinai sustabdo ląstelių ciklą žmogaus karcinomos ląstelių atveju (Ahmad N., Feyes D.K., Nieminen A.L., Agarwal R., Munhtar H. J. Natl. Cancer Inst. 89:

1881-1886 (1997)). Parodyta, kad žaliosios arbatos polifenolinė frakcija apsaugo nuo uždegimo ir auglių sukeltų citokinų.

Žaliojoje arbatoje polifenoliniai junginiai sudaro 30 % sausos masės. Jie apima flavanolių, flavandiolius, flavonoidus ir fenolio rūgštis. Iš polifenolių žaliojoje arbatoje didžiausią kiekį sudaro flavanoliai, ir jie paprastai yra žinomi kaip katechinai. Žaliojoje arbatoje yra keturi pagrindiniai katechinai: 1) (-)-epikatechinas, 2) (-)-epikatechin-3-galatas, 3) (-)-epigalokatechinas ir 4) (-)-epigalokatechin-3-galatas (EGCG). Iš katechinų žaliojoje arbatoje pagrindinė polifenolinė sudedamoji dalis yra EGCG. EGCG yra veiksmingas antioksidantinis junginys ir jam gali būti priskiriamas žaliosios arbatos priešvėžinis aktyvumas. Aprašyta, kad katechininiai junginiai turi antimetastazinį aktyvumą dėl to, kad jie sulauko angiogenezės procesą (Cao Y., Cao R. *Nature* 398:381 (1999)). Taip pat buvo parodyta, kad EGCG trukdo pasireikšti urokinazės (u-plazminogeno aktyvatoriaus) – vieno iš dažniausiai žmogaus vėžinėse ląstelėse ekspresuojamų fermentų - aktyvumui (Jankun J., Selman S.H., Swiercz R., Skrzypczak J.E. *Nature* 387:567 (1997)). EGCG yra tinkamiausias polifenolinis junginys.

Pageidautina, kad polifenolinis junginys būtų pasirinktas iš grupės, susidedančios iš epigalokatechingalato, epikatechingalato, epigalokatechino, epikatechino, katechino ir kitų farmaciniu požiūriu priimtinių polifenolio druskų ir/arba jų mišinių.

Vienas iš pagrindinių šios patentinės paraiškos terapinių tikslų yra apsauga nuo ekstraląstelinės matricos skaldymo ir šios matricos atstatymas. Askorbo rūgštis arba jos druska (t.y. askorbatas) yra reikalinga kolageno, elastino ir kitų pagrindinių ekstraląstelinės matricos molekulių sintezei.

Pageidautina naudoti askorbo rūgšties, prolino ir lizino darinį polifenolinių junginių priešvėžiniam aktyvumui sustiprinti. Dar geriau, kad šis darinys sustiprintų polifenolinių junginių, įskaitant epigalokatechingalata, epikatechingalata, epigalokatechina, epikatechina, katechina, tokiu būdu, kad polifenolinis junginys veiksmingai mažintų vėžinių ląstelių įsiskverbimą arba pilnai blokuotų tokį įsiskverbimą.

Nesiejant su kokia nors teorija, ši maistinė farmacinė kompozicija turi ingredientų mišinį, į kurį įeina polifenoliai, ir yra rasta, kad šis mišinys efektyviai blokuoja proliferacijos ir metastazavimo procesus. Mes radome, kad ši maistinė kompozicija žymiai sumažina vėžinių ląstelių įsiskverbimą arba visiškai blokuoja

vėžinių ląstelių metastazavimą. Taigi, ši kompozicija efektyviai apsaugo nuo tokių vėžinių ląstelių plitimo. Terapinis patentuojamo junginio panaudojimas yra veiksmingas, selektyvus ir saugus krūties, storosios žarnos ir kitų organų vėžio gydymas. Geriau, kai aprašytoje maistinėje farmacinėje kompozicijoje yra du iš šių komponentų, kurie yra kovalentiškai sujungti.

Geriau, kai šios maistinės kompozicijos efektyvumas yra sustiprinamas pridėdant junginių, kurie yra žinomi kaip naudingai veikiantys vėžio ir kitų auglių augimą ir atsiradimą, įskaitant L-argininą ir/arba arginino turinčius junginius. Dar geriau naudoti N-acetilcisteiną. Dar geriau, kai yra naudojama seleno druska, vario druska ir mangano druska, kurios efektyviai trukdo atsirasti ir gydo vėžį ir kitus auglius. Į šią kompoziciją taip pat gali įeiti vienas arba daugiau junginių, reikalingų kaip kofermentas Krebso cikle, kvėpavimo grandinėje arba kitoms ląstelių metabolinėms funkcijoms, imant efektyvius kiekius, kurie gydo vėžį ir kitus auglius arba apsaugo nuo jų.

Ši maistinė farmacinė kompozicija gali būti įvedama pacientui kapsulių, tablečių, miltelių, piliulių, injekcijų, infuzijų, inhaliacijų, žvakučių forma arba kitais farmaciniu požiūriu priimtinais nešikliais ir/arba įvedimo priemonėmis vėžio ir kitų auglių prevencijai ir gydymui. Geriau, kai maistinė farmacinė kompozicija yra įvedama kapsulių, tablečių arba miltelių pavidalu. Dar geriau ją vartoti kapsulių pavidalu.

Ši maistinė farmacinė kompozicija gali būti naudojama vėžio ir kitų auglių prevencijai ir gydymui pasirinktam pacientui, kur vėžys arba auglys yra lokalizuotas krūtyje, kiaušidėse, kaklelyje arba kituose moters reprodukcinės sistemos organuose, plaučiuose, kepenyse, odoje, virškinimo trakte, smegenyse, kauluose arba kituose kūno organuose. Geriau šią kompoziciją naudoti plaučių vėžio ir smegenų vėžio atvejais.

Ši maistinė farmacinė kompozicija taip pat gali būti naudojama infekcinių ligų, aterosklerozės, restenozės, kitų širdies ir kraujagyslių ligų ir uždegiminių ligų profilaktikai ir gydymui. Geriau, kai uždegiminė liga yra osteoartritas.

MMP tarpininkaujama plazmino aktyvacija. Manoma, kad MMP aktyvumą gali veikti lizinas per plazmino tarpininkaujamus mechanizmus, nors taip pat nėra negalimi ir kiti mechanizmai. MMP yra išskiriamos kaip profermentai ir jų aktyvacijoje dalinai tarpininkauja plazminas, o užbaigimui yra reikalinga aktyvi MMP-3 forma. Įvairių

MMP aktyvacijos mechanizmas, kurį detalizavo Nagase (1997), rodo, kad MMP-3 taip pat reikalauja plazminogeno virsmo į jo aktyvią formą – plazminą. Plazminogeno aktyvus surišimo centras turi vietas, kuriose yra specifiskai prijungtas lizinas. Todėl lizinas gali trukdyti plazminogeno aktyvatoriui aktyvuoti plazminogeną į plazminą (Rath and Pauling, 1992) prisijungdamas prie plazminogeno aktyviųjų vietų. Pagal šį mechanizmą transegzamo rūgštis – sintetinis lizino analogas – buvo naudojamas plazmino sukeliama proteolizei inhibuoti.

Kadangi plazmino aktyvumas yra esminės svarbos keletui audinių MMP indukuoti, lizinas gali trukdyti plazminogeno virsmui į plazminą ir tokiu būdu jis gali inhibuoti beveik visų MMP aktyvaciją. Be to, EGCG gali turėti inhibicinį poveikį į ekstraląstelinės matricos degradaciją per MMP-2 inhibavimą.

Vėžio atsiradimas ir matricos vaidmuo. Vėžinių ląstelių matricos įsiterpimą taip pat galima veikti didinant vėžinės ląstelės supančio jungiamojo audinio stabilumą ir stiprumą ir darant įnašą į auglio "inkapsulavimą". Tam tikslui reikia optimizuoti kolageno pluoštelių sintezę ir struktūrą, kuriai esminę reikšmę turi kolageno pluoštelių hidroksiprolino ir hidroksilizino liekanų hidroksilinimas. Šių aminorūgščių hidroksilinimui gali būti labai svarbi askorbo rūgštis. Paprastai žmogaus organizme askorbo rūgštis ir L-lizinas nėra produkuojamos; todėl gali būti šių maistinių medžiagų suboptimalūs kiekiai įvairiose patologinėse būklėse bei esant netinkamoms dietoms. Nors prolinas gali būti sintezuojamas iš arginino, patologinės būklės gali veikti jo sintezę ir/arba hidroksilinimą. Buvo parodyta, kad hidroksiprolino kiekis metastazinio auglio audinyje yra žymiai mažesnis nei nemetastazinio auglio audinyje (Chubainskaia et al., 1989). Įvairūs vaistai, kurie mažina metastazavimą, taip pat didina hidroksiprolino kiekį audiniuose (Chubainskaia et al., 1989). Buvo rasta, kad vėžinių pacientų hidroksiprolino kiekis šlapime yra didesnis nei sveikų asmenų arba nevėžinių pacientų (Okazaki et al., 1992). Visi šie duomenys rodo apie atvirkštinius vėžinių ląstelių poveikius į prolino metabolizmą ir galimą sąlyginį prolino trūkumą vėžinių pacientų atveju.

Vėžiniai pacientai gali turėti nepakankamus kiekius askorbo rūgšties. Askorbo rūgštis gali būti citotoksinė vėžinių ląstelių linijoms ir turėti antimetastazinį poveikį. Šiame išradime nustatyta, kad askorbo rūgšties, prolino, lizino ir bent vieno polifenolinio junginio derinys turi veiksmingą antiproliferacinį ir antimetastazinį poveikį į vėžinių ląstelių linijas. Tinkamesniu atveju, ši maistinė farmacinė kompozicija yra

veiksminga prieš melanomos, krūties vėžio ir storosios žarnos vėžio ląsteles. Geriausiu atveju, ši maistinė farmacinė kompozicija yra veiksminga prieš žmogaus storosios žarnos vėžio ląsteles.

Polifenoliniai junginiai (katechinai). EGCG atstovauja vieną iš katechinų, esančių žaliosios arbatos ekstrakto ir gali turėti augimo inhibavimo poveikį prieš žmogaus vėžines ląsteles. Tikslus šio poveikio mechanizmas yra nežinomas. Šiame išradime aprašoma stebėtinai maistinės farmacinės kompozicijos, susidedančios iš askorbo rūgšties, prolino ir lizino ir bent vieno polifenolinio junginio, sinergizmas veiksmingai blokuojant vėžinių ląstelių proliferaciją ir metastazavimą.

