

(12) **PARAIŠKOS APRAŠYMAS**

(21) Paraiškos numeris: **2020 521**
(22) Paraiškos padavimo data: **2020-04-17**
(41) Paraiškos paskelbimo data: **2021-10-25**

(71) Pareiškėjas:
**Lietuvos sveikatos mokslu universitetas, A.
Mickevičiaus g. 9, 44307 Kaunas, LT**
(72) Išradėjas:
**Donatas STAKIŠAITIS, LT
Angelija VALANČIŪTĖ, LT
Ingrida BALNYTĖ, LT
Vaiva LESAUSKAITĖ, LT
Milda JUKNEVIČIENĖ, LT
Jūratė STANEVIČIŪTĖ, LT
Darius Juozas JASAITIS, LT**
(74) Patentinis patikėtinis/atstovas:
**Reda ŽABOLIENĖ, 7, METIDA, Verslo centras
„VERTAS“, Gynėjų g. 16, LT-01109 Vilnius, LT**

(54) Pavadinimas:

Valpro rūgšties ir dichloroacetato druskų derinio taikymas vėžio gydymui

(57) Referatas:

Išradimas susijęs su valpro rūgšties (VPA) ir dichloroacetato (DCA) druskų derinio (VPA–DCA) taikymu terapijai gydant vėžį. Pagrindinis DCA priešvėžinio veikimo mechanizmas yra piruvato dehidrogenazės kinazių inhibicija, slopinama pieno rūgšties produkcija ląstelėje ir kraujyje, o VPA – histono deacetilazių inhibicija, epigenetinis poveikis DNR acetilinimui ir metilinimui. Abu tiriamieji vaistiniai preparatai slopina oksidacinę glikolizę, Na-K-2Cl nešiklio RNR raišką ląstelėje, didina oksidacinį stresą navikinėse ląstelėse, indukuoja jų apoptozę, slopina ląstelių proliferaciją. VPA–DCA derinys mažina gliukozės koncentraciją kraujo serume, natrio ir chlorido jonų kiekį ląstelėje ir ekstraląsteliniam tarpe. Šio derinio sudedamųjų dalių farmakologinis sinergizmas slopina naviko ląstelių proliferaciją, neoangiogenezę, naviko augimą, jo invaziją. VPA–DCA, kaip papildomas vaistinis preparatas, gali būti taikomas chemoterapijos ir spindulinio gydymo veiksmingumui pagerinti ir naviko rezistentiškumą gydymui atitolinti.

VALPRO RŪGŠTIES IR DICHLOOROACETATO DRUSKŲ DERINIO TAIKYMAS VĖŽIO GYDYMUI

IŠRADIMO SRITIS

Išradimas susijęs su valpro rūgšties (VPA) ir dichloroacetato (DCA) druskų derinio (VPA–DCA) taikymu gydant vėžį.

TECHNIKOS LYGIS

Chemoterapija priešvėžinių preparatų deriniais taikoma siekiant gauti papildomą ar sinergistinę priešvėžinę poveikį. Racionalius derinius sudarantys preparatai turi skirtingus veikimo mechanizmus, kurie slopina naviko augimą. Tokiu būdu galima atitolinti rezistentiškumo pasireiškimą gydymui, sumažinti gydymui taikomas vaistų dozes ir jų toksiškumą bei nepageidaujamo poveikio riziką. Skirtingų klasių priešvėžinių preparatų derinių sinergizmo taikymas grindžiamas žinomais jų farmakologinio poveikio mechanizmais, – tyrinėtas sinergistinis alkilinančių preparatų ir purino analogų derinių (ciklofosfamido ir fludarabino), platinos preparatų ir antimetabolitų (cisplatinos ir fluorouracilo; cisplatinos ir gemcitabino deriniai) bei dviejų antimetabolitų derinių (gemcitabino ir kapecitabino derinys) taikymas. Naujų vaistinių preparatų derinių vėžiui gydyti tyrimai yra svarbi onkologijos mokslo sritis [1].

US 9556113 skirtas dichloroacetato ir oksamato derinio bei dichloroacetato ir sintezuotų oksamato provaistų derinių vartojimui gydant įvairios lokalizacijos vėžį. Patente aprašomas dviejų vaistų derinio priešvėžinis veiksmingumas ir farmakologinio poveikio mechanizmai, kurie papildo vienas kitą, t. y. veikia sinergistiškai. Šie preparatai gali būti vartojami kaip pagrindinė arba papildoma terapija (atskirai arba jų derinys viename preparate) bei lygiagrečiai su sistetine chemoterapija.

EP 1 708 692 B1 aprašo DCA vartojimą, siekiant pagerinti širdies kontraktilinę funkciją, koronarų kraujotaką po išemijos-reperfuzijos. Derinimas su DCA leidžia sumažinti inotropinių preparatų (dopamino, epinefrino, efedrino, fenilefrino, dobutamino) dozes

pagerėjus širdies indekso rodikliams. 50 mg/kg DCA skiriama infuzijomis į veną naujagimiams, vaikams, suaugusiems; vartojamas kartu su inotropiniais preparatais apsaugo miokardą nuo pažeidimo. DCA pagerina miokardo funkcijos atstatymą ir metabolizmą po išemijos epizodų (širdies operacijos, hemoraginio šoko, hipoksijos metu). US 8609724 aprašo DCA ir jo cheminių ekvivalentų vartojimą vėžio gydymui siekiant indukuoti apoptozę ar sumažinant rezistentiškumą apoptozei. Leidžiama nuo 10 iki 100 mg/kg natrio DCA kartu su kitais pro-apoptoziniais preparatais ar chemoterapija gydant nesmulkiąsą plaučių, krūties vėžį ir glioblastomą.

US 20140066482 ir EP2026787 atskleidžia nuo insulino nepriklausomo diabeto gydymą, derinant registruotus preparatus repaglinidą ir metforminą. Repaglinidas skatina insulino išlaisvinimą iš kasos β-ląstelių, o metforminas mažina rezistentiškumą insulinui, slopina gliukozės gamybą kepenyse, didina raumeninio ir riebalinio audinio jautrumą insulinui. Derinio junginiai skiriasi chemine formule, farmakokinetika ir farmakologinio veikimo mechanizmais. Patentuotas derinio preparatas sukelia sinergistinį dviejų komponentų poveikį gydant nuo insulino nepriklausomą diabetą.

TRUMPAS IŠRADIMO APRAŠYMAS

Išradimo tikslas yra pateikti naują veikliųjų medžiagų derinį, kuris apima (a) dichloroacetato (DCA) arba jo farmaciniu požiūriu priimtinos druskos ir (b) valpro rūgšties (VPA) arba jos farmaciniu požiūriu priimtinos druskos veiksmingą kiekį. Viena iš įgyvendinimo variantų dichloroacetato farmaciniu požiūriu priimtina druska yra natrio dichloroacetatas arba magnio dichloroacetatas. Efektyvus VPA–DCA magnio druskų derinio poveikis svarbus gerinant Mg^{2+} jonų balansą organizme. Mg^{2+} jonai yra svarbūs slopinant naviko genezę.

Kitame šio išradimo įgyvendinimo variante valpro rūgšties farmaciniu požiūriu priimtina druska yra natrio valproatas arba magnio valproatas.

Minėtame išradime paruošiama farmacinė kompozicija, apimanti veikliųjų medžiagų derinį kartu su farmaciniu požiūriu priimtinomis pagalbinėmis medžiagomis.

VPA–DCA derinys yra skirtas panaudoti medicinoje, konkrečiai vėžio gydymui. Šis derinys pasižymi nauju farmakologiniu DCA ir VPA veikimo mechanizmu: abu preparatai inhibuoja ląstelių $Na^+-K^+-2Cl^-$ nešiklį (NKCC1) žiurkių timocituose ir inkstų kanalėliuose (NKCC2); NKCC1 svarbus navikų tumorogenezės raidai, susijusiai su

padidėjusia naviko ląstelės NKCC1 raiška ir nešiklio aktyvumu [5,6]; šis VPA ir DCA farmakologinis poveikis mažina Na^+ ir Cl^- kiekį naviko ląstelėse ir ekstraląstelinėje aplinkoje. Sumažėjusi intraląstelinė Cl^- anijonų koncentracija susijusi su sumažėjusia navikinių ląstelių proliferacija, padidėjusia jų apoptoze. Minėtas derinys mažina gliukozės koncentraciją serume, slopina aerobinę glikolizę, slopina naviko ląstelių proliferaciją *in vivo* ir *in vitro*.

Ikiklinikiniai tyrimai rodo, kad DCA ir VPA, skiriant kartu su spinduline terapija ir/arba chemoterapija, atitolina rezistentiškumo chemoterapijai ar spinduliniam gydymui raidą [2,4]. Minėtas derinys yra skiriamas kartu su T-ląstelių receptorių-inžinerinių T-ląstelių terapija arba chimerinių antigeno receptorių T-ląstelių terapija. Mūsų atlikti eksperimentiniai tyrimai leidžia teigti, kad gydymo VPA–DCA derinio taikymas duoda priešvėžinį tiriamojo preparato sudedamųjų dalių sinergistinį poveikį, slopina T ląstelių proliferaciją, indukuoja apoptozę, slopina naviko augimą *in vivo*, o tai leidžia mažinti DCA dozes ir nepageidaujamo poveikio riziką.

Veikliųjų medžiagų derinys yra skirtas panaudoti solidiniams navikams, hematologiniam vėžiui ir/arba kamieninių ląstelių kilmės vėžiui gydyti. Vėžys yra parinktas iš gliomos, neuroblastomos, melanomos, kepenų ląstelių karcinomos, daugybinės mielomos, retinoblastomos, plaučių adenokarcinomos, smulkialąstelinio plaučių, nesmulkialąstelinio plaučių, prostatos, inkstų, kiaušidžių, skrandžio, storosios žarnos ir tiesiosios žarnos, kasos, šlapimo pūslės, gimdos kaklelio, krūties, galvos ir kaklo, seilių liaukos vėžio. Minėtas derinys yra taikomas sergančio vėžiu, kuriam kartu yra hiperglikemija, susijusi su metaboliniu sindromu, gydymui.