Šio išradimo maistinė farmacinė kompozicija veiksmingai blokuoja krūties, storosios žarnos, odos vėžio (melanomos) ir kitų vėžio formų atsiradimą. Šioje maistinėje kompozicijoje esantys ingredientai yra gamtiniai junginiai ir yra parodyta, kad kai jie yra naudojami paraiškoje nurodytų apibrėžtų reikšmių intervale, jie neturi toksiškų šalutinių poveikių. Taigi, ši kompozicija taip pat gali būti naudojama profilaktiškai, t.y. efektyviam organizmo apsaugojimui nuo vėžio ir kitų auglių.

Kadangi virusinės ląstelės ir kiti įsiskverbiantys mikroorganizmai naudoja panašias į vėžinių ląstelių proteazes infekcijos išplitimui organizme, šiame patente pateikta kompozicija gali būti naudojama efektyviai virusinių ligų ir kitų infekcinių ligų prevencijai ir gydymui.

Panašus matricinių metalproteinazių aktyvavimo mechanizmas, kokį naudoja vėžinės ląstelės įsiskverbimui į matricą, taip pat duoda įnašą į aterosklerozinių plokštelių destabilizaciją, vedančią į miokardo infarktą ir paralyžių. Taigi, šiame patente pateikta kompozicija gali būti naudojama efektyviai ligų, tokių kaip aterosklerozė, restenozė ir kitos širdies ir kraujagyslių ligos, prevencijai ir gydymui.

Matricinių metalproteinazių aktyvavimas, kurį vėžinės ląstelės naudoja įsiskverbimui į matricą, yra pagrindinis įvairių uždegiminių būklių komponentas. Taigi, šiame patente pateikta kompozicija gali būti naudojama efektyviai ligų, tokių kaip reumatinis artritas, emfizema, alergijos, osteoartritas ir kitos su uždegiminiais aspektais susijusios būklės, prevencijai ir gydymui.

Šio išradimo maistinė farmacinė kompozicija gali būti pateikta pacientui tablečių, piliulių, injekcijų, infuzijų, inhaliacijų, žvakučių formoje arba kitais farmaciniu požiūriu priimtinais nešikliais ir/arba įvedimo priemonėmis.

Pavyzdžiai

Askorbo rūgštis, lizino, prolino ir bent vieno polifenolinio junginio poveikiai buvo tirti nustatant jų antiproliferacinį ir antiinvazinį potencialą bandymuose su įvairiomis žmogaus vėžinių ląstelių linijomis. Konkrečiau, buvo tirtas vienas iš žaliosios arbatos ekstrakto ingredientų (t.y. epigalokatechingalatas (EGCG)).

Medžiagos ir metodai

Žmogaus krūties vėžinės ląstelės MDA-MB-231, žmogaus storosios žarnos vėžinės ląstelės HCT 116, žmogaus melanomos ląstelių linija A2058 buvo gautos iš ATCC. Normalūs žmogaus dermaliniai fibroblastai buvo gauti iš GICBO. Jei nenurodyta, buvo naudota iš ATCC gauta auginimo terpė.

Vėžinių ląstelių proliferacijos tyrimuose kiekvienas eksperimentas buvo pakartotas aštuonis kartus. Įsiterpimo tyrimuose kiekvienas eksperimentas buvo pakartotas 3-4 kartus.

Ląstelių proliferacijos tyrimai

Šiuose tyrimuose 5×10^4 krūties vėžinių ląstelių buvo auginama Liebovitz'o terpėje su 10 % fetalinio jaučio serumo (FBS) 24 duobučių plokštelėse. Terpė buvo naudojama kaip tokia (pagrindinė) arba su nurodytais papildais. Plokštelės buvo inkubuojamos inkubatoriuje su oro cirkuliacija (be papildymo CO_2) 4 dienas. Storosios žarnos vėžio ląstelės HCT 116 buvo auginamos McCoy 5A terpėje ir laikomos inkubatoriuje su 5 % CO_2 -oro cirkuliacija. Inkubacijos laikotarpio pabaigoje terpė buvo pašalinama, duobutėse esančios ląstelės plaunamos PBS, po to inkubuojamos 3 val. su MTT dažais. Į kiekvieną duobutę pridedama dimetilsulfoksido (DMSO, 1 ml). Plokštelės su DMSO paliekamos stovėti kambario temperatūroje 15 minučių atsargiai maišant, po to matuojamas kiekvienoje duobutėje esančio tirpalo OD esant 550 nm bangos ilgiui. Laikoma, kad duobutėje esančio tirpalo OD₅₅₀ yra tiesiogiai proporcingas ląstelių skaičiui. Eksperimento, kuriame nebuvo jokio papildomo (pagrindinė terpė), OD₅₅₀ priimamas už 100 %.

Įsiterpimo į matrigelį tyrimai

Šie tyrimai buvo atlikti naudojant Matrigel (Beckton Dickinson) įdėklus tam tikslui pritaikytose 24 duobučių plokštelėse. Buvo pasėtos fibroblastų ląstelės ir auginamos plokštelės duobutėse naudojant DMEM. Kai fibroblastai pasiekė susiliejiimo fazę, auginimo terpė buvo pašalinta ir pakeista 750 μ l bandymo terpės. Ant duobutėje esančių įdėklų buvo pasėtos vėžinės ląstelės (5×10^4), suspenduotos 250 ml terpės, papildytos maistinėmis medžiagomis, kaip nurodyta eksperimento plane. Taigi ir terpė ant įdėklo, ir terpė duobutėje turėjo tuos pačius papildus. Tada plokštelės su įdėklais buvo inkubuojamos (inkubatoriuje su oro cirkuliacija MDA-MB-231 ląstelių atveju ir inkubatoriuje su 5 % CO₂ storosios žarnos vėžio ir melamomos ląstelių atveju) 18-20 valandų. Po inkubavimo terpė iš duobučių buvo pašalinta. Ląstelės nuo viršutinio įdėklų paviršiaus buvo atsargiai nubrauktos medvilniniu tamponu. Ląstelės, kurios įsiskverbė į matrigelio membraną ir nukeliavo į apatinį matrigelio paviršių buvo nuspalvintos hemakoloro dažais (EM Sciences) ir vizualiai suskaičiuotos po mikroskopu. Rezultatai buvo apdoroti pagal ANOVA ir buvo nustatomas visų galimų porų patikimumo rodiklis kai $p < 0,05$.

Terpė įvairiuose tyrimuose buvo papildyta askorbo rūgštimi, prolinu, lizinu ir nurodytų koncentracijų EGCG.

Želatinazinė zimografija

Želatinazinė zimografija buvo vykdoma 10 % Novex prieš tai imobilizuotame poliakrilamidiniame gelyje (Invitrogen). Auginimo terpė (20 μ l) buvo užpilta ant gelio ir SDS-PAGE vykdoma naudojant tris-glicino SDS buferį. Po elektroforezės geliai buvo plaunami 5 % Triton X-100 30 minučių ir nudažomi. Lygiagrečiai buvo leidžiami baltymų standartai ir nustatomos apytikrės molekulinės masės.

1 pavyzdys

MDA-MB-231 (ATCC) krūties vėžio ląstelės buvo pasėtos ant matrigelio įdėklo pagerinto skverbimosi per matrigelį kameroje (BD). Į duobutę buvo pridėta kondicionuotos terpės iš normalių žmogaus dermalinių fibroblastų (Clonetics), papildytos įvairiais agentais (kaip nurodyta fig.1). Kamera buvo inkubuojama 24 valandas ir suskaičiuotos ląstelės, kurios įsiskverbė į matrigelį ir nukeliavo į

membranos apatinį sluoksnį. Šie duomenys rodo epigalokatechingalato ir askorbo rūgšties, prolino ir lizino derinio inhibicinį poveikį į žmogaus krūties vėžinių ląstelių MDA-MB-231 skverbimąsi per matrigelį ir migraciją.

2 pavyzdys

HCT 116 (ATCC) žmogaus storosios žarnos vėžio ląstelės buvo pasėtos ant matrigelio įdėklo pagerinto skverbimosi per matrigelį kameroje (BD). Į duobutę buvo pridėta kondicionuotos terpės iš normalių žmogaus dermalinių fibroblastų (Clonetics), papildytos įvairiais agentais (kaip nurodyta fig.2). Kamera buvo inkubuojama 24 valandas ir suskaičiuotos ląstelės, kurios įsiskverbė į matrigelį ir nukeliavo į membranų apatinį sluoksnį. Šie duomenys rodo epigalokatechingalato ir askorbo rūgšties, prolino ir lizino derinio inhibicinį poveikį į žmogaus storosios žarnos vėžinių ląstelių HCT116 skverbimąsi per matrigelį ir migraciją.

3 pavyzdys

A2058 (ATCC) žmogaus melanomos ląstelės buvo pasėtos ant matrigelio įdėklo pagerinto skverbimosi per matrigelį kameroje (BD). Į duobutę buvo pridėta kondicionuotos terpės iš normalių žmogaus dermalinių fibroblastų (Clonetics), papildytos įvairiais agentais. Kamera buvo inkubuojama 24 valandas ir suskaičiuotos ląstelės, kurios įsiskverbė į matrigelį ir nukeliavo į membranų apatinį sluoksnį. Šie duomenys rodo epigalokatechingalato ir askorbo rūgšties, prolino ir lizino derinio inhibicinį poveikį į žmogaus melanomos ląstelių A2058 skverbimąsi per matrigelį ir migraciją.

4 pavyzdys

Šiame eksperimente A2058 (ATCC) žmogaus melanomos ląstelės buvo pasėtos ant matrigelio įdėklo pagerinto skverbimosi per matrigelį kameroje (BD), esant:

A: kondicionuotos terpės iš normalių žmogaus dermalinių fibroblastų (Clonetics) ir

B: tos pačios terpės, papildytos įvairiomis maistinėmis medžiagomis, kaip nurodyta fig.4 aprašyme. Po 24 valandų inkubavimo, ląstelės, kurios įsiskverbė į matrigelio membraną ir nukeliavo į apatinį membranos paviršių buvo ištirtos po mikroskopu ir suskaičiuotos.

Šie duomenys rodo epigalokatechingalato ir askorbo rūgšties + prolino + lizino derinio apoptozinį poveikį į A2058. A: žmogaus melanomos ląstelės audinio auginimo terpėje. B: žmogaus melanomos ląstelės audinio auginimo terpėje, turinčioje askorbo rūgšties (100 μ M), prolino (140 μ M), lizino (400 μ M) ir EGCG (20 μ g/ml). Pastaba: visos ląstelės buvo suardytos.

5 pavyzdys

Vėžinių ląstelių proliferacijos tyrimas

Melanomos A2058 ląstelės

Fig.4 parodytas 10, 20 ir 50 μ g/ml EGCG be ir su lizino, prolino ir askorbo rūgšties priedais poveikis į melanomos ląstelių proliferaciją. Nei lizinas, prolinas ir askorbo rūgštis, nei 10 ir 20 μ g/ml koncentracijos EGCG neturi pastebimo poveikio į ląstelių proliferaciją. Tačiau EGCG, esant 50 μ g/ml koncentracijai, žymiai sumažino ląstelių skaičių iki 30 %. Panašus efektas buvo stebimas su lizinu, prolinu ir askorbo rūgštimi.

Krūties vėžio MDA-MB-231 ląstelės

Šiuose eksperimentuose į pagrindinę terpę buvo pridėta 0, 10, 20, 50, 100 arba 200 μ g/ml EGCG (fig.6). Rezultatai parodė, kad pridėjimas į pagrindinę terpę 50, 100 arba 200 μ g/ml EGCG žymiai sumažino ląstelių skaičių iki atitinkamai $66,1 \pm 5,3$, $33,6 \pm 2$ ir $29,6 \pm 0,8$ %, lyginant su papildoma neturinčia kontrole. EGCG koncentracija ląstelinėje terpėje iki 20 μ g/ml neturėjo žymaus inhibicinio poveikio į ląstelių proliferaciją.

Mes taip pat tyrėme askorbo rūgšties, lizino, prolino ir įvairių EGCG koncentracijų poveikį į vėžinių ląstelių proliferaciją. Fig.7 rodo nežymiai sumažintą ląstelių skaičių iki $86,1 \pm 1,93$ % su askorbo rūgštimi, lizinu ir prolinu. Tolimesnis 20,

50 ir 100 μg EGCG pridėjimas į šį derinį žymiai sumažino ląstelių skaičių iki atitinkamai $74 \pm 5,8$, $64,8 \pm 1,6$ ir 22 ± 5 %, lyginant su kontroline grupe.

Storosios žarnos vėžio HCT116 ląstelės

Nors askorbo rūgšties, prolino ir lizino inhibicinis poveikis į storosios žarnos vėžio ląstelių proliferaciją nebuvo išreikštas, askorbo rūgšties, prolino ir lizino derinys su 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ EGCG žymiai sumažino ląstelių skaičių iki $69 \pm 0,5$ % (fig.8). Didesnis EGCG kiekis (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) šiame derinyje drastiškai sumažino ląstelių skaičių iki $4,6 \pm 0,3$ %.

Šiuose tyrimuose naudoto maistinio derinio antiproliferacinis aktyvumas keitėsi priklausomai nuo vėžinių ląstelių tipo. Krūties vėžio ląstelių atveju askorbo rūgšties, prolino ir lizino derinys su EGCG turėjo didesnę antiproliferacinę poveikį nei tada, kai šios maistinės medžiagos buvo naudojamos atskirai. Melanomos ir storosios žarnos vėžio atveju ląstelių paveikimas askorbo rūgšties, prolino ir lizino deriniu neturėjo įtakos jų proliferacijai. Tačiau sumaišius šias maistines medžiagas su 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ EGCG gautas žymus storosios žarnos vėžio, bet ne melanomos, ląstelių skaičiaus sumažėjimas. Pasirodė, kad storosios žarnos vėžio ląstelės yra jautresnės nei krūties vėžio ląstelės, o melanomos ląstelės yra mažiausiai jautrios askorbo rūgšties, prolino, lizino ir EGCG deriniui. Storosios žarnos vėžio ląstelių proliferacija buvo beveik pilnai sumažinta (4,6 %), kai buvo duodama askorbo rūgštis, prolino ir lizinas su 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ EGCG.

6 pavyzdys

Želatinazinės zimografijos tyrimai

EGCG poveikis bandyme su melanomos ląstelėmis pagrindinėje terpėje ir terpėje su askorbo rūgšties, prolino ir lizino papildais į MMP ekspresiją pavaizduotas fig.9 panaudojant želatinazinę zimografiją. Melanomos ląstelės davė dvi juostas, atitinkančias MMP-2 ir MMP-9. Askorbo rūgšties, prolino ir lizino derinys neturėjo poveikio į MMP juostų ekspresiją, lyginant su pagrindine terpe. Tačiau EGCG inhibavo ir MMP-2, ir MMP-9 ekspresiją priklausančiu nuo dozės būdu. Juostų

intensyvumas pagrindinei terpei ir askorbo rūgšties, lizino ir prolino deriniui buvo tas pats.

7 pavyzdys

Įsiskverbimo į ekstraląstelinę matricą ir migracijos tyrimai

Buvo tirtas atskirai naudojamų askorbo rūgšties, prolino ir lizino derinio ir kartu su įvairiomis EGCG koncentracijomis inhibicinis poveikis. Buvo tirtas šių derinių poveikis į ekstraląstelinę matricą naudojant iš anksto paruoštas matrigelio matricas, paprastai naudojamas įvairių vėžinių ląstelių linijų įsiterpimo potencialui įvertinti.

Krūties vėžio MDA-MB-231 ląstelės

Fig.10 parodyti krūties vėžio ląstelių, inkubuotų esant askorbo rūgšties, prolino ir lizino, įsiskverbimo į matrigelį rezultatai. Vėžinių ląstelių, inkubuotų askorbo rūgšties, prolino ir lizino derinyje, įsiskverbimas buvo sumažintas iki $48,1 \pm 22,1$ %, lyginant su ląstelėmis, inkubuotomis neturinčioje papildų terpėje. Terpėje, papildytoje tik 20 $\mu\text{g/ml}$ EGCG, įsiskverbusių ląstelių skaičius sumažėjo iki $69,5 \pm 27,4$ %. Pilna krūties vėžio ląstelių įsiterpimo į matricą inhibicija buvo pasiekta esant didesnėms EGCG koncentracijoms (50 $\mu\text{g/ml}$ ir 100 $\mu\text{g/ml}$).

Kitoje tyrimų serijoje terpės papildymas 100 μM askorbo rūgšties sumažino įsiskverbimą 47 %. Naudojant 400 μM lizino kartu su askorbo rūgšties ir prolino papildais, įsiskverbimas buvo sumažintas iki 67 %; lizinas duoda tiesinį atsaką į askorbo rūgšties ir prolino efektų stiprinimą iki 800 μM lygio.

Fig.10 taip pat parodyta, kad askorbo rūgšties, prolino ir lizino, o taip pat ir 20 $\mu\text{g/ml}$ EGCG derinys pilnai sustabdė vėžinių ląstelių skverbimąsi per ekstraląstelinę matricą. Šis derinys davė galimybę pasiekti maksimalų inhibicinį poveikį į vėžinių ląstelių įsiskverbimą, nesant būtinybės naudoti dideles atskirų maistinių dalių koncentracijas. Tokiu būdu askorbo rūgštis, prolinas ir lizinas kartu su EGCG davė galimybę pilnai sustabdyti vėžinių ląstelių skverbimąsi per matricą esant mažam EGCG kiekiui (20 $\mu\text{g/ml}$).

Storosios žarnos vėžio HCT116 ląstelės

Fig.11 parodyta, kad askorbo rūgštis, prolino ir lizino derinys žymiai sumažino storosios žarnos vėžio ląstelių skverbimąsi iki $67,2 \pm 3,7$ %. Naudojant vien tik 20 $\mu\text{g/ml}$ EGCG, įsiskverbimas sumažėjo iki $44,9 \pm 3,3$ %, tuo tarpu kai askorbo rūgštis, prolino, lizino ir 20 $\mu\text{g/ml}$ EGCG derinys turi sinergetinį poveikį į storosios žarnos vėžio ląstelių įsiskverbimą iki $24,9 \pm 4,6$ %.

Melanomos A2058 ląstelės

Fig.12 parodyta, kad askorbo rūgštis, prolino ir lizino derinys yra veiksmingas mažinant įsiterpiančių ląstelių skaičių iki $88,2 \pm 4$ %, tačiau šis sumažėjimas nebuvo statistiškai reikšmingas. Sumaišius šias maistines medžiagas tik su 20 $\mu\text{g/ml}$ EGCG, įsiskverbusių ląstelių skaičius sumažėjo iki nulio.

Rezultatai rodo, kad askorbo rūgštis, prolino ir lizino naudojimas su EGCG leido mums gauti drastišką įsiskverbiančių ir migruojančių per matrigelį ląstelių skaičiaus sumažėjimą, esant mažiems EGCG kiekiams. Įsiskverbimas buvo sumažintas iki nulio naudojant tik 20 $\mu\text{g/ml}$ EGCG su askorbo rūgštimi, prolino ir lizinu krūties vėžio ir melanomos ląstelių atveju. Derinio rezultatų privalumai nebuvo tokie efektingi storosios žarnos vėžio atveju, kaip buvo gauta su krūties vėžio ląstelėmis. Norint gauti 90 % šių ląstelių įsiskverbimo sumažėjimą, EGCG kiekis turėjo būti 50 $\mu\text{g/ml}$. Šiame tyrime nebuvo pastebėta jokių MMP ekspresijos pokyčių melanomos ląstelėse, nors EGCG turi inhibicinį poveikį į jų ekspresiją nuo dozės priklausančiu būdu.

Ši tyrimų serija įtikinamai rodo, kad ši maistinė farmacinė kompozicija, susidedanti iš askorbo rūgštis, prolino, lizino ir bent veino polifenolinio junginio, turi efektyvų antiproliferacinį ir antiinvazinį poveikį vėžinėms ląstelėms.

8 pavyzdys

Toliau iliustracijai duodamos maistinės farmacinės kompozicijos (1-5 lentelės) ir EPICAN FORTE™ (6 lentelė) jų pagaminimo tikslams. Buvo rasta, kad šios kompozicijos, į kurias įeina askorbo rūgštis, prolinas, lizinas ir bent vienas

polifenolinis junginys, efektyviai blokuoja vėžinių ląstelių atsiradimą ir vėžinių ląstelių metastazavimą.