Veikliųjų medžiagų derinys, apimantis dichloroacetatą (DCA) arba jo farmaciniu požiūriu priimtina druską ir (b) valpro rūgštį (VPA) arba jos farmaciniu požiūriu priimtina druską yra skiriami kaip sudėtinis preparatas ar skiriami kartu arba paeiliui kaip atskiri vaistiniai preparatai. Vėžio gydymas minėtu veikliųjų medžiagų deriniu yra taikomas vykdant ikiklinikinius ir klinikinius tyrimus.

TRUMPAS BRĖŽINIŲ APRAŠYMAS

1 paveikslas. Kontrolinių ir VPA–DCA gydytų žiurkių gliukozės koncentracija kraujo serume.

2 paveikslas. Kontrolinių ir VPA–DCA gydytų žiurkių 24 valandų diurezė.

3 paveikslas. Kontrolinių ir VPA–DCA gydytų žiurkių 24 valandų jonų ekskrecija paros šlapime po 28 dienų gydymo.

4 paveikslas. Kontrolės ir VPA–DCA gydytų žiurkių patinų NKCC1 nešiklio RNR raiška timocituose.

5 paveikslas. Kontrolinių ir VPA–DCA gydytų žiurkių čiobrialiaukės svoris.

6 paveikslas. DCA ir VPA–DCA derinio poveikis glioblastomos (GB) transplantuotam ant viščiuko chorioalantojinės membranos navikui.

7 paveikslas. DCA ir VPA derinio veiksmingumas pelių plaučių navikų raidai.

8 paveikslas. DCA ir VPA farmakologinio poveikio mechanizmai, VPA–DCA derinio priešvėžinis sinergistinis poveikis (schema).

DETALUS IŠRADIMO APRAŠYMAS

VPA ir DCA yra tiriamieji vaistiniai preparatai, pasižymintys priešvėžiniu poveikiu. VPA–DCA gali būti svarbi pagalbinė priešvėžinio gydymo schemų dalis. DCA inhibuoja piruvato dehidrogenazės (PDHG) kinazės daugelio įvairios lokalizacijos navikų ląstelėse; VPA yra histono deacetilazių (HDAC) inhibitorius [2–4].

VPA taikymas vėžio gydymui. VPA preparatai naudojami neurologinių ligų gydymui: terapinė indikacija epilepsijai gydyti registruota prieš 6 dešimtmečius. Vykdomi VPA priešvėžinio poveikio ikiklinikiniai ir klinikiniai tyrimai. VPA yra epigenetinis kancerogenezės reguliatorius. VPA indukuoja epigenetinę Ia HDAC klasės (HDAC1 ir HDAC2), Ib klasės (HDAC3), Ic klasės (HDAC8) ir IIa klasės (HDAC4, HDAC5, ir HDAC7) inhibiciją, didina nukleosomą sudarančių histonų H2, H3, ir H4 acetilinimą, chromatino kondensaciją, kurie modifikuoja onkogenų tildymo, vėžį slopinančių transkripcijos veiksmų aktyvinimo mechanizmus, susijusius su apoptoze, ląstelių diferenciacija, ląstelių ciklu ir angiogenezės slopinimu [7–11]. HDAC padidėjusi raiška yra vėžio piktybiškumo rodiklis [12,13]. VPA slopina naviko ląstelių proliferaciją, skatina jų apoptozę, slopina neoangiogenezę [14]; mažina GB ląstelių branduolių proliferacijos antigeno raišką, susijusią su GB naviko augimu, ląstelių apoptoze *in vivo* [15]. VPA priešvėžinis poveikis ląstelėje susijęs su aktyvių deguonies radikalų produkcija [15,16], lemiančia GB ląstelių apoptozę, autofagiją [17]. VPA yra imuninio atsako modulatorius, gali medijuoti imuniteto lemą naviko ląstelių žūtį. Gydant GB VPA ir temozolomidu, buvo nustatytas adaptyvus imuninis atsakas *in vivo* ir *in vitro* [18]; VPA slopina žiurkių timocitų NKCC1 RNR ekspresiją [6].

Ikiklinikiniai tyrimai parodė, kad VPA slopina glioblastomos, neuroblastomos, krūties, kiaušidžių, gimdos kaklelio, kolorektalinio, prostatos, skydliaukės, kepenų vėžio, melanomos, Ackin, kiaušidžių navikų raidą [3,19–21].

VPA didina jautrumą inkstų vėžio chemoterapijai įvairiais vaistais [22,23]; sorafenibo–VPA derinys sinergistiškai inhibuoja kepenų vėžio ląstelių gyvybingumą, indukuoja apoptozę [24]. VPA reikšmingai didina kiaušidžių vėžio ląstelių apoptozę, jautrumą cisplatinos poveikiui [21]. Skiriant valpro rūgštį kartu su rapamicinu ar temozolomidu, autofaginis poveikis stiprėja [17]. VPA–bevacizumabo derinys kartu su gemcitabinu ir docetakseliu slopina rezistentiškumą chemoterapijai [25]. VPA poveikis sustiprėja kartu vartojant irinotekaną ar etopozidą; VPA ir etopozido derinys pasižymi didesniu citotoksiniu poveikiu GB ląstelėms ir didesniu GB naviko jautrumu chemoterapijai [10,26]; sinergistinis antiproliferacinis ar padidėjęs GB naviko jautrumas nustatytas vartojant VPA kartu su mitoksantronu, etopozidu [11]. VPA kartu su temozolomidu arba su taksoliu didina apoptozinį poveikį GB ląstelėms, slopina rezistentiškumo daugeliui vaistų baltymo aktyvumą [27].

VPA yra priešvėžinis tiriamasis preparatas, vartojamas kartu su spinduline terapija: VPA indukavo pirminių GB ląstelių jautrumą spinduliniam gydymui – stebėtas navikų ląstelių išgyvenamumo mažėjimas, padidėjęs γ-radiacijos indukuotas citotoksiškumas [28]. VPA padidino gydymo temozolomidu jautrumą spindulinei terapijai GB ląstelių, kurios buvo rezistentiškos temozolomidui, – tai susiję su apoptozės ir autofagijos ląstelių žūtimi, ląstelių ciklo G2 ar G2M fazėje skaičiaus padidėjimu [29–31].

DCA priešvėžinis poveikis. DCA yra priešvėžinis tiriamasis vaistinis preparatas, kurio poveikis nustatytas ikiklinikiniais ir klinikiniais tyrimais. DCA, mitochondrijų metabolizmo vėžinėse ląstelėse reguliatorius, lemia vėžio ląstelių metabolizmo pakitimus – pakeičia jų glikolitinį fenotipą [32–35]. Pagrindiniai DCA farmakologinio poveikio mechanizmai yra šie: (1) DCA inhibuoja piruvato dehidrogenazės (PDHG) kinazes ir taip palaiko aktyvų piruvato dehidrogenazių kompleksą (PDK), skatina piruvato ir gliukozės metabolizmą mitochondrijose. Įvairių navikų ląstelėse PDHG kinazių izoformų raiška yra padidėjusi; PDHG kinazės yra vėžio terapijos taikiny. Įvairios lokalizacijos navikų metabolizmui būdingas sumažėjęs oksidacinis fosforinimas mitochondrijose ir aktyvesnė aerobinė glikolizė – fenomenas žinomas Warburgo efekto pavadinimu, o tai lemia naviko ląstelių didesnį atsparumą apoptozei, kuri susijusi su naviko audinyje padidėjusia pieno rūgšties

produkcija. DCA gydymas mažina pieno rūgšties sintezę naviko ląstelėse ir tarpląstelinėje aplinkoje [33,36–39].

(2) Gydymas DCA skatina generavimą aktyvių oksidacijos radikalų, kurie lemia įvairius navikinių ląstelių pro-apoptotinius pokyčius [37,40].

(3) Mūsų eksperimentiniai tyrimai atskleidė naują DCA veikimo mechanizmą – žiurkėms DCA lėmė diuretinį poveikį, susijusį su Na-K-2Cl nešiklio (NKCC2) inhibicija inkstuose: padidintu Na^+ , Cl^- ir K^+ bei Mg^{2+} ir Ca^{2+} jonų išsiskyrimu su šlapimu bei NKCC1 RNR raiškos inhibiciją timocituose [5,41]. NKCC1 yra vėžio žymuo ir naviko progresavimo taikynys; jis reguliuoja ląstelių proliferaciją, apoptozę, naviko invaziją; padidėjęs NKCC aktyvumas susijęs su ląstelės ciklo progresu, ląstelės tūriu [42–46]. NKCC aktyvumą slopina oksidacinis stresas (aktyviųjų radikalų poveikis) [40,47].

(4) Ikiklinikiniai tyrimai rodo sinergistinį DCA derinių su kitais registruotais priešvėžiniais preparatais ar su spinduline terapija poveikį, atitolina rezistentiškumą chemoterapijai, skatina vėžio ląstelių apoptozę arba padidina ar sumažina priešvėžinių vaistų citotoksiškumą [48–50].

DCA skatina mitochondrijų funkciją ir slopina piruvato konversiją į pieno rūgštį ir alaniną [51,52], slopina pieno rūgšties acidozės (laktatacidozės) raidą naviko mikroaplinkoje [53–55]. Pieno rūgštis yra uždegimo mediatorius; padidėjusią jos koncentraciją navike lydi padidėjęs T limfocitų ir makrofagų IL-17A išlaisvinimas, lėtinis uždegimo aktyvinimas [56]. Pieno rūgštis slopina monocitų migraciją, jų citokinų išlaisvinimą [57,58], indukuoja kraujagyslių endotelio augimo faktoriaus produkciją, IL-8 ekspresiją kasos, kiaušidžių vėžio audinyje [58,59], skatina TNF- α produkciją [60]. DCA slopina įgytos laktatacidozės raidą, kuri susijusi su naviko recidyvu, jo metastazavimu ir blogesne vėžio prognoze [61–63]. Laktatacidozė siejama su rezistentiškumu spindulinei terapijai [60], chemoterapijai [64–66]; ji mažina doksorubicino, mitoksantrono ir daunorubicino veiksmingumą [67–69]. Moterys labiau linkę laktatacidozei [70]; estrogenai skatina, o testosteronas slopina pieno rūgšties produkciją [71].