1 lentelė1 receptūra

<i>Biocheminės medžiagos</i>	<i>Kiekis</i>	<i>%</i>
Askorbo rūgštis	250 mg	5,6
Kalcio askorbatas	250 mg	5,6
Magnio askorbatas	250 mg	5,6
Askorbilpalmitatas	250 mg	5,6
Polifenoliai	100 mg	22,5
N-acetilcisteinas	200 mg	4,5
Lizinas	1000 mg	22,5
Prolinas	750 mg	16,8
Argininas	500 mg	11,2
Selenas	30 mcg	<0,01
Varis	2 mg	0,04
Manganas	1 mg	0,02

mg = miligramai

mcg = mikrogramai

"%" reiškia atskiro ingrediento % pagal masę skaičiuojant nuo visos kompozicijos masės

2 lentelė2 receptūra

<i>Biocheminės medžiagos</i>	<i>Kiekis</i>	<i>%</i>
Askorbo rūgštis	25 mg	5,7
Kalcio askorbatas	25 mg	5,7
Magnio askorbatas	25 mg	5,7
Askorbilpalmitatas	25 mg	5,7
Polifenoliai - 50%	200 mg	46,0
N-acetilcisteinas	10 mg	2,3
Lizinas	50 mg	11,5
Prolinas	25 mg	5,7
Argininas	50 mg	11,5
Selenas	1 mcg	<0,001
Varis	20 mcg	<0,001
Manganas	50 mcg	<0,001

mg = miligramai

mcg = mikrogramai

"%" reiškia atskiro ingrediento % pagal masę skaičiuojant nuo visos kompozicijos masės

3 lentelė3 receptūra

<i>Biocheminės medžiagos</i>	<i>Kiekis</i>	<i>%</i>
Askorbo rūgštis	5000 mg	13,3
Kalcio askorbatas	5000 mg	13,3
Magnio askorbatas	5000 mg	13,3

Askorbilpalmitatas	5000 mg	13,3
Polifenoliai - 100%	5000 mg	13,3
N-acetilcisteinas	1500 mg	4,0
Lizinas	5000 mg	13,3
Prolinas	3000 mg	8,0
Argininas	3000 mg	8,0
Selenas	200 mcg	<0,001
Varis	9 mg	0,02
Manganas	10 mg	0,002

mg = miligramai

mcg = mikrogramai

"%" reiškia atskiro ingrediento % pagal masę skaičiuojant nuo visos kompozicijos masės

4 lentelė

4 receptūra

<i>Biocheminės medžiagos</i>	<i>Kiekis</i>	<i>%</i>
Askorbo rūgštis	250 mg	4,7
Kalcio askorbatas	250 mg	4,7
Magnio askorbatas	250 mg	4,7
Askorbilpalmitatas	250 mg	4,7
Polifenoliai - 98%	1000 mg	18,7
N-acetilcisteinas	200 mg	3,7
Lizinas	1000 mg	18,7
Prolinas	750 mg	14,0
Argininas	500 mg	9,3
Selenas	100 mcg	<0,002
Varis	2 mg	0,04
Manganas	1 mg	0,02
Kalcis	500 mg	9,3
Magnis	400 mg	7,5

mg = miligramai

mcg = mikrogramai

"%" reiškia atskiro ingrediento % pagal masę skaičiuojant nuo visos kompozicijos masės

5 lentelė

5 receptūra

<i>Biocheminės medžiagos</i>	<i>Kiekis</i>	<i>%</i>
Askorbo rūgštis	250 mg	4,5
Kalcio askorbatas	250 mg	4,5
Magnio askorbatas	250 mg	4,5
Askorbilpalmitatas	250 mg	4,5
Polifenoliai - 98%	1000 mg	18
N-acetilcisteinas	200 mg	3,6
Lizinas	1000 mg	18
Prolinas	750 mg	13,5
Argininas	500 mg	9
Selenas	100 mcg	<0,002

Varis	2 mg	<0,04
Manganas	1 mg	<0,02
Kalcis	500 mg	9
Magnis	400 mg	7
Citrusiniai bioflavonoidai	200 mg	3,6

mg = miligramai

mcg = mikrogramai

"%" reiškia atskiro ingrediento % pagal masę skaičiuojant nuo visos kompozicijos masės

6 lentelė

EPICAN FORTE™ receptūra

Porcijos dydis: 6 kapsulės (Rekomenduojamas panaudojimas: po dvi kapsules tris kartus per dieną valgant)

6-se kapsulėse yra:	kiekis porcijoje	dienos normos %
L-lizinas	1000 mg	1180 %
L-prolinas	750 mg	
L-argininas	500 mg	
Vitaminas C (kaip askorbo rūgštis, kalcio askorbatas, magnio askorbatas ir askorbato palmitatas)	782 mg	
Kalcis (iš kalcio askorbato)	22 mg	2 %
Magnis (iš magnio askorbato)	50 mg	12 %
Standartinis žaliosios arbatos (lapų) ekstraktas (80 % polifenolių – 800 mg), kofeinas pašalintas	1000 mg	
N-acetilcisteinas	200 mg	
Selenas (iš L-selenmetionino)	30 mg	43 %
Varis (iš vario glicinato)	2 mg	100 %
Manganas (iš mangano citrato)	1 mg	50 %

mg = miligramai

mcg = mikrogramai

EPICAN FORTE™ yra prekės ženklo pavadinimas laukiančioje sprendimo US paraiškoje.

Kiti ingredientai: Vegetarian kapsulės (hidroksipropilmetilceliuliozė), silicio dioksidas, celiuliozė ir magnio stearatas.

9 pavyzdys

EPICAN FORTE™ poveikis į žmogaus vėžines ląsteles

Buvo tirtas EPICAN FORTE™ poveikis į žmogaus vėžines ląsteles. Buvo tirti metastaziniai parametrai, tokie kaip matricinių metalproteinazių (MMP) ekspresija

panaudojant želatinazinę zimografiją, skverbimosi per matrigelį potencialas ir proliferacija/augimas panaudojant MTT testus. Šių testų metodikos buvo tokios pačios kaip smulkiai aprašyta aukščiau. Buvo naudotos kelios žmogaus vėžinių ląstelių linijos: odos vėžio – melanomos ląstelės 2058, kepenų vėžio – HepG2 ląstelės, fibrosarkomos – HT 1080 ląstelės, storosios žarnos vėžio – HCT 116, krūties vėžio ER+/-MCF-7 ir krūties vėžio ER-/MDA-MB-231.

Rezultatai susumuoti toliau duodamose lentelėse (7 ir 8 lentelės):

EPICAN FORTE™ poveikis į žmogaus vėžinių ląstelių linijų proliferaciją/augimą
7 lentelė: Gydomo EPICAN FORTE™ dozės (µg/ml): procentai nuo kontrolės

<u>Vėžinės ląstelės</u>	0	10	50	100	500	1000
Melanoma	100%	98	-	105	-	50
Hep G2	100%	92	-	138	-	85
HT-1080	100%	100	-	97	80	63
Storosios žarnos (HCT 116)	100%	119	125	141	120	106
MCF-7	100%	93	88	92	97	77
MDA-MB-231	100%	103	-	82	-	25

EPICAN FORTE™ poveikis į žmogaus vėžinių ląstelių įsiskverbimą į matrigelį ir migraciją

8 lentelė: Gydomo EPICAN FORTE™ dozės (µg/ml): procentinė inhibicija

<u>Vėžinės ląstelės</u>	0	10	50	100	500	1000
Melanoma	0%	80	98	100	-	-
Hep G2	0%	15	25	50	95	100
HT-1080	0%	90	-	50	70	100
Storosios žarnos (HCT 116)	0%	20	50	80	100	-
MDA-MB-231	0%	50	-	98	-	-
MCF-7		nesiskverbiantis				

EPICAN FORTE™ poveikis į žmogaus vėžinių ląstelių linijų ekspresuojamas matricines metalproteinazes (MMP)

Melanomos ląstelės: Melanomos ląstelės želatinazinėje zimografijoje davė dvi juosteles, atitinkančias MMP-2 ir MMP-9. EPICAN FORTE™ inhibavo MMP-2 ir -9

ekspresiją nuo dozės priklausančiu būdu. MMP-2 ir -9 ekspresiją žymiai inhibavo 100 $\mu\text{g/ml}$ EPICAN FORTETM, o esant 1000 $\mu\text{g/ml}$ koncentracijai ji buvo faktiškai neaptinkama.

HepG2 ląstelės: Kaip ir melanomos ląstelės, HepG2 ląstelės taip pat ekspresavo dvi juostas, atitinkančias MMP-2 ir MMP-9. EPICAN FORTETM, esant jo 500 ir 1000 $\mu\text{g/ml}$ koncentracijoms, inhibavo MMP-2 ir MMP-9 ekspresiją.

Fibrosarkoma HT-1080: HT-1080 ląstelės davė dvi juostas, atitinkančias MMP-2 ir -9. EPICAN FORTETM taip pat inhibavo abiejų juostų ekspresiją nuo dozės priklausančiu būdu. Esant 500 ir 1000 $\mu\text{g/ml}$ koncentracijoms, buvo matomos labai silpnos juostos.

Storosios žarnos vėžys HCT116: Storosios žarnos vėžio ląstelės zimografijoje davė tikrai vieną juostą, atitinkančią MMP-2, kuri visiškai išnyko esant 100 $\mu\text{g/ml}$ koncentracijai.

MCF-7 ir MDA-MB-231: Šios vėžinių ląstelių linijos mūsų eksperimento sąlygomis, kurios buvo panašios į kitų vėžinių ląstelių linijas, nedavė jokių MMP juostų.

MDA-MB-231 skverbimasi per matrigelį 10, 50 ir 100 $\mu\text{g/ml}$ koncentracijos EPICAN FORTETM inhibavo atitinkamai 50, 60 ir 95 %. EPICAN FORTETM nebuvo toksiškas, esant 10 $\mu\text{g/ml}$, o esant 100 $\mu\text{g/ml}$ koncentracijai turėjo nedidelį toksiškumą. Tačiau žymus toksiškumas buvo stebimas esant 1000 $\mu\text{g/ml}$ koncentracijai. Pagal zimografiją, neekspresuojama nei MMP-2, nei MMP-9. Atvirkščiai, EPICAN FORTETM nebuvo toksiškas MCF-7 net ir esant 500 $\mu\text{g/ml}$ ir turėjo nedidelį toksiškumą esant 1000 $\mu\text{g/ml}$. MCF-7 nėra skvarbus ir neekspresuoja MMP aktyvumų.

EPICAN FORTETM inhibuoja MMP-2 ir MMP-9 ekspresiją nuo dozės priklausančiu būdu. MMP-2 ir MMP-9 ekspresija buvo žymiai inhibuota esant 100 $\mu\text{g/ml}$ EPICAN FORTETM koncentracijai ir faktiškai neaptinkama, esant 1000 $\mu\text{g/ml}$ koncentracijai. Naudojant 10 ir 100 $\mu\text{g/ml}$ EPICAN FORTETM koncentracijas, nėra žymiai paveikiamas ląstelių gyvybingumas, o esant 100 $\mu\text{g/ml}$, priklausomai nuo

ląstelių tipo, yra stebimas citotoksiškumas 10-40 procentų intervale. Melanomos ląstelių, MDA-MB-231 ląstelių, ir melanomos ląstelių bendros kultūros su NHDF skverbimasis per matrigelį buvo žymiai sumažintas nuo dozės priklausančiu būdu. HT-1080 ląstelių skverbimasis per matrigelį buvo inhibuotas 10%, 50%, 70% ir 100% esant atitinkamai 10, 100, 200 ir 1000 $\mu\text{g/ml}$. Įdomu tai, kad EPICAN FORTE™ nebuvo toksiškas HT-1080 ląstelėms esant 100 $\mu\text{g/ml}$. Šie rezultatai rodo, kad EPICAN FORTE™ yra labai efektyvus keletui vėžinių ląstelių linijų, o taip pat ir bendrai kultūrai. Šie stebėjimai rodo, kad EPICAN FORTE™ gali duoti natūralų terapinį pagrindą, kuris daro jį vertingu ir daug žadančiu kandidatu žmogaus vėžiniams susirgimams gydyti.

10 pavyzdys

EPICAN FORTE™ poveikis į žmogaus normalių ląstelių linijas

Buvo tirtas EPICAN FORTE™ poveikis į žmogaus normalias ląsteles. Buvo naudojami parametrai, panašūs į vėžinių ląstelių parametrus: būtent – žimografija MMP ekspresijai, skverbimasis per matrigelį ir proliferacija/augimas pagal MTT testą. Buvo naudota keletas žmogaus normalių dermalinių fibroblastų, įskaitant žmogaus chondrocitus ir žmogaus stromines ląsteles.

Toliau duodamose lentelėse (9, 10 ir 11 lentelės) susumuoti EPICAN FORTE™ poveikiai į proliferaciją/augimą, metastazinį įsiskverbimą ir MMP gaminimąsi normaliose žmogaus ląstelėse:

9 lentelė: EPICAN FORTE™ poveikis į žmogaus normalių ląstelių proliferaciją/augimą

Gydymo EPICAN FORTE™ dozės ($\mu\text{g/ml}$): procentai nuo kontrolės

<u>Normalios ląstelės</u>	0	10	50	100	500	1000
NHDF	100%	118	-	135	-	90
Chondrocitai	100%	113	-	148	76	82
Strominės ląstelės	100%	100	116	115	98	64

10 lentelė: EPICAN FORTE™ poveikis į žmogaus normalių ląstelių skverbimąsi per matrigelį

Gydymo EPICAN FORTE™ dozės ($\mu\text{g/ml}$): inhibicijos procentai

<u>Normalios ląstelės</u>	0	10	50	100	200	1000
NHDF	0%	67%	89%	100%	-	-
Chondrocitai	0%	45%	85%	95%	100%	-
Strominės ląstelės	0%	0%	-	95%	100%	

Toliau duodamas EPICAN FORTE™ poveikio į žmogaus normalių ląstelių ekspresuojamas matricines metalproteinazes (MMP) santrauka:

NHDF: Pagal zimografiją NHDF ekspresavo tikrai vieną juostą, atitinkančią MMP-2, kuri faktiškai išnyko esant 1000 µg/ml EPICAN FORTE™ koncentracijai.

Chondrocitai: Chondrocitai taip pat parodė tikrai vieną juostą, atitinkančią MMP-2. EPICAN FORTE™ inhibavo MMP-2 ekspresiją nuo dozės priklausančiu būdu. MMP-2 ekspresija buvo žymiai inhibuojama esant 100 µg/ml EPICAN FORTE™ koncentracijai ir visiškai išnyko esant 200 µg/ml EPICAN FORTE™ koncentracijai.

Strominės ląstelės: Strominės ląstelės taip pat turėjo tikrai vieną juostą, atitinkančią MMP-2. EPICAN FORTE™ inhibavo MMP-2 ekspresiją nuo dozės priklausančiu būdu. Labai silpna juosta buvo matoma esant 50 ir 100 µg/ml koncentracijai, kuri pasidarė neaptinkama esant 200 ir 500 µg/ml koncentracijai.

Bendrai paėmus, rezultatai parodė, kad EPICAN FORTE™ inhibuoja MMP-2 ekspresiją nuo dozės priklausančiu būdu. MMP-2 ekspresija buvo žymiai inhibuojama esant 100 µg/ml EPICAN FORTE™ koncentracijai ir faktiškai neaptinkama esant 200 µg/ml koncentracijai. Be to, buvo rasta, kad chondrocitų skverbimasis per matrigelį buvo inhibuojamas 50%, 85% ir 95% esant 10 µg/ml, 100 µg/ml ir 200 µg/ml koncentracijoms. Esant 500 µg/ml, įsiskverbimas buvo pilnai sumažintas iki 0 %.

EPICAN FORTE™ buvo netoksiškas chondrocitams net ir esant 200 µg/ml koncentracijai. Iš tiesų EPICAN FORTE™ pasižymi poveikiu į ląstelių poliferaciją – 70% ląstelių proliferacijos padidėjimas esant 200 µg/ml, t.y. 70% padidėjimas lyginant su kontrole. Nedidelis toksiškas poveikis buvo stebimas esant 500 µg/ml. Šie

rezultatai rodo, kad EPICAN FORTE™ veiksmingai inhibuoja MMP-2 ekspresiją ir kad EPICAN FORTE™ atstovauja naują prieš uždegiminę maistinę kompoziciją, kaip gamtinę strategiją MMP produkavimui ir ekstraląstelinės matricos degradacijai osteoartrito ir kitų giminingų sutrikimų, įskaitant per didelę kremzlių degradaciją, inhibuoti.

Nors Epican-Forte *in vivo* tyrimai ką tik pradėti vykdyti, buvo aprašyti du atvejai, įrodantys Epican-Forte, kaip vėžį gydančio vaisto, pagrįstumą.

Pacientė, kuriai buvo diagnozuotas smegenų auglys, buvo nesėkmingai gydoma chemo- ir radioterapija ir 2002 m. balandžio mėn. gale gydymas buvo nutrauktas. Atsitiktinai ji buvo pradėta gydyti Epican-Forte rekomenduojamomis dozėmis. 2002 m. rugpjūčio mėn. gale MRTS parodė, kad auglys išnyko.

Šešiasdešimt ketverių metų amžiaus pacientui, turinčiam žymiai padidintą auglio žymeklį PSA (59,9 µg/ml), 2002 m. gegužės mėn. buvo diagnozuotos prostatos karcinomos metastazės išilgai aortos limfinių indų. Jis pradėjo gydytis Epican-Forte rekomenduojamomis dozėmis. Po trijų mėnesių PSA kiekis nukrito iki 0,9 µg/ml. CT patikrinimas 2002 m. spalio mėn. gale parodė, kad anksčiau matomos limfinės metastazės jau nebepastebimos, o jo prostata pasidarė normalaus dydžio.

Buvo aprašyta keletas šio išradimo įgyvendinimo variantų. Vis tik reikėtų suprasti, kad gali būti padarytos įvairios modifikacijos nenukrypstant nuo išradimo esmės ir sferos.

Išradimo apibrėžtis

1. Maistinė farmacinė kompozicija, tinkanti vėžiui gydyti, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji susideda iš:

- a) askorbo junginio;
- b) L-lizino junginio;
- c) L-prolino junginio ir

d) bent vieno polifenolinio junginio, pasirinkto iš grupės, susidedančios iš epigalokatechingalato, epikatechingalato, epigalokatechino, epikatechino ir katechino, kurioje junginiai a-c) stiprina polifenolinio junginio aktyvumą blokuojant vėžinę proliferaciją ir metastazavimą.

2. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad askorbo junginys yra pasirinktas iš grupės, susidedančios iš askorbo rūgšties, farmaciniu požiūriu priimtinių askorbato druskų, askorbato esterių ir/arba jų mišinių.

3. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad farmaciniu požiūriu priimtina askorbato druska yra kalcio askorbato arba magnio askorbato.

4. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 2 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad askorbato esteris yra askorбилpalmitatas.

5. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad lizino junginys yra pasirinktas iš grupės, susidedančios iš lizino hidrochlorido ir lizininių farmaciniu požiūriu priimtinių lizino druskų.

6. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad prolino junginys yra pasirinktas iš grupės, susidedančios iš prolino hidrochlorido ir prolininių farmaciniu požiūriu priimtinių prolino druskų.

7. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad joje yra dar ir mikroelementų, pasirinktų iš grupės, susidedančios iš seleno, vario, mangano, kalcio ir magnio.

8. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad joje yra dar ir aminorūgšties.

9. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 8 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad aminorūgštis yra argininas.

10. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad joje yra dar ir N-acetilcisteino.

11. Maistinė farmacinė kompozicija, tinkanti vėžiui gydyti, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad susideda iš:

- a) askorbo junginio;
- b) L-lizino junginio;
- c) L-prolino junginio;
- d) N-acetilcisteino ir

e) bent vieno polifenolinio junginio, pasirinkto iš grupės, susidedančios iš epigalokatechingalato, epikatechingalato, epigalokatechino, epikatechino ir katechino, kurioje junginiai a-d) stiprina polifenolinio junginio aktyvumą blokuojant vėžinę proliferaciją ir metastazavimą.

12. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 11 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad askorbo junginys yra pasirinktas iš grupės, susidedančios iš askorbo rūgšties, farmaciniu požiūriu priimtinių askorbato druskų, askorbato esterių ir/arba jų mišinių.

13. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 12 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad farmaciniu požiūriu priimtina askorbato druska yra kalcio askorbatas arba magnio askorbatas.

14. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 12 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad askorbato esteris yra askorbilpalmitatas.

15. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 11 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad lizino junginys yra pasirinktas iš grupės, susidedančios iš lizino hidrochlorido ir lizininų farmaciniu požiūriu priimtinių lizino druskų.

16. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 11 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad prolino junginys yra pasirinktas iš grupės, susidedančios iš prolino hidrochlorido ir prolininių farmaciniu požiūriu priimtinių prolino druskų.

17. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 11 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad joje yra dar ir mikroelementų, pasirinktų iš grupės, susidedančios iš seleno, vario, mangano, kalcio ir magnio.

18. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 11 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad joje yra dar ir aminorūgštis.

19. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 18 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad aminorūgštis yra argininas.

20. Maistinė farmacinė kompozicija, tinkanti vėžiui gydyti, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad ji apima: askorbo rūgštį, kalcio askorbatą, magnio askorbatą,

askorbilpalmitatą, polifenolius, N-acetilcisteiną, liziną, prolina, arginina, seleną, varį ir manganą.

21. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 20 punktą, *b e s i s k i r i a n t i* tuo, kad ji apima 250 mg askorbo rūgšties, 250 mg kalcio askorbato, 250 mg magnio askorbato, 250 mg askorbilpalmitato, 1000 mg polifenolių, 200 mg L-acetilcisteino, 1000 mg lizino, 750 mg prolino, 500 mg arginino, 30 mcg seleno, 2 mg vario ir 1 mg mangano.

22. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 20 punktą, *b e s i s k i r i a n t i* tuo, kad ji apima 25 mg askorbo rūgšties, 25 mg kalcio askorbato, 25 mg magnio askorbato, 25 mg askorbilpalmitato, 200 mg polifenolių, 10 mg L-acetilcisteino, 50 mg lizino, 25 mg prolino, 50 mg arginino, 1 mcg seleno, 20 mcg vario ir 50 mcg mangano.

23. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 20 punktą, *b e s i s k i r i a n t i* tuo, kad ji apima 5000 mg askorbo rūgšties, 5000 mg kalcio askorbato, 5000 mg magnio askorbato, 5000 mg askorbilpalmitato, 5000 mg polifenolių, 1500 mg L-acetilcisteino, 5000 mg lizino, 3000 mg prolino, 3000 mg arginino, 200 mcg seleno, 9 mg vario ir 10 mg mangano.

24. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 20 punktą, *b e s i s k i r i a n t i* tuo, kad ji apima 250 mg askorbo rūgšties, 250 mg kalcio askorbato, 250 mg magnio askorbato, 250 mg askorbilpalmitato, 1000 mg polifenolių, 200 mg L-acetilcisteino, 1000 mg lizino, 750 mg prolino, 500 mg arginino, 100 mcg seleno, 2 mg vario, 1 mg mangano, 500 mg kalcio ir 400 magnio.

25. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 20 punktą, *b e s i s k i r i a n t i* tuo, kad ji apima 250 mg askorbo rūgšties, 250 mg kalcio askorbato, 250 mg magnio askorbato, 250 mg askorbilpalmitato, 1000 mg polifenolių, 200 mg L-acetilcisteino, 1000 mg lizino, 750 mg prolino, 500 mg arginino, 100 mcg seleno, 2 mg vario, 1 mg mangano, 500 mg kalcio, 400 mg magnio ir 200 citrusinių bioflavonoidų.

26. Maistinė farmacinė kompozicija, tinkanti vėžiui gydyti, *b e s i s k i r i a n t i* tuo, kad ji apima: L-liziną, L-proliną, L-argininą, askorbo rūgštį, kalcį, magnį, polifenolius, N-acetilcisteiną, seleną, varį ir manganą.

27. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 26 punktą, *b e s i s k i r i a n t i* tuo, kad ji apima 1000 mg L-lizino, 750 mg L-prolino, 500 mg L-arginino, 710 mg askorbo rūgšties, 22 mg kalcio, 50 mg magnio, 1000 mg polifenolių, 200 mg N-acetilcisteino, 30 mcg seleno, 2 mg vario ir 1 mg mangano.

28. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 27 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad askorbo rūgštis yra pasirinkta iš grupės, susidedančios iš askorbo rūgšties, kalcio askorbato, magnio askorbato ir askorbilpalmitato.

29. Maistinė farmacinė kompozicija pagal 27 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad polifenolis yra pasirinktas iš grupės, susidedančios iš epigalokatechingalato, epikatechingalato, epigalokatechino, epikatechino, katechino ir kitų farmaciniu požiūriu priimtinių polifenolių druskų ir/arba jų mišinių.

30. Kompozicijos pagal bet kurį iš 1-29 punktų panaudojimas gamybai farmacinės kompozicijos, skirtos vėžio gydymui.

31. Panaudojimas pagal 30 punktą, kuriame vėžys yra parinktas iš grupės, susidedančios iš melanomos vėžio, krūties vėžio, storosios žarnos vėžio, plaučių vėžio ir smegenų vėžio.

32. Kompozicijos pagal bet kurį iš 1-29 punktų panaudojimas gamybai farmacinės kompozicijos, skirtos uždegiminių susirgimų gydymui.

33. Panaudojimas pagal 32 punktą, kuriame uždegiminiu susirgimu yra osteoartritas.

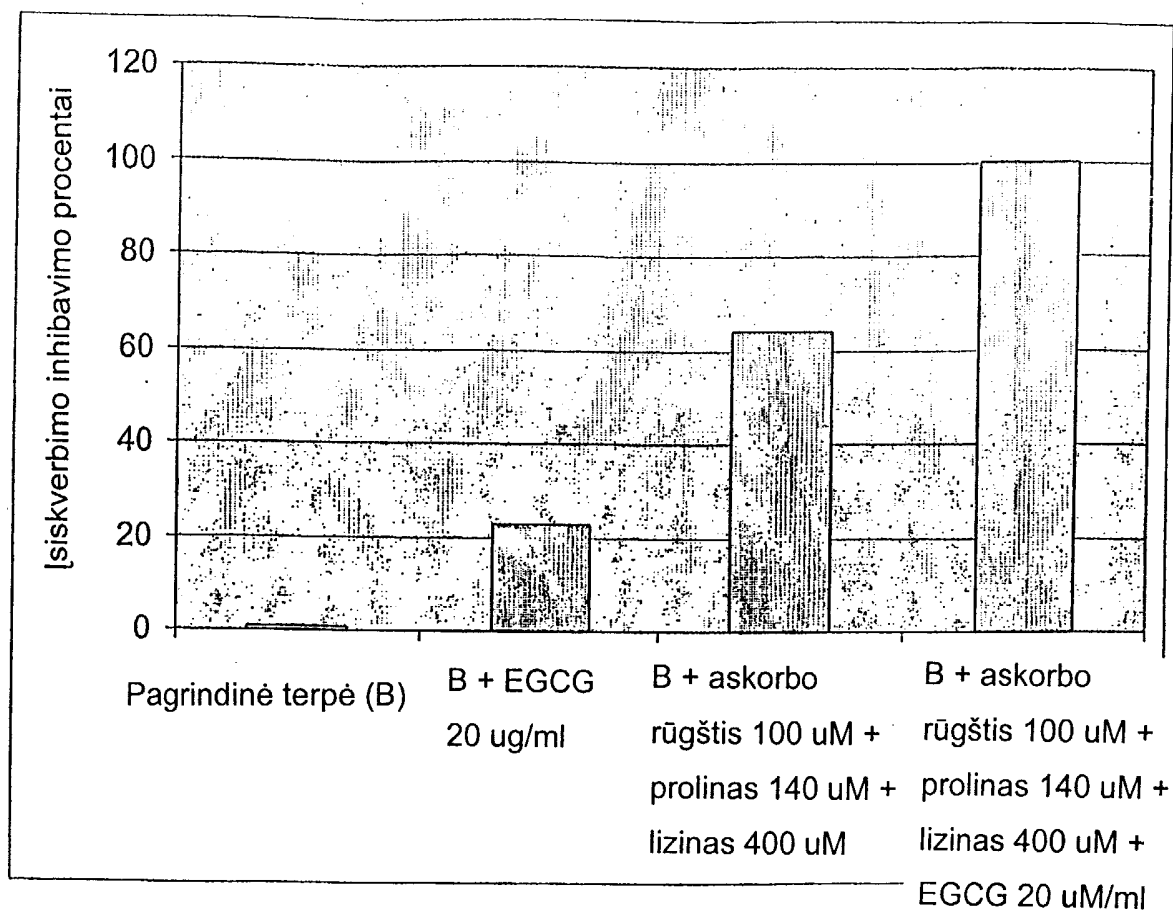


Fig.1.