Vienas iš solidinio naviko atsparumo terapijai veiksnių yra naviko audinio hipoksija [72,73]. DCA gydymas slopina hipoksijos indukuoto faktoriaus (HIF-1) genų reprodukciją ląstelėje [74]. HIF-1 aktyvumas tiesiogiai susijęs su PDK1 raiška ir laktatacidoze [75].

Gydymas DCA įtakoja didesnę T limfocitų infiltraciją į naviką, o tai indukuoja stipresnį imuninį poveikį tumorui [76], kuris taip pat gali būti susijęs su pieno rūgšties sumažėjimu navike ir jo mikroaplinkoje; padidėjusi pieno rūgšties koncentracija slopina T limfocitų

funkciją [66]. Mūsų žiurkių čiobrialaukės tyrimai parodė, kad DCA veikia T limfocitų proliferaciją, NKCC1 ekspresiją juose, o šis poveikis priklauso nuo lyties ir lytinių hormonų [41].

DCA priešvėžinis poveikis pasireiškia neoangiogenezės slopinimu [54,76,77].

Ikiklinikiniai tyrimai parodė, kad DCA būdinga sinergistinis poveikis, vartojant kartu su kitais priešvėžiniais preparatais siekiant modifikuoti oksidacinį stresą, neoangiogenezę, imuninį atsaką; DCA–arginazės derinys pasižymi stipresniu poveikiu *in vivo* slopinant krūties vėžio augimą [48]; bevacizumabo–DCA derinys reikšmingai slopina pelių patelėms transplantuotų gliomos kamieninių ląstelių navikų augimą, neoangiogenezę [78]; DCA–doksorubicino derinys gali būti svarbus gerinant krūties vėžio chemoterapijos strategiją [79]; galvos ir kaklo navikai su PDK2 hiperekspresija yra atsparūs cisplatinai; DCA reikšmingai mažina jų atsparumą cisplatinai *in vitro* ir *in vivo* [80]; DCA–paklitakselio derinys sumažina paklitakseliui atsparių plaučių vėžio ląstelių išgyvenamumą: šių ląstelių atsparumas chemoterapijai susijęs su PDK2 hiperekspresija, o papildoma DCA terapija mažina rezistentiškumą paklitakseliui [81]; DCA–vemurafenibo derinys yra potencialus gydant melanomą [82]; DCA mažina pelių patinų hepatoceliulinės karcinomos atsparumą sorafenibui [83]; DCA–kapecitabino derinys pagerina priešvėžinį poveikį pelių B16 melanomos ir pelių patinams persodintiems žmogaus plaučių vėžio ksenotransplantatams [84]; DCA–paklitakselio derinys slopina pelių patinų plaučių adenokarcinomos atsparumo paklitakseliui raidą [85]; DCA–bortezomibo derinys reikšmingai padidina pelių su daugybinės mielomos ksenotransplantatais išgyvenamumą [86].

Spindulinės terapijos kartu su DCA pelių patelių glioblastomos naviko modelio taikymas parodė, kad DCA poveikis susijęs su didesniu jautrumu spindulinei terapijai, lemia aiškų G₂–M fazės ciklo ląstelių skaičiaus padidėjimą, didina pelių patelių su GB išgyvenamumą [87]. DCA, kaip papildomas preparatas, galėtų būti perspektyvus gydant vėžį, rezistentišką spinduliniam gydymui ir chemoterapijai.

DCA priešvėžinio poveikio klinikinių tyrimų metu taikyta preparato dozė buvo nuo 10 iki 17 mg/kg parai *per os* skiriant ilgalaikį glioblastomos, smulkialąstelinio plaučių vėžio, melanomos ir storosios žarnos vėžio gydymą, – skiriant minėtas DCA dozes gyvenimo kokybė nepablogėjo [88–93]. Įgimtos laktacidozės I–III fazės DCA klinikiniai tyrimai parodė, kad vaikams DCA skiriant *per os* yra saugus gydymo metodas, – nenustatyta toksinio poveikio inkstų, plaučių, kaulų čiulpų, širdies funkcijai [94]. Dažniausia DCA

nepageidaujama reakcija – nesunki periferinė neuropatija [95]. Papildomai su chemoterapija skiriant VPA yra slopinama periferinės neuropatijos raida [96].

Sinergistinio priešvėžinio VPA–DCA poveikio pagrindimas

DCA ir VPA druskų derinių sąveikos tirpale ar druskų mišiniuose charakterizavimas.

Natrio dichloroacetatas yra puikiai vandenyje tirpstanti druska, ji yra stiprus elektrolitas ir tirpale visiškai jonizuojasi. Tai stipriosios rūgšties (Cl_2HCOOH) ir stipriosios bazės (NaOH) druska [97], todėl vandeniniame tirpale druskos jonų hidrolizė nevyksta, tirpalo terpė praktiškai neutrali, tarp druskos jonų tirpale cheminės sąveikos nėra. Dichloroacetato ir valpro rūgšties druskų cheminė formulė ir struktūra yra pateikta žemiau 1 lentelėje.

1 lentelė

Medžiaga		Formulė	Struktūrinė formulė
DERINYS	Natrio dichloroacetatas	$\text{Cl}_2\text{CHCOONa}$	
	Natrio valproatas	$(\text{C}_3\text{H}_7)_2\text{CHCOONa}$	
DERINYS	Magnio dichloroacetatas	$(\text{Cl}_2\text{CHCOO})_2\text{Mg}$	
	Magnio valproatas	$((\text{C}_3\text{H}_7)_2\text{CHCOO})_2\text{Mg}$	

Norint charakterizuoti jonų būvį tirpale, galima paskaičiuoti vadinamąsias efektyviasias (sąlygines) jonų koncentracijas c_{ef} :

$c_{ef} = f \times c$, kur f yra bedimensinis jono aktyvumo koeficientas; praskiestuose tirpaluose f priklauso nuo jono krūvio z ir tirpalo joninės jėgos I :

$\lg f = -0,5 \times z^2 \times I^{0,5}$. Jeigu tirpalo koncentracija, pvz. 0,1 mol/l, tai

$I = 0,1$ ir $\lg f(\text{Na}^+ \text{ ir } \text{Cl}_2\text{HCOO}^- \text{ jonams}) = -0,5 \times (1)^2 \times 0,1^{0,5} = -0,158$,

$f = 10^{-0,158} = 0,7$; tai $c_{ef}(\text{Na}^+) = c_{ef}(\text{Cl}_2\text{HCOO}^-) = 0,7 \times 0,1 = 0,07 \text{ mol/l}$.

Tirpalo jonų aktyvumų teoriniai paskaičiavimai rodo, kad sąveikos tarp druskų derinių nėra, o deriniai neįtakoja anijonų biologinio aktyvumo, kuris priklauso tik nuo jų skaičiaus tūrio vienetė, t. y., nuo jų koncentracijos terpėje.

Nurodytieji teiginiai tinka ir natrio valproato vandeniniam tirpalui, kuriame yra stipriosios bazės (NaOH) ir silpnosios valpro rūgšties ($\text{C}_3\text{H}_7)_2\text{CHOOH}$) druskos vandeninio tirpalo [98] (1 lentelė). Valpro rūgšties sisteminės nomenklatūros pavadinimas yra 2-propil-pentano rūgštis, kurios anijonas hidrolizuoja:

$(\text{C}_3\text{H}_7)_2\text{CHCOO}^-(\text{aq}) + \text{H}_2\text{O}(\text{s}) \leftrightarrow (\text{C}_3\text{H}_7)_2\text{CHCOOH}(\text{aq}) + \text{OH}^-(\text{aq})$. Terpė tampa šiek tiek bazine. Šios rūgšties jonizacijos pusiausvyros konstanta $K_r = 2,2 \cdot 10^{-5}$, pagal ją hidrolizės reakcijos pusiausvyros konstanta $K_h = K_{\text{H}_2\text{O}}/K_r = 1 \cdot 10^{-14}/2,2 \cdot 10^{-5} = 4 \cdot 10^{-10}$. Iš čia rūgšties jono hidrolizės laipsnis $h = (K_h/c)^{0,5} = (4 \cdot 10^{-10}/0,1)^{0,5} = 6,3 \cdot 10^{-5}$ arba 0,006 %. Taigi, anijono koncentracijos sumažėjimas dėl hidrolizės yra nykstamai mažas, jo biologinis aktyvumas visiškai nesikeičia. Abiejų druskų – natrio dichloroacetato ir natrio valproato – derinio tirpalas yra vienalytis jonų mišinys, kuriame cheminės sąveikos tarp derinio jonų beveik nėra, kaip ir atskiruose druskų tirpaluose. Biologiniam anijonų aktyvumui mišinyje jokia jonų cheminė sąveika netrukdo, jų aktyvumas priklauso tik nuo jų kiekio, t. y. nuo koncentracijos [98].

Esant kambario temperatūrai, abiejų minėtų kietų susmulkintų druskų deriniuose, kurie yra mechaniniai katijonų ir anijonų mišiniai, jokie kietafaziai tarpjoniniai virsmai nevyksta, tokių mechaninių mišinių biologinės savybės priklauso tik nuo sumaišytų druskų kiekių santykio. Tai rodo, kad yra galima šių druskų derinių farmacinė forma.

Naudojant atitinkamų magnio druskų, kurios yra mažiau tirpios už natrio druskas, vandeninius tirpalus ir kietus mišinius, situacija panaši. Tik magnio druskų, kurios yra silpnųjų bazių ir silpnųjų rūgščių dariniai, tirpaluose šiek tiek ryškiau pasireiškia druskų jonų hidrolizės procesai. Atlikti skaičiavimai rodo, kad tos hidrolizės poveikis pradinių jonų

koncentracijoms yra nedidelis ir iš esmės nekeičia esamų anijonų koncentracijų, tuo pačiu ir jų biologinio aktyvumo. Natrio ir magnio valproato tirpalų ir druskų farmacinių formų vaistai yra registruoti [99–101].