5

10

15

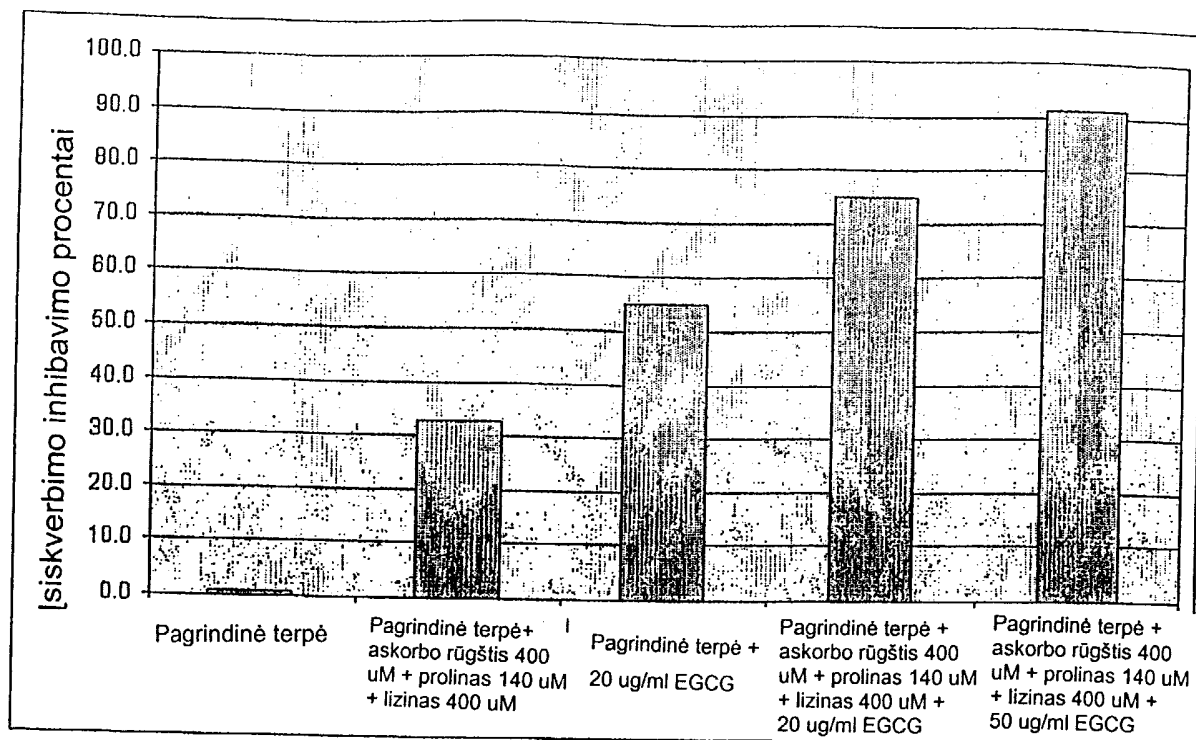


Fig.2

20

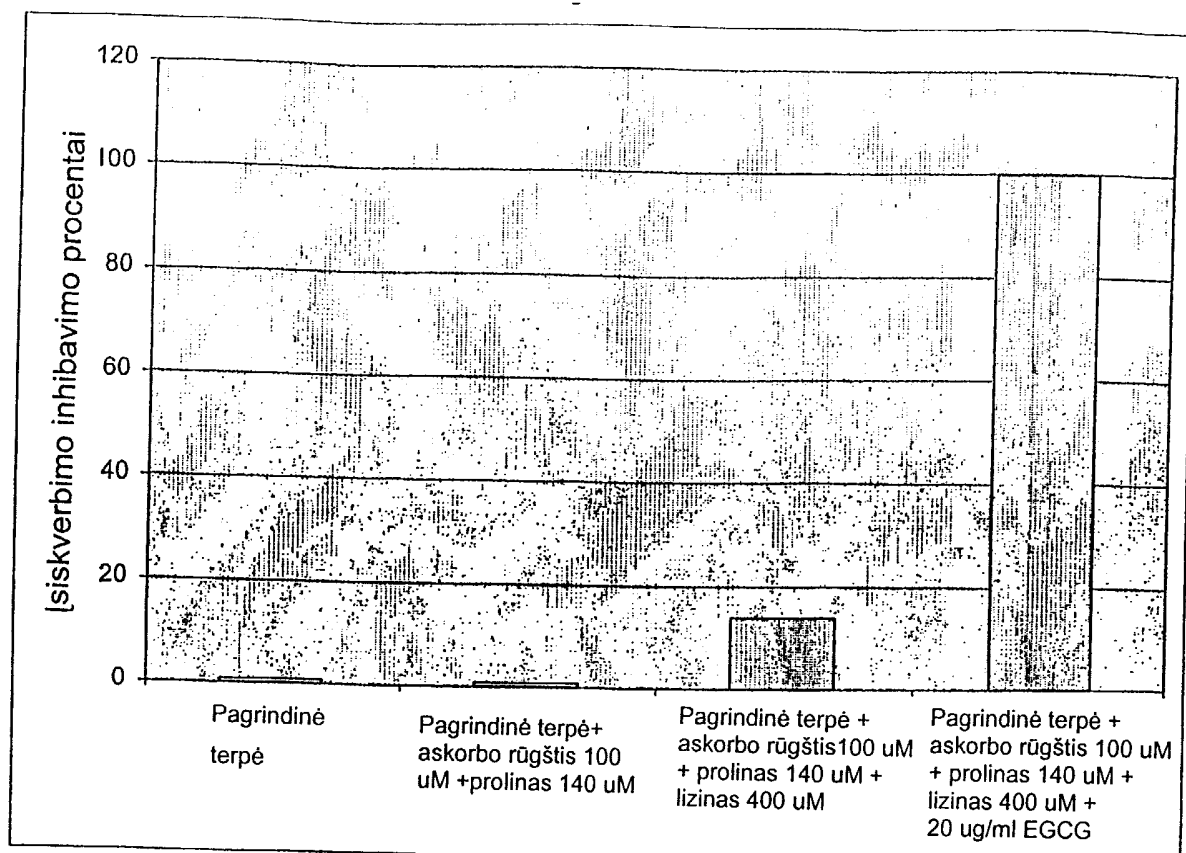
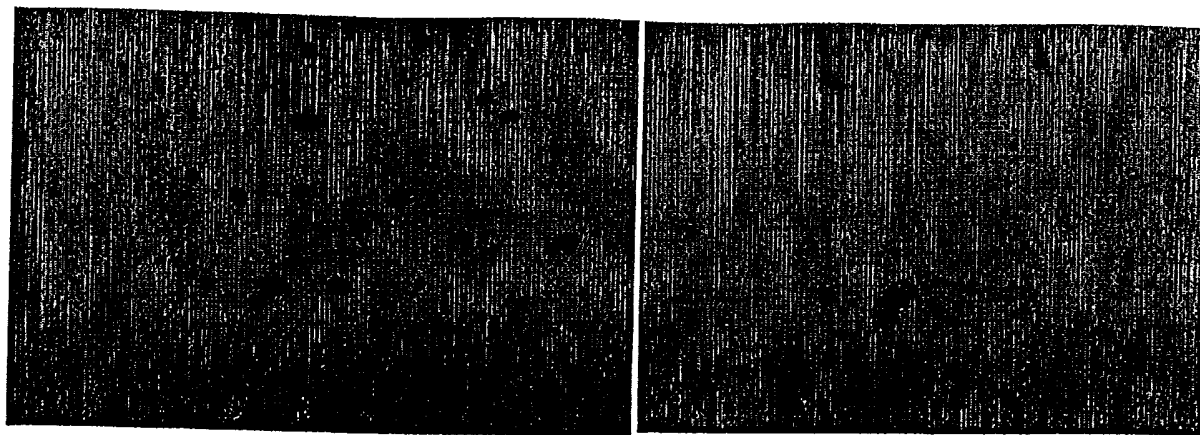


Fig.3



A

B

Fig.4

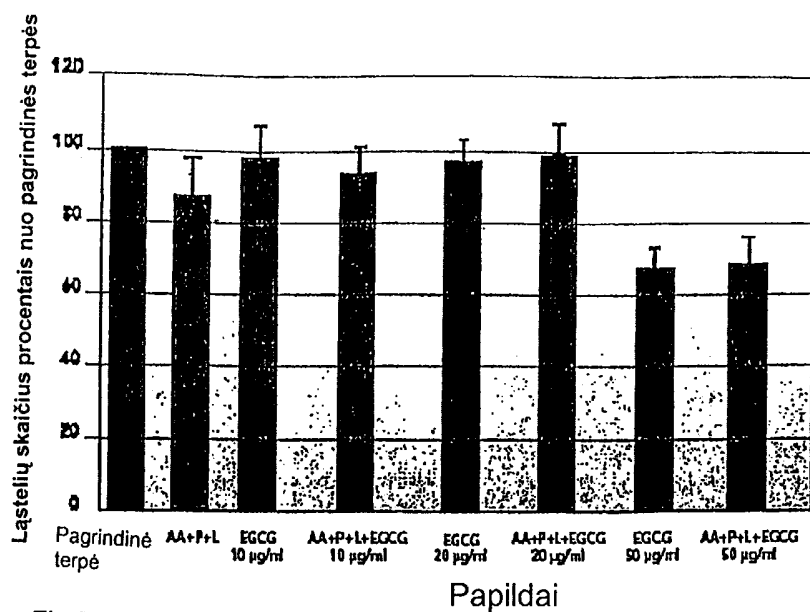


Fig.5

Pagrindinės terpės papildymo 100 µM askorbo rūgšties (AA), 140 µM prolino (P), 400 µM lizino (L) ir įvairiais kiekiais epigalokatechingalato (EGCG) poveikis į melanomos A2058 ląstelių proliferaciją

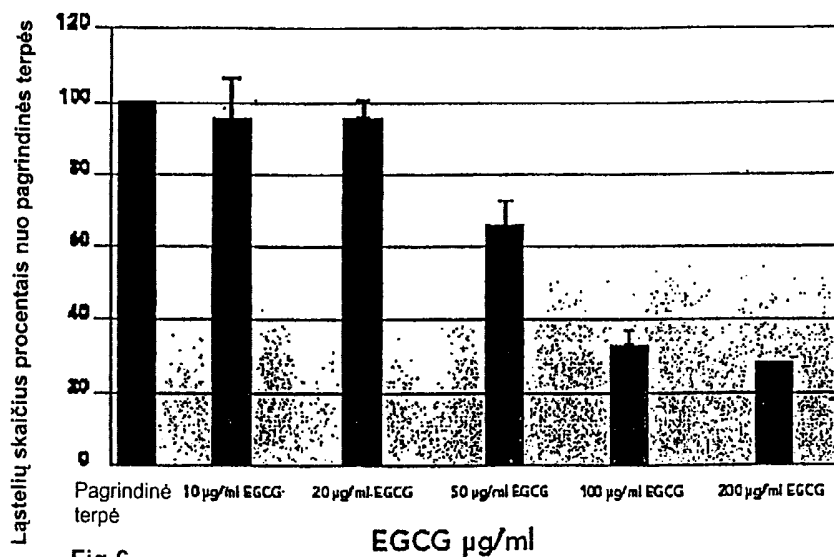


Fig.6

Epigalokatechingalato (EGCG) poveikis į krūties vėžio ląstelių MDA-MB 231 proliferaciją

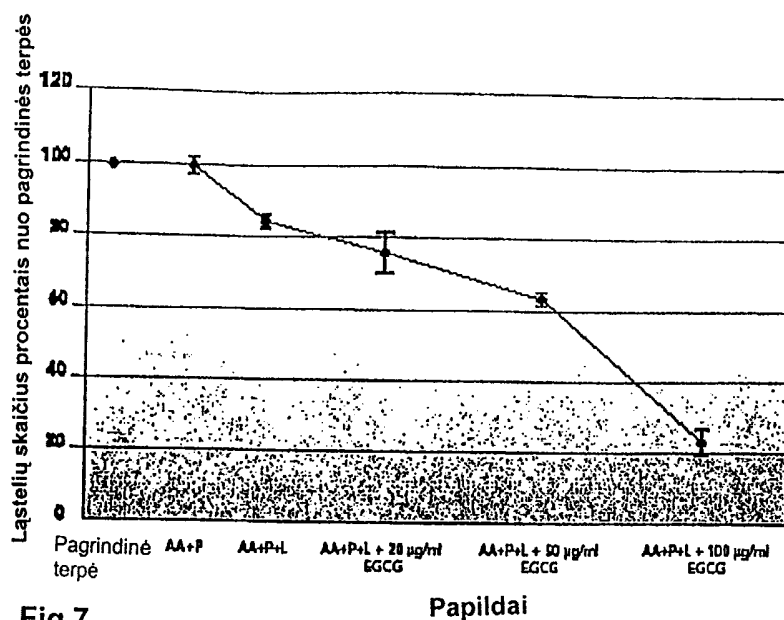


Fig.7

Papildai

Pagrindinės terpės papildymo 100 µM askorbo rūgšties (AA), 140 µM prolino (P), 400 µM lizino (L) ir įvairiais kiekiais epigalokatechingalato (EGCG) poveikis į krūties vėžio ląstelių MDA-MB 231 proliferaciją