Sinergistinis VPA–DCA poveikis slopinant aerobinę glikolizę. Abi sudėtinės derinio preparato dalys slopina aerobinę glikolizę (Warburgo efektas). Tyrimai rodo, kad VPA inhibuoja aerobinę glikolizę neuroblastomos ląstelėse, slopinant gliukozės patekimą į ląstelę, mažinant laktato ir ATF gamybą. VPA aerobinę glikolizę slopina mažinant kiekį E2F transkripcijos faktoriaus 1 (E2F1), kuris slopina gliukozės-6-fosfato izomerazės ir fosfoglicerato pinazės 1 (PGK1) raišką [102]. DCA slopina aerobinę glikolizę inhibuojant piruvato dehidrogenazės kinazes ir taip išlaikant aktyvų piruvato dehidrogenazių kompleksą; per šiuos mechanizmus VPA–DCA skatina navikinių ląstelių mitochondrinį gliukozės metabolizmą.

VPA–DCA mažina gliukozės kiekį kraujo serume. Po gydymo (VPA–DCA 28 dienas skiriant *per os* geriamąjį vandeninį tirpalą) žiurkių patinų kraujo serumo gliukozės kiekis buvo statistiškai reikšmingai sumažėjęs: kontrolinėje grupėje buvo 6,37 (3,90–8,81) mmol/L, VPA–DCA deriniu gydytoje grupėje buvo 3,13 (2,17–3,78) mmol/L. 1 paveiksle pateikta kontrolinių ir VPA–DCA gydytų žiurkių gliukozės koncentracija kraujo serume. Duomenys (mmol/L) pateikti mediana (horizontalus ilgas brūkšnys), mažiausiomis ar didžiausiomis reikšmėmis (maži horizontalūs brūkšniai). Taigi, VPA–DCA turi tiesioginį poveikį kraujo serumo gliukozės koncentracijai ir naviko progresavimui. Viena iš navikų gydymo strategijų – kraujo serumo gliukozės koncentracijos mažinimas [103].

Sinergistinis VPA–DCA poveikis paros diurezei. Skiriant žiurkių patinams ilgalaikį gydymą VPA–DCA (*per os* vandeniniu tirpalu), nustatyta reikšmingai padidėjusi paros diurezė 100 g žiurkės svorio; lyginant su kontrole ji buvo atitinkamai 3,95 (3,2–5,74) ml ir 2,83 (0,95–4,3) ml. 2 paveiksle pavaizduota kontrolinių ir VPA–DCA gydytų žiurkių 24 valandų diurezė. Diurezė pateikta ml / 100 g žiurkės svorio: mediana (horizontalus ilgas brūkšnys) ir mažiausia bei didžiausia reikšmės (maži horizontalūs brūkšniai).

Sinergistinis VPA ir DCA poveikis Na^+ ir Cl^- jonų apykaitai. Mūsų ikiklinikiniai tyrimai pirmą kartą parodė, kad VPA ir DCA inhibuoja žiurkių NKCC2 nešiklį [5,104]. Žiurkių patinų, gydytų 28 paras VPA–DCA, 28 paros diurezės padidėjimas yra susijęs su sinergistiniu VPA–DCA poveikiu Na^+ K^+ ir Cl^- jonų išsiskyrimui su paros šlapimu. Kontrolinėje grupėje paros šlapimo Na^+ išsiskyrimas – 0,278 (0,095–0,390) mmol / 100 g žiurkės svorio, o VPA–DCA gydytų – 0,376 (0,304–0,530) mmol; atitinkamai K^+

išsiskyrimas – 0,374 (0,319–0,471) ir 0,465 (0,388–0,638) mmol / 100 g svorio; nustatytas ir chlorido kiekio paros šlapime aiškus padidėjimas: kontrolinėje grupėje 0,181 (0,063–0,246) mmol / 100 g svorio, VPA–DCA gydytoje grupėje – 0,242 (0,198–0,34) mmol / 100 g svorio. 3 paveiksle pavaizduota kontrolinių ir VPA–DCA gydytų žiurkių 24 valandų jonų ekskrecija paros šlapime po 28 dienų gydymo. Duomenys pateikti mmol / 100 g žiurkės svorio – mediana (horizontalus ilgas brūkšnys) ir mažiausia bei didžiausia reikšmėmis (maži horizontalūs brūkšniai).

Padidinta natrio chlorido (NaCl) koncentracija terpėje sietina su Warburgo efekto, laktato acidozės raida naviko ląstelėse, jų aktyvesne proliferacija *in vitro*; NaCl medijuoja naviko proangiogeninį poveikį [105–107]. Turtinga NaCl dieta, padidėjusi NaCl koncentracija ekstraląstelinėje terpėje indukuoja uždegimo kaskadas, susijusias su kancerogeneze [108].

Sinergistinis VPA ir DCA poveikis žiurkių NKCC1 RNR raiškai timocituose.

Analizuojant raiškos pokyčius žiurkių timocituose po gydymo VPA–DCA, nustatyta statistiškai reikšmingai didesnė ΔCT reikšmė VPA–DCA gydytų žiurkių patinų grupėje, lyginant su kontrole (atitinkamai 6,174 ir 5,106). Nešiklį koduojančio geno raiška po gydymo deriniu sumažėjo 52 %, lyginant su kontroline grupe. 4 paveiksle pavaizduota kontrolės ir VPA–DCA gydytų žiurkių patinų NKCC1 nešiklio RNR raiška timocituose. A – ΔCT reikšmė, gaunama NKCC1 nešiklio (*Slc12a2* geno) raišką normalizavus su *Gapdh* geno raiška (mediana (horizontalus ilgas brūkšnys) ir mažiausia bei didžiausia reikšmės (maži horizontalūs brūkšniai)); B – NKCC1 nešiklio raiškos pokyčiai nustatyti taikant $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodą; $^a p = 0,041$, lyginant su kontrole.

Iš klinikinių tyrimų rodo, kad NKCC inhibitoriai mažina intraląstelinio Cl^- koncentraciją ($[Cl^-]_i$); padidėjusi $[Cl^-]_i$ svarbi tumorų genezei, ląstelių proliferacijai, naviko progresavimui [109,110]. VPA, DCA slopina žiurkių timocitų proliferaciją, ląstelės ciklą *in vivo* [41,111,112].

Sinergistinis VPA ir DCA poveikis žiurkių patinų čiobrialiaukės svoriui. Ilgalaikis gydymas VPA–DCA (28 dienas *girdant* vandeninį tirpalą) lėmė statistiškai reikšmingą čiobrialiaukės svorio sumažėjimą VPA–DCA gydytoje grupėje, lyginant su kontrole (atitinkamai – 0,423 (0,305–0,463) g ir 0,485 (0,444–0,685) g). Čiobrialiaukės svorio sumažėjimas sietinas su timocitų proliferacijos slopinimu. 5 paveiksle pavaizduotas kontrolinių ir VPA–DCA gydytų žiurkių čiobrialiaukės svoris. Pateikta svorio mediana

(horizontalus ilgas brūkšnis) ir mažiausia bei didžiausia reikšmės (maži horizontalūs brūkšniai).

Sinergistinis VPA ir DCA poveikis glioblastomos naviko (GB) transplantatui ant viščiuko embriono chorioalantojinės membranos (CAM). 6 paveiksle pateiktas DCA ir VPA–DCA poveikis suformuotiems glioblastomos U87 ląstelių linijos navikams ant CAM. Nustatyta, kad kontrolinėje grupėje 90,9 % atvejų GB invazavo į CAM mezenchimą (A – a ir B). GB gydant 10 mM NaDCA, invazija į CAM mezenchimą nustatyta 50 % atvejų (A – b ir B). GB gydant 5 mM MgDCA, invazijų dažnis – 14,3 % (B). 4 mM VPA ir 5 mM DCA deriniu gydytoje grupėje invazijos dažnis į CAM mezenchimą buvo 9,1 % (A – c ir B). Penktą parą po GB naviko transplantacijos į kraujagyslę suleidus fluorescuojančio dekstrano tirpalo, nustatyti kontrolinės GB grupės ir gydytų VPA–DCA angiogenezės skirtumai: GB grupės navike matomas aplink naviką susiformavęs kraujagyslių „stipininis ratelis“ (C – a); GB-4 mM VPA–5 mM DCA gydytų grupėje pritrauktų kraujagyslių skaičius žymiai sumažėjo, naviko švytėjimas silpnėjęs, nei kontrolinės grupės navike (C – b).

6 paveiksle pavaizduotas DCA ir VPA–DCA derinio poveikis GB transplantuotam ant viščiuko chorioalantojinės membranos navikui. A – chorioalantojinės membranos morfologiniai pokyčiai tirtose grupėse: a – navikas suformuotas iš glioblastomos U87 MG ląstelių; GB pažeidė choriono epitelio (ChE) vientisumą (pažymėta rodyklėmis), invazavo į CAM mezenchimą; b – GB gydyta 10 mM NaDCA; invazijos į CAM mezenchimą nenustatyta, ChE pažeidimas prasidėjęs (vieta pažymėta rodykle); c – GB gydyta su 4 mM VPA ir 5 mM DCA deriniu; GB susiformavęs CAM paviršiuje, ChE vientisumas pažeistas (vieta pažymėta rodykle), CAM suplonėjusi (skalė – 200 μ m). B – GB naviko invazijos dažnis į CAM mezenchimą tirtose grupėse: kontrolė – negydyti glioblastomos U87 MG navikai (n = 11), gydyta su 10 mM natrio DCA (GB-10 mM NaDCA; n = 14), gydyti su 5 mM magnio DCA (GB-5 mM MgDCA; n = 7) ir gydyti su 5 mM NaDCA ir 2 mM natrio VPA deriniu (GB-VPA–DCA; n = 11). C – 5-tos paros po transplantacijos ant CAM naviko angiogenezės fluorescencinė biomikroskopija: a – negydyti GB navikai, b – GB-4 mM VPA–5 mM DCA grupė; gydyto VPA–DCA naviko švytėjimas silpnėjęs lyginant su kontrolinės grupės naviku; a ir b – trumpa rodyklė žymi naviko pritrauktas kraujagysles, ilga rodyklė žymi naviką (skalė – 1 mm).

Sinergistinis VPA ir DCA poveikis uretanu indukuotoms pelių plaučių adenomoms ir adenokarcinomoms. VPA ir DCA buvo skiriami pakaitomis (po savaitę per os geriamuosiuose tirpaluose) 6 mėnesius. Tyrimo duomenys rodo, kad gydymas uretanu

indukuotų pelių plaučių adenomų iniciacijos procesui poveikio neturėjo, tačiau toks VPA ir DCA pakaitinis poveikis reikšmingai slopino pelių plaučių adenomų suvėžėjimą (adenokarcinomos iniciacijos slopinimas). Adenokarcinomos pelių plaučiuose buvo nustatomos indukavus uretanu po 6 mėnesių; adenokarcinomos navikai dažniausiai buvo $> 1,5$ mm, o gerybinės adenomos buvo $< 1,5$ mm skersmens [113]. 7 paveiksle pavaizduotas DCA ir VPA derinio veiksmingumas pelių plaučių navikų raidai.

A. **a** – makroskopinis pelių uretanu indukuotų plaučių navikų vaizdas; **b** ir **c** – adenokarcinomos histologinis vaizdas (padidininimas: **b** – 4×10 ; **c** – 40×10).

B. Pelių patelių, indukuotų uretanu ir gydytų VPA ir DCA pakaitomis po savaitę (VPA+DCA), didesnių navikų skersmens pogrupyje ($> 1,5$ mm) nustatytas navikų skaičiaus sumažėjimas, lyginant su kontroline grupe.

C. Pelių patelių, gydytų VPA+DCA deriniu, grupėje nustatytas statistiškai reikšmingai mažesnis adenokarcinomų skaičius ($0,82 \pm 1,1$), lyginant su kontroline grupe ($2,0 \pm 0,7$).

8 paveiksle pavaizduoti DCA ir valpro rūgšties farmakologinio poveikio mechanizmai, VPA–DCA derinio priešvėžinis sinergistinio poveikio schema.

VPA–DCA yra potencialus naujas priešvėžinis preparatas. VPA–DCA gali leisti mažinti DCA dozę ir mažinti preparato sudedamųjų dalių nepageidaujamo poveikio riziką. VPA–DCA papildomas gydymas leistų gerinti priešvėžinį terapinį veiksmingumą.

Literatūros šaltiniai

1. Toffenetti JT, C. C. Strategies for Patenting Combination Therapies | GEN - Genetic Engineering and Biotechnology News <https://www.genengnews.com/magazine/strategies-for-patenting-combination-therapies/> (accessed Oct 15, 2019).
2. Stakišaitis, D.; Juknevičienė, M.; Damanskienė, E.; Valančiūtė, A.; Balnytė, I.; Alonso, M. M. The Importance of Gender-Related Anticancer Research on Mitochondrial Regulator Sodium Dichloroacetate in Preclinical Studies In Vivo. *Cancers (Basel)*, **2019**, *11* (8), 1210.
3. Göttlicher, M.; Minucci, S.; Zhu, P.; Krämer, O. H.; Schimpf, A.; Giavara, S.; Sleeman, J. P.; Lo Coco, F.; Nervi, C.; Pelicci, P. G.; et al. Valproic Acid Defines a Novel Class of HDAC Inhibitors Inducing Differentiation of Transformed Cells. *EMBO J.*, **2001**, *20* (24), 6969–6978.
4. De Souza, C.; Chatterji, B. P. HDAC Inhibitors as Novel Anti-Cancer Therapeutics. *Recent Pat. Anticancer. Drug Discov.*, **2015**, *10* (2), 145–162.
5. Stanevičiūtė, J.; Juknevičienė, M.; Palubinskienė, J.; Balnytė, I.; Valančiūtė, A.; Vosyliūtė, R.; Sužiedėlis, K.; Lesauskaitė, V.; Stakišaitis, D. Sodium Dichloroacetate Pharmacological Effect as Related to Na–K–2Cl Cotransporter Inhibition in Rats. *Dose-Response*, **2018**, *16* (4), 155932581881152.
6. Juknevičienė, M.; Balnytė, I.; Valančiūtė, A.; Lesauskaitė, V.; Stanevičiūtė, J.; Curkūnavičiūtė, R.; Stakišaitis, D. Valproic Acid Inhibits NA-K-2CL Cotransporter RNA Expression in Male But Not in Female Rat Thymocytes. *Dose-Response*, **2019**, *17* (2), 155932581985244.
7. Ghodke-Puranik, Y.; Thorn, C. F.; Lamba, J. K.; Leeder, J. S.; Song, W.; Birnbaum, A. K.; Altman, R. B.; Klein, T. E. Valproic Acid Pathway: Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *Pharmacogenet. Genomics*, **2013**, *23* (4), 236–241.
8. Khan, O.; La Thangue, N. B. HDAC Inhibitors in Cancer Biology: Emerging Mechanisms and Clinical Applications. *Immunology and Cell Biology*. January 2012, pp 85–94.
9. Falkenberg, K. J.; Johnstone, R. W. Histone Deacetylases and Their Inhibitors in Cancer, Neurological Diseases and Immune Disorders. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2014, pp 673–691.
10. Das, C. M.; Aguilera, D.; Vasquez, H.; Prasad, P.; Zhang, M.; Wolff, J. E.; Gopalakrishnan, V. Valproic Acid Induces P21 and Topoisomerase-II (Alpha/Beta)

Expression and Synergistically Enhances Etoposide Cytotoxicity in Human Glioblastoma Cell Lines. *J. Neurooncol.*, **2007**, *85* (2), 159–170.

11. Ciusani, E.; Balzarotti, M.; Calatozzolo, C.; de Grazia, U.; Boiardi, A.; Salmaggi, A.; Croci, D. Valproic Acid Increases the in Vitro Effects of Nitrosureas on Human Glioma Cell Lines. *Oncol. Res.*, **2007**, *16* (10), 453–463.

12. Kanao, K.; Mikami, S.; Mizuno, R.; Shinojima, T.; Murai, M.; Oya, M. Decreased Acetylation of Histone H3 in Renal Cell Carcinoma: A Potential Target of Histone Deacetylase Inhibitors. *J. Urol.*, **2008**, *180* (3), 1131–1136.

13. Mosashvili, D.; Kahl, P.; Mertens, C.; Holzapfel, S.; Rogenhofer, S.; Hauser, S.; Büttner, R.; Von Ruecker, A.; Müller, S. C.; Ellinger, J. Global Histone Acetylation Levels: Prognostic Relevance in Patients with Renal Cell Carcinoma. *Cancer Sci.*, **2010**, *101* (12), 2664–2669.

14. Knüpfer, M. M.; Hernáiz-Driever, P.; Poppenborg, H.; Wolff, J. E. A.; Cinatl, J. Valproic Acid Inhibits Proliferation and Changes Expression of CD44 and CD56 of Malignant Glioma Cells in Vitro. *Anticancer Res.*, **1998**, *18* (5 A), 3585–3589.

15. Bacon, C. L.; Gallagher, H. C.; Haughey, J. C.; Regan, C. M. Antiproliferative Action of Valproate Is Associated with Aberrant Expression and Nuclear Translocation of Cyclin D3 during the C6 Glioma G1 Phase. *J. Neurochem.*, **2002**, *83* (1), 12–19.

16. Tseng, J.-H.; Chen, C.-Y.; Chen, P.-C.; Hsiao, S.-H.; Fan, C.-C.; Liang, Y.-C.; Chen, C.-P. Valproic Acid Inhibits Glioblastoma Multiforme Cell Growth via Paraoxonase 2 Expression. *Oncotarget*, **2017**, *8* (9), 14666–14679.

17. Fu, J.; Shao, C.-J.; Chen, F.-R.; Ng, H.-K.; Chen, Z.-P. Autophagy Induced by Valproic Acid Is Associated with Oxidative Stress in Glioma Cell Lines. *Neuro. Oncol.*, **2010**, *12* (4), 328–340.

18. Chen, C.-H.; Chang, Y.-J.; Ku, M. S. B.; Chung, K.-T.; Yang, J.-T. Enhancement of Temozolomide-Induced Apoptosis by Valproic Acid in Human Glioma Cell Lines through Redox Regulation. *J. Mol. Med. (Berl.)*, **2011**, *89* (3), 303–315.

19. Papi, A.; Ferreri, A. M.; Rocchi, P.; Guerra, F.; Orlandi, M. Epigenetic Modifiers as Anticancer Drugs: Effectiveness of Valproic Acid in Neural Crest-Derived Tumor Cells. *Anticancer Res.*, **2010**, *30* (2), 535–540.

20. Duenas-Gonzalez, A.; Candelaria, M.; Perez-Plascencia, C.; Perez-Cardenas, E.; de la Cruz-Hernandez, E.; Herrera, L. A. Valproic Acid as Epigenetic

Cancer Drug: Preclinical, Clinical and Transcriptional Effects on Solid Tumors. *Cancer Treat. Rev.*, **2008**, *34* (3), 206–222.