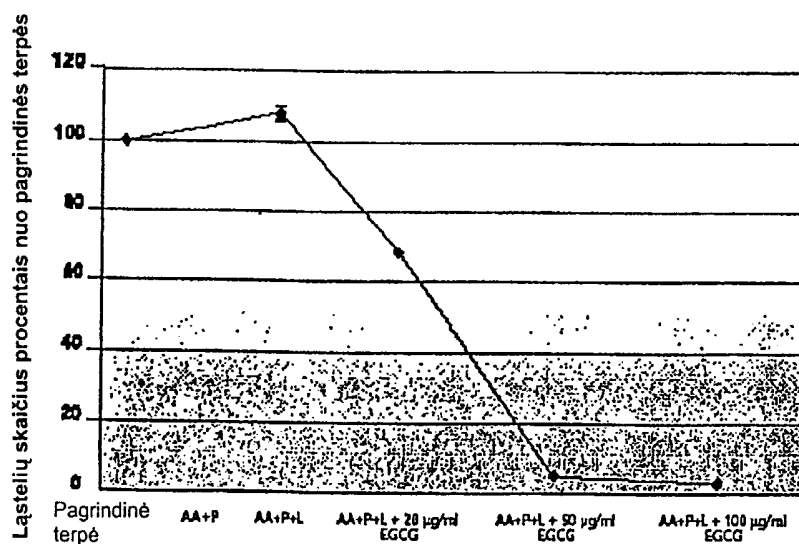


Fig.8

Papildai

Pagrindinės terpės papildymo 100 µM askorbo rūgšties (AA), 140 µM prolino (P), 400 µM lizino (L) ir įvairiais kiekiais epigalokatechingalato (EGCG) poveikis į storosios žarnos vėžio ląstelių HCT116 proliferaciją

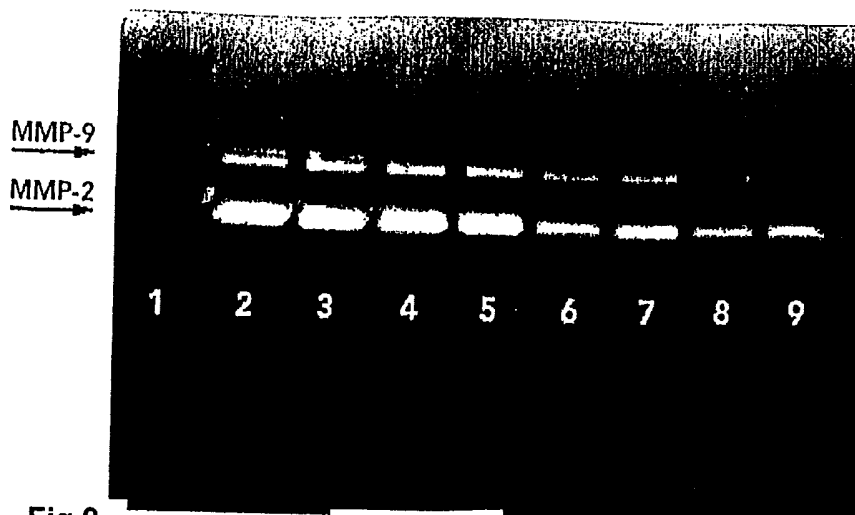


Fig.9

Papildai

Pagrindinės terpės papildymo 100 μ M askorbo rūgšties (AA), 140 μ M prolino (P), 400 μ M lizino (L) ir įvairiais kiekiais epigalokatechingalato (EGCG) poveikis melanomos ląstelių ekspresuojamas metalproteinazes (MMP)

3.AA+P+L; 4.EGCG 10 μ g/ml; 5.AA+P+L+10 μ g/mlEGCG;6.EGCG 20 μ g/ml; 7.AA+P-L+EGCG 20 μ g/ml; 8.EGCG 50 μ g/ml; 9.AA+P+L+EGCG 50 μ g/ml

1 – žymekliai, 2 – pagrindinė terpė

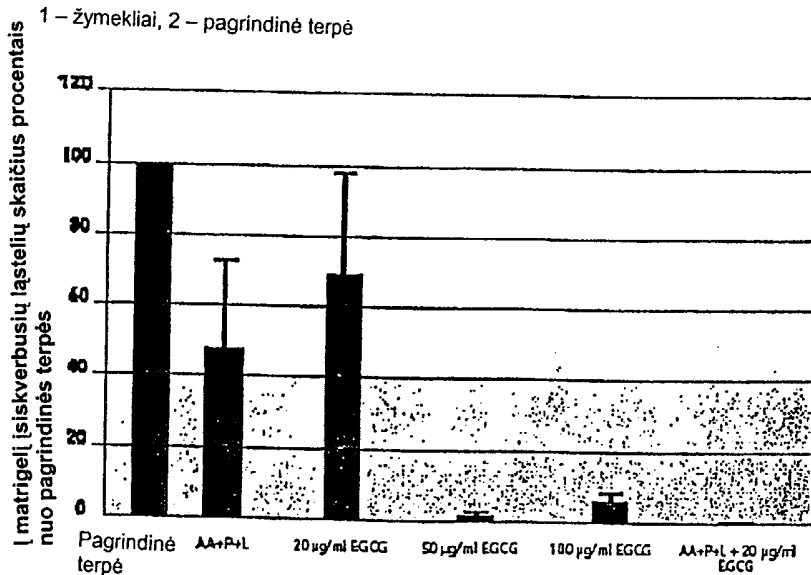


Fig.10

Papildai

Pagrindinės terpės papildymo 100 μ M askorbo rūgšties (AA), 140 μ M prolino (P), 400 μ M lizino (L) ir įvairiais kiekiais epigalokatechingalato (EGCG) poveikis į krūties vėžio ląstelių MDA-MB 231 skverbimąsi per matrigelį

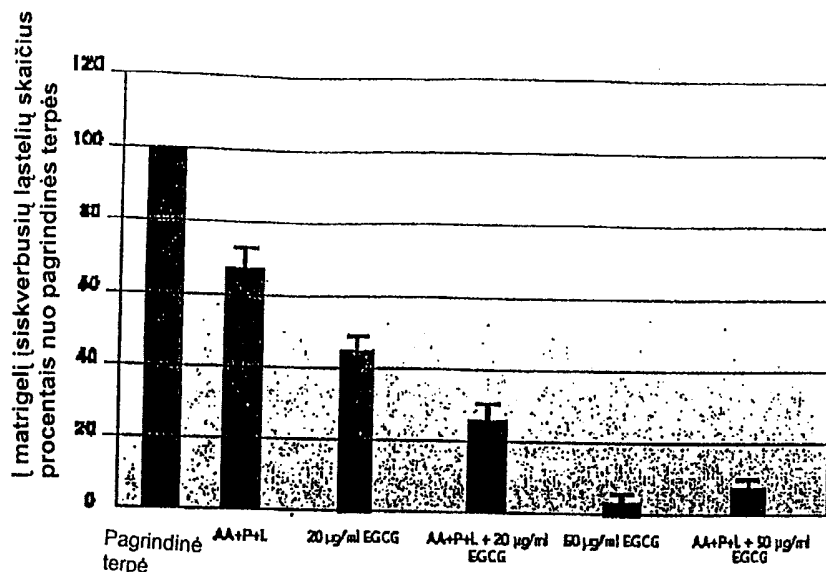


Fig.11

Papildai

Pagrindinės terpės papildymo 100 µM askorbo rūgšties (AA), 140 µM prolino (P), 400 µM lizino (L) ir įvairiais kiekiais epigalokatechingalato (EGCG) poveikis į storosios žarnos vėžio ląstelių HCT116 skverbimąsi per matrigelį

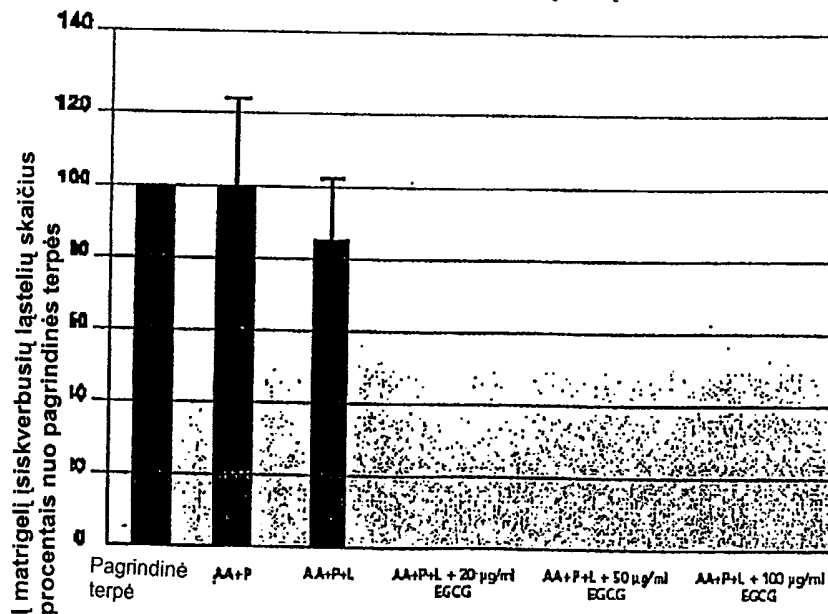


Fig.12

Papildai

Pagrindinės terpės papildymo 100 µM askorbo rūgšties (AA), 140 µM prolino (P), 400 µM lizino (L) ir įvairiais kiekiais epigalokatechingalato (EGCG) poveikis į matrigelį

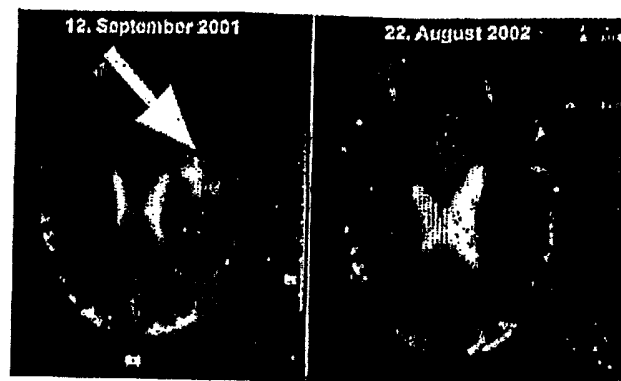


Fig.13 pavaizduotas CT-skryningas

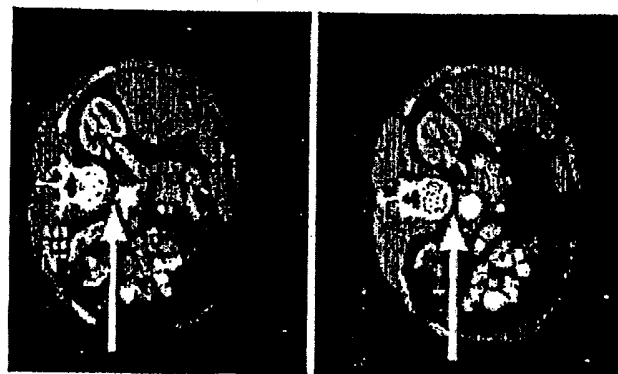


Fig.14 pavaizduotas CT-skryningas