21. Sajadpoor, Z.; Amini-Farsani, Z.; Teimori, H.; Shamsara, M.; Sangtarash, M. H.; Ghasemi-Dehkordi, P.; Yadollahi, F. Valproic Acid Promotes Apoptosis and Cisplatin Sensitivity Through Downregulation of H19 Noncoding RNA in Ovarian A2780 Cells. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **2018**, *185* (4), 1132–1144.
22. Xi, W.; Chen, X.; Sun, J.; Wang, W.; Huo, Y.; Zheng, G.; Wu, J.; Li, Y.; Yang, A.; Wang, T. Combined Treatment with Valproic Acid and 5-Aza-2'-Deoxycytidine Synergistically Inhibits Human Clear Cell Renal Cell Carcinoma Growth and Migration. *Med. Sci. Monit.*, **2018**, *24*, 1034–1043.
23. Juengel, E.; Nowaz, S.; Makarevi, J.; Natsheh, I.; Werner, I.; Nelson, K.; Reiter, M.; Tsaur, I.; Mani, J.; Harder, S.; et al. HDAC-Inhibition Counteracts Everolimus Resistance in Renal Cell Carcinoma in Vitro by Diminishing Cdk2 and Cyclin A. *Mol. Cancer*, **2014**, *13* (1).
24. Zhu, W.; Liang, Q.; Yang, X.; Yu, Y.; Shen, X.; Sun, G. Combination of Sorafenib and Valproic Acid Synergistically Induces Cell Apoptosis and Inhibits Hepatocellular Carcinoma Growth via Down-Regulating Notch3 and PAkt. *Am. J. Cancer Res.*, **2017**, *7* (12), 2503–2514.
25. Monga, V.; Swami, U.; Tanas, M.; Bossler, A.; Mott, S. L.; Smith, B. J.; Milhem, M. A Phase I/II Study Targeting Angiogenesis Using Bevacizumab Combined with Chemotherapy and a Histone Deacetylase Inhibitor (Valproic Acid) in Advanced Sarcomas. *Cancers (Basel)*, **2018**, *10* (2).
26. Osuka, S.; Takano, S.; Watanabe, S.; Ishikawa, E.; Yamamoto, T.; Matsumura, A. Valproic Acid Inhibits Angiogenesis in Vitro and Glioma Angiogenesis in Vivo in the Brain. *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)*, **2012**, *52* (4), 186–193.
27. Roy Choudhury, S.; Karmakar, S.; Banik, N. L.; Ray, S. K. Valproic Acid Induced Differentiation and Potentiated Efficacy of Taxol and Nanotaxol for Controlling Growth of Human Glioblastoma LN18 and T98G Cells. *Neurochem. Res.*, **2011**, *36* (12), 2292–2305.
28. Pont, L. M. E. B.; Naipal, K.; Kloeze-man, J. J.; Venkatesan, S.; van den Bent, M.; van Gent, D. C.; Dirven, C. M. F.; Kanaar, R.; Lamfers, M. L. M.; Leenstra, S. DNA Damage Response and Anti-Apoptotic Proteins Predict Radiosensitization Efficacy of HDAC Inhibitors SAHA and LBH589 in Patient-Derived Glioblastoma Cells. *Cancer Lett.*, **2015**, *356* (2 Pt B), 525–535.

29. Histone deacetylase inhibitor, 2-propylpentanoic acid, increases the chemosensitivity and radiosensitivity of human glioma cell lines in vitro. - PubMed - NCBI
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Histone+deacetylase+inhibitor%2C+2-propylpentanoic+acid%2C+increases+the+chemosensitivity> (accessed Nov 18, 2019).
30. Chinnaiyan, P.; Cerna, D.; Burgan, W. E.; Beam, K.; Williams, E. S.; Camphausen, K.; Tofilon, P. J. Postradiation Sensitization of the Histone Deacetylase Inhibitor Valproic Acid. *Clin. Cancer Res.*, **2008**, *14* (17), 5410–5415.
31. Van Niffterik, K. A.; Van den Berg, J.; Slotman, B. J.; Lafleur, M. V. M.; Sminia, P.; Stalpers, L. J. A. Valproic Acid Sensitizes Human Glioma Cells for Temozolomide and γ -Radiation. *J. Neurooncol.*, **2012**, *107* (1), 61–67.
32. Stacpoole, P. W. Therapeutic Targeting of the Pyruvate Dehydrogenase Complex/Pyruvate Dehydrogenase Kinase (PDC/PDK) Axis in Cancer. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.*, **2017**, *109* (11).
33. Michelakis, E. D.; Webster, L.; Mackey, J. R. Dichloroacetate (DCA) as a Potential Metabolic-Targeting Therapy for Cancer. *Br. J. Cancer*, **2008**, *99* (7), 989–994.
34. Niewisch, M. R.; Kuçi, Z.; Wolburg, H.; Sautter, M.; Krampen, L.; Deubzer, B.; Handgretinger, R.; Bruchelt, G. Influence of Dichloroacetate (DCA) on Lactate Production and Oxygen Consumption in Neuroblastoma Cells: Is DCA a Suitable Drug for Neuroblastoma Therapy? *Cell. Physiol. Biochem.*, **2012**, *29* (3–4), 373–380.
35. Roche, T. E.; Baker, J. C.; Yan, X.; Hiromasa, Y.; Gong, X.; Peng, T.; Dong, J.; Turkan, A.; Kasten, S. A. Distinct Regulatory Properties of Pyruvate Dehydrogenase Kinase and Phosphatase Isoforms. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, **2001**, *70*, 33–75.
36. Stacpoole, P. W. Therapeutic Targeting of the Pyruvate Dehydrogenase Complex/Pyruvate Dehydrogenase Kinase (PDC/PDK) Axis in Cancer. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.*, **2017**, *109* (11).
37. Kankotia, S.; Stacpoole, P. W. Dichloroacetate and Cancer: New Home for an Orphan Drug? *Biochim. Biophys. Acta - Rev. Cancer*, **2014**, *1846* (2), 617–629.
38. Gupta, S.; Dwarakanath, B. Modulation of Immuno-Biome during Radio-Sensitization of Tumors by Glycolytic Inhibitors. *Curr. Med. Chem.*, **2018**, *25*.
39. Vander Heiden, M. G.; Cantley, L. C.; Thompson, C. B. Understanding the

- Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Science*, **2009**, *324* (5930), 1029–1033.
40. Saed, G. M.; Fletcher, N. M.; Jiang, Z. L.; Abu-Soud, H. M.; Diamond, M. P. Dichloroacetate Induces Apoptosis of Epithelial Ovarian Cancer Cells Through a Mechanism Involving Modulation of Oxidative Stress. *Reprod. Sci.*, **2011**, *18* (12), 1253–1261.
 41. Stanevičiūtė, J.; Juknevičienė, M.; Balnytė, I.; Valančiūtė, A.; Lesauskaitė, V.; Fadejeva, J.; Stakauskas, R.; Stakišaitis, D. Gender-Related Effect of Sodium Dichloroacetate on the Number of Hassall's Corpuscles and RNA NKCC1 Expression in Rat Thymus. *Biomed Res. Int.*, **2019**, *2019*, 1–11.
 42. Russell, J. M. Sodium-Potassium-Chloride Cotransport. *Physiol. Rev.*, **2000**, *80* (1), 211–276.
 43. Maeno, E.; Takahashi, N.; Okada, Y. Dysfunction of Regulatory Volume Increase Is a Key Component of Apoptosis. *FEBS Lett.*, **2006**, *580* (27), 6513–6517.
 44. Mejia-Gervacio, S.; Murray, K.; Lledo, P.-M. NKCC1 Controls GABAergic Signaling and Neuroblast Migration in the Postnatal Forebrain. *Neural Dev.*, **2011**, *6* (1), 4.
 45. Garzon-Muvdi, T.; Schiapparelli, P.; ap Rhys, C.; Guerrero-Cazares, H.; Smith, C.; Kim, D.-H.; Kone, L.; Farber, H.; Lee, D. Y.; An, S. S.; et al. Regulation of Brain Tumor Dispersal by NKCC1 through a Novel Role in Focal Adhesion Regulation. *PLoS Biol.*, **2012**, *10* (5), e1001320.
 46. Cong, D.; Zhu, W.; S. Kuo, J.; Hu, S.; Sun, D. Ion Transporters in Brain Tumors. *Curr. Med. Chem.*, **2015**, *22* (10), 1171–1181.
 47. Elliott, S. J.; Schilling, W. P. Oxidant Stress Alters Na⁺ Pump and Na⁽⁺⁾-K⁽⁺⁾-Cl⁻ Cotransporter Activities in Vascular Endothelial Cells. *Am. J. Physiol.*, **1992**, *263* (1 Pt 2), H96-102.
 48. Verma, A.; Lam, Y.-M.; Leung, Y.-C.; Hu, X.; Chen, X.; Cheung, E.; Tam, K. Y. Combined Use of Arginase and Dichloroacetate Exhibits Anti-Proliferative Effects in Triple Negative Breast Cancer Cells. *J. Pharm. Pharmacol.*, **2019**, *71* (3), 306–315.
 49. Yang, Z.; Zhang, S.-L.; Hu, X.; Tam, K. Y. Inhibition of Pyruvate Dehydrogenase Kinase 1 Enhances the Anti-Cancer Effect of EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer. *Eur. J. Pharmacol.*, **2018**, *838*, 41–52.
 50. Heshe, D.; Hoogestraat, S.; Brauckmann, C.; Karst, U.; Boos, J.; Lanvers-Kaminsky, C. Dichloroacetate Metabolically Targeted Therapy Defeats Cytotoxicity of

Standard Anticancer Drugs. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **2011**, 67 (3), 647–655.

51. Gray, L. R.; Tompkins, S. C.; Taylor, E. B. Regulation of Pyruvate Metabolism and Human Disease. *Cell. Mol. Life Sci.*, **2014**, 71 (14), 2577–2604.

52. Zhang, S.; Hulver, M. W.; McMillan, R. P.; Cline, M. A.; Gilbert, E. R. The Pivotal Role of Pyruvate Dehydrogenase Kinases in Metabolic Flexibility. *Nutrition and Metabolism*. February 12, 2014.

53. Su, L.; Zhang, H.; Yan, C.; Chen, A.; Meng, G.; Wei, J.; Yu, D.; Ding, Y. Superior Anti-Tumor Efficacy of Diisopropylamine Dichloroacetate Compared with Dichloroacetate in a Subcutaneous Transplantation Breast Tumor Model. *Oncotarget*, **2016**, 7 (40), 65721–65731.

54. Kolesnik, D. L.; Pyaskovskaya, O. N.; Boychuk, I. V.; Dasyukevich, O. I.; Melnikov, O. R.; Tarasov, A. S.; Solyanik, G. I. Effect of Dichloroacetate on Lewis Lung Carcinoma Growth and Metastasis. *Exp. Oncol.*, **2015**, 37 (2), 126–129.

55. Anemone, A.; Consolino, L.; Conti, L.; Reineri, F.; Cavallo, F.; Aime, S.; Longo, D. L. In Vivo Evaluation of Tumour Acidosis for Assessing the Early Metabolic Response and Onset of Resistance to Dichloroacetate by Using Magnetic Resonance PH Imaging. *Int. J. Oncol.*, **2017**, 51 (2), 498–506.

56. Yabu, M.; Shime, H.; Hara, H.; Saito, T.; Matsumoto, M.; Seya, T.; Akazawa, T.; Inoue, N. IL-23-Dependent and -Independent Enhancement Pathways of IL-17A Production by Lactic Acid. *Int. Immunol.*, **2011**, 23 (1), 29–41.

57. Goetze, K.; Walenta, S.; Ksiazkiewicz, M.; Kunz-Schughart, L. A.; Mueller-Klieser, W. Lactate Enhances Motility of Tumor Cells and Inhibits Monocyte Migration and Cytokine Release. *Int. J. Oncol.*, **2011**, 39 (2), 453–463.

58. Végran, F.; Boidot, R.; Michiels, C.; Sonveaux, P.; Feron, O. Lactate Influx through the Endothelial Cell Monocarboxylate Transporter MCT1 Supports an NF- κ B/IL-8 Pathway That Drives Tumor Angiogenesis. *Cancer Res.*, **2011**, 71 (7), 2550–2560.

59. Shi, Q.; Le, X.; Wang, B.; Xiong, Q.; Abbruzzese, J. L.; Xie, K. Regulation of Interleukin-8 Expression by Cellular PH in Human Pancreatic Adenocarcinoma Cells. *J. Interferon Cytokine Res.*, **2000**, 20 (11), 1023–1028.

60. Sattler, U. G. A.; Meyer, S. S.; Quennet, V.; Hoerner, C.; Knoerzer, H.; Fabian, C.; Yaromina, A.; Zips, D.; Walenta, S.; Baumann, M.; et al. Glycolytic Metabolism and Tumour Response to Fractionated Irradiation. *Radiother. Oncol.*, **2010**, 94 (1), 102–109.

61. Rofstad, E. K.; Mathiesen, B.; Kindem, K.; Galappathi, K. Acidic Extracellular PH Promotes Experimental Metastasis of Human Melanoma Cells in Athymic Nude Mice. *Cancer Res.*, **2006**, *66* (13), 6699–6707.
62. Brizel, D. M.; Schroeder, T.; Scher, R. L.; Walenta, S.; Clough, R. W.; Dewhirst, M. W.; Mueller-Klieser, W. Elevated Tumor Lactate Concentrations Predict for an Increased Risk of Metastases in Head-and-Neck Cancer. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **2001**, *51* (2), 349–353.
63. McFate, T.; Mohyeldin, A.; Lu, H.; Thakar, J.; Henriques, J.; Halim, N. D.; Wu, H.; Schell, M. J.; Tsz, M. T.; Teahan, O.; et al. Pyruvate Dehydrogenase Complex Activity Controls Metabolic and Malignant Phenotype in Cancer Cells. *J. Biol. Chem.*, **2008**, *283* (33), 22700–22708.
64. Wu, H.; Ding, Z.; Hu, D.; Sun, F.; Dai, C.; Xie, J.; Hu, X. Central Role of Lactic Acidosis in Cancer Cell Resistance to Glucose Deprivation-Induced Cell Death. *J. Pathol.*, **2012**, *227* (2), 189–199.
65. Archer, S. L.; Gombert-Maitland, M.; Maitland, M. L.; Rich, S.; Garcia, J. G. N.; Weir, E. K. Mitochondrial Metabolism, Redox Signaling, and Fusion: A Mitochondria-ROS-HIF-1 α -Kv1.5 O₂-Sensing Pathway at the Intersection of Pulmonary Hypertension and Cancer. *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.*, **2008**, *294* (2), H570–H578.
66. Fiaschi, T.; Marini, A.; Giannoni, E.; Taddei, M. L.; Gandellini, P.; De Donatis, A.; Lanciotti, M.; Serni, S.; Cirri, P.; Chiarugi, P. Reciprocal Metabolic Reprogramming through Lactate Shuttle Coordinately Influences Tumor-Stroma Interplay. *Cancer Res.*, **2012**, *72* (19), 5130–5140.
67. Lotz, C.; Kelleher, D. K.; Gassner, B.; Gekle, M.; Vaupel, P.; Thews, O. Role of the Tumor Microenvironment in the Activity and Expression of the P-Glycoprotein in Human Colon Carcinoma Cells. *Oncol. Rep.*, **2007**, *17* (1), 239–244.
68. Thews, O.; Dillenburg, W.; Rösch, F.; Fellner, M. PET Imaging of the Impact of Extracellular PH and MAP Kinases on the P-Glycoprotein (Pgp) Activity; 2013; pp 279–286.
69. Raghunand, N.; Mahoney, B. P.; Gillies, R. J. Tumor Acidity, Ion Trapping and Chemotherapeutics. II. PH-Dependent Partition Coefficients Predict Importance of Ion Trapping on Pharmacokinetics of Weakly Basic Chemotherapeutic Agents. *Biochem. Pharmacol.*, **2003**, *66* (7), 1219–1229.
70. Currier, J. S. Sex Differences in Antiretroviral Therapy Toxicity: Lactic

Acidosis, Stavudine, and Women. *Clin. Infect. Dis.*, **2007**, *45* (2), 261–262.

71. Shen, Y.; Liu, F.; Li, Q.; Tang, J.; Zheng, T.; Lu, F.; Lu, H.; Jia, W. The Gonadal Hormone Regulates the Plasma Lactate Levels in Type 2 Diabetes Treated with and without Metformin. *Diabetes Technol. Ther.*, **2012**, *14* (6), 469–474.

72. Vaupel, P. Tumor Microenvironmental Physiology and Its Implications for Radiation Oncology. *Semin. Radiat. Oncol.*, **2004**, *14* (3), 198–206.

73. Brown, J. M.; Giaccia, A. J. The Unique Physiology of Solid Tumors: Opportunities (and Problems) for Cancer Therapy. *Cancer Res.*, **1998**, *58* (7), 1408–1416.

74. Velpula, K. K.; Guda, M. R.; Sahu, K.; Tuszyński, J.; Asuthkar, S.; Bach, S. E.; Lathia, J. D.; Tsung, A. J. Metabolic Targeting of EGFRvIII/PDK1 Axis in Temozolomide Resistant Glioblastoma. *Oncotarget*, **2017**, *8* (22), 35639–35655.

75. Kim, J.; Tchernyshyov, I.; Semenza, G. L.; Dang, C. V. HIF-1-Mediated Expression of Pyruvate Dehydrogenase Kinase: A Metabolic Switch Required for Cellular Adaptation to Hypoxia. *Cell Metab.*, **2006**, *3* (3), 177–185.

76. Sun, R. C.; Fadia, M.; Dahlstrom, J. E.; Parish, C. R.; Board, P. G.; Blackburn, A. C. Reversal of the Glycolytic Phenotype by Dichloroacetate Inhibits Metastatic Breast Cancer Cell Growth in Vitro and in Vivo. *Breast Cancer Res. Treat.*, **2010**, *120* (1), 253–260.

77. Sutendra, G.; Dromparis, P.; Kinnaird, A.; Stenson, T. H.; Haromy, A.; Parker, J. M. R.; Mcmurtry, M. S.; Michelakis, E. D. Mitochondrial Activation by Inhibition of PDKII Suppresses HIF1a Signaling and Angiogenesis in Cancer. *Oncogene*, **2013**, *32* (13), 1638–1650.

78. Kumar, K.; Wigfield, S.; Gee, H. E.; Devlin, C. M.; Singleton, D.; Li, J.-L.; Buffa, F.; Huffman, M.; Sinn, A. L.; Silver, J.; et al. Dichloroacetate Reverses the Hypoxic Adaptation to Bevacizumab and Enhances Its Antitumor Effects in Mouse Xenografts. *J. Mol. Med. (Berl)*, **2013**, *91* (6), 749–758.

79. Wang, M.; Liao, C.; Hu, Y.; Qinwen Pan; Jiang, J. Sensitization of Breast Cancer Cells to Paclitaxel by Dichloroacetate through Inhibiting Autophagy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2017**, *489* (2), 103–108.

80. Roh, J. L.; Park, J. Y.; Kim, E. H.; Jang, H. J.; Kwon, M. Activation of Mitochondrial Oxidation by PDK2 Inhibition Reverses Cisplatin Resistance in Head and Neck Cancer. *Cancer Lett.*, **2016**, *371* (1), 20–29.

81. Sun, H.; Zhu, A.; Zhou, X.; Oncotarget, F. W.-; 2017, undefined.

Suppression of Pyruvate Dehydrogenase Kinase-2 Re-Sensitizes Paclitaxel-Resistant Human Lung Cancer Cells to Paclitaxel. *ncbi.nlm.nih.gov*.

82. Abildgaard, C.; Dahl, C.; Abdul-Al, A.; Oncotarget, A. C.-; 2017, undefined. Inhibition of Retinoic Acid Receptor β Signaling Confers Glycolytic Dependence and Sensitization to Dichloroacetate in Melanoma Cells. *ncbi.nlm.nih.gov*.

83. Shen, Y.-C.; Ou, D.-L.; Hsu, C.; Lin, K.-L.; Chang, C.-Y.; Lin, C.-Y.; Liu, S.-H.; Cheng, A.-L. Activating Oxidative Phosphorylation by a Pyruvate Dehydrogenase Kinase Inhibitor Overcomes Sorafenib Resistance of Hepatocellular Carcinoma. *Br. J. Cancer*, **2013**, *108* (1), 72–81.

84. Zheng, M. F.; Shen, S. Y.; Huang, W. Da. DCA Increases the Antitumor Effects of Capecitabine in a Mouse B16 Melanoma Allograft and a Human Non-Small Cell Lung Cancer A549 Xenograft. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **2013**, *72* (5), 1031–1041.

85. Zhou, X.; Chen, R.; Yu, Z.; Li, R.; Li, J.; Zhao, X.; Song, S.; Liu, J.; Huang, G. Dichloroacetate Restores Drug Sensitivity in Paclitaxel-Resistant Cells by Inducing Citric Acid Accumulation. *Mol. Cancer*, **2015**, *14* (1).

86. Sanchez, W. Y.; McGee, S. L.; Connor, T.; Mottram, B.; Wilkinson, A.; Whitehead, J. P.; Vuckovic, S.; Catley, L. Dichloroacetate Inhibits Aerobic Glycolysis in Multiple Myeloma Cells and Increases Sensitivity to Bortezomib. *Br. J. Cancer*, **2013**, *108* (8), 1624–1633.

87. Shen, H.; Hau, E.; Joshi, S.; Dilda, P. J.; McDonald, K. L. Sensitization of Glioblastoma Cells to Irradiation by Modulating the Glucose Metabolism. *Mol. Cancer Ther.*, **2015**, *14* (8), 1794–1804.

88. Michelakis, E. D.; Sutendra, G.; Dromparis, P.; Webster, L.; Haromy, A.; Niven, E.; Maguire, C.; Gammer, T. L.; Mackey, J. R.; Fulton, D.; et al. Metabolic Modulation of Glioblastoma with Dichloroacetate. *Sci. Transl. Med.*, **2010**, *2* (31).

89. Dunbar, E. M.; Coats, B. S.; Shroads, A. L.; Langae, T.; Lew, A.; Forder, J. R.; Shuster, J. J.; Wagner, D. A.; Stacpoole, P. W. Phase 1 Trial of Dichloroacetate (DCA) in Adults with Recurrent Malignant Brain Tumors. *Invest. New Drugs*, **2014**, *32* (3), 452–464.

90. Garon, E. B.; Christofk, H. R.; Hosmer, W.; Britten, C. D.; Bahng, A.; Crabtree, M. J.; Hong, C. S.; Kamranpour, N.; Pitts, S.; Kabbinnavar, F.; et al. Dichloroacetate Should Be Considered with Platinum-Based Chemotherapy in Hypoxic Tumors Rather than as a Single Agent in Advanced Non-Small Cell Lung

Cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **2014**, *140* (3), 443–452.

91. Chu, Q. S. C.; Sangha, R.; Spratlin, J.; Vos, L. J.; Mackey, J. R.; McEwan, A. J. B.; Venner, P.; Michelakis, E. D. A Phase I Open-Labeled, Single-Arm, Dose-Escalation, Study of Dichloroacetate (DCA) in Patients with Advanced Solid Tumors. *Invest. New Drugs*, **2015**, *33* (3), 603–610.
92. Khan, A.; Andrews, D.; Shainhouse, J.; Blackburn, A. C. Long-Term Stabilization of Metastatic Melanoma with Sodium Dichloroacetate. *World J. Clin. Oncol.*, **2017**, *8* (4), 371–377.
93. Khan, A.; Andrews, D.; Blackburn, A. C. Long-Term Stabilization of Stage 4 Colon Cancer Using Sodium Dichloroacetate Therapy. *World J. Clin. cases*, **2016**, *4* (10), 336–343.
94. Mangal, N.; James, M. O.; Stacpoole, P. W.; Schmidt, S. Model Informed Dose Optimization of Dichloroacetate for the Treatment of Congenital Lactic Acidosis in Children. *J. Clin. Pharmacol.*, **2018**, *58* (2), 212–220.
95. Anselm, I. A.; Darras, B. T. Dichloroacetate Causes Toxic Neuropathy in MELAS: A Randomized, Controlled Clinical Trial [1]. *Neurology*. October 2006, p 1313.
96. Wadia, R. J.; Stolar, M.; Grens, C.; Ehrlich, B. E.; Chao, H. H. The Prevention of Chemotherapy Induced Peripheral Neuropathy by Concurrent Treatment with Drugs Used for Bipolar Disease: A Retrospective Chart Analysis in Human Cancer Patients. *Oncotarget*, **2018**, *9* (7), 7322–7331.
97. Lehninger Principles of Biochemistry 6th Edition | eBay <https://www.ebay.com/itm/Lehninger-Principles-of-Biochemistry-6th-Edition/322295348682?epid=1304809635&hash=item4b0a4cbdca:g:39AAAOSwLF1YAsaa> (accessed Nov 26, 2019).
98. Frederick A. Bettelheim, William H. Brown, Mary K. Campbell, S. O. F. *Introduction to General, Organic and Biochemistry*; Brooks/Cole, 2010.
99. Sodium valproate | C₈H₁₅NaO₂ - PubChem https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sodium_valproate#section=Chemical-Vendors (accessed Nov 26, 2019).
100. Sodium dichloroacetate | CHCl₂COOH - PubChem <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/517326> (accessed Nov 26, 2019).
101. Magnesium valproate | C₁₆H₃₀MgO₄ - PubChem https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Magnesium_valproate (accessed Nov 26, 2019).

26, 2019).

102. Fang, E.; Wang, J.; Hong, M.; Zheng, L.; Tong, Q. Valproic Acid Suppresses Warburg Effect and Tumor Progression in Neuroblastoma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2019**, *508* (1), 9–16.
103. Crawley, D. J.; Holmberg, L.; Melvin, J. C.; Loda, M.; Chowdhury, S.; Rudman, S. M.; Van Hemelrijck, M. Serum Glucose and Risk of Cancer: A Meta-Analysis. *BMC Cancer*, **2014**, *14* (1).
104. Grikinienė, J.; Stakisaitis, D.; Tschaika, M. Influence of Sodium Valproate on Sodium and Chloride Urinary Excretion in Rats, Gender Differences. *Pharmacology*, **2005**, *75* (3).
105. Amara, S.; Alotaibi, D.; Tiriveedhi, V. NFAT5/STAT3 Interaction Mediates Synergism of High Salt with IL-17 towards Induction of VEGF-A Expression in Breast Cancer Cells. *Oncol. Lett.*, **2016**, *12* (2), 933–943.
106. Berga-Bolaños, R.; Drews-Elger, K.; Aramburu, J.; López-Rodríguez, C. NFAT5 Regulates T Lymphocyte Homeostasis and CD24-Dependent T Cell Expansion under Pathologic Hypernatremia. *J. Immunol.*, **2010**, *185* (11), 6624–6635.
107. Amara, S.; Zheng, M.; Tiriveedhi, V. Oleanolic Acid Inhibits High Salt-Induced Exaggeration of Warburg-like Metabolism in Breast Cancer Cells. *Cell Biochem. Biophys.*, **2016**, *74* (3), 427–434.
108. Amara, S.; Tiriveedhi, V. Inflammatory Role of High Salt Level in Tumor Microenvironment (Review). *Int. J. Oncol.*, **2017**, *50* (5), 1477–1481.
109. Hiraoka, K.; Miyazaki, H.; Niisato, N.; Iwasaki, Y.; Kawauchi, A.; Miki, T.; Marunaka, Y. Chloride Ion Modulates Cell Proliferation of Human Androgen-Independent Prostatic Cancer Cell. *Cell. Physiol. Biochem.*, **2010**, *25* (4–5), 379–388.
110. Ohsawa, R.; Miyazaki, H.; Niisato, N.; Shiozaki, A.; Iwasaki, Y.; Otsuji, E.; Marunaka, Y. Intracellular Chloride Regulates Cell Proliferation through the Activation of Stress-Activated Protein Kinases in MKN28 Human Gastric Cancer Cells. *J. Cell. Physiol.*, **2010**, *223* (3), 764–770.
111. Stanevičiūtė, J.; Urbonienė, D.; Valančiūtė, A.; Balnytė, I.; Vitkauskienė, A.; Grigalevičienė, B.; Stakišaitis, D. The Effect of Dichloroacetate on Male Rat Thymus and on Thymocyte Cell Cycle. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, **2016**, *29* (4).
112. Valančiute, A.; Mozuraite, R.; Balnyte, I.; Didžiapetriene, J.; Matusevičius, P.; Stakišaitis, D. Sodium Valproate Effect on the Structure of Rat Glandule Thymus:

Gender-Related Differences. *Exp. Toxicol. Pathol.*, **2015**, 67 (7–8).

113. Staneviciute, J.; Valanciute, A.; Balnyte, I.; Juodziukyniene, N.; Stakisaitis, D. PO-426 Gender Disparity in Lung Adenocarcinoma Susceptibility in Experimental Mice Model; BMJ, 2018; p A190.1-A190.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Veikliųjų medžiagų derinys, besiskiriantis tuo, kad jis apima (a) dichloroacetato DCA arba jo farmaciniu požiūriu priimtinos druskos ir (b) valpro rūgšties VPA arba jos farmaciniu požiūriu priimtinos druskos veiksmingą kiekį.
2. Veikliųjų medžiagų derinys pagal 1 punktą, besiskiriantis tuo, kad (a) dichloroacetato farmaciniu požiūriu priimtina druska yra natrio dichloroacetatas arba magnio dichloroacetatas.
3. Veikliųjų medžiagų derinys pagal 1 punktą, besiskiriantis tuo, kad (b) valpro rūgšties farmaciniu požiūriu priimtina druska yra natrio valproatas arba magnio valproatas.
4. Farmacinė kompozicija, apimanti veikliųjų medžiagų derinį pagal bet kurį iš 1–3 punktų kartu su farmaciniu požiūriu priimtinomis pagalbinėmis medžiagomis.
5. Veikliųjų medžiagų derinys pagal bet kurį iš 1–4 punktų, skirtas panaudoti medicinoje.
6. Veikliųjų medžiagų derinys, skirtas panaudoti pagal 5 punktą, besiskiriantis tuo, kad derinys mažina gliukozės koncentraciją serume, slopina aerobinę glikolizę, slopina naviko ląstelių proliferaciją *in vivo* ir *in vitro*.
7. Veikliųjų medžiagų derinys, skirtas panaudoti pagal 6 punktą, besiskiriantis tuo, kad derinys slopina T ląstelių proliferaciją *in vivo*.
8. Veikliųjų medžiagų derinys pagal bet kurį iš 1–4 punktų, skirtas panaudoti vėžio gydymui.
9. Veikliųjų medžiagų derinys, skirtas panaudoti pagal bet kurį iš 5–8 punktų, besiskiriantis tuo, kad dichloroacetatas (DCA) arba jo farmaciniu požiūriu priimtina druska ir (b) valpro rūgštis (VPA) arba jos farmaciniu požiūriu priimtina druska yra skiriami kaip sudėtinis preparatas ar skiriami kartu arba paeiliui kaip atskiri vaistiniai preparatai.

10. Veikliųjų medžiagų derinys, skirtas panaudoti pagal bet kurį iš 5–9 punktų, besiskiriantis tuo, kad jis skiriamas kartu su spinduline terapija ir/arba chemoterapija.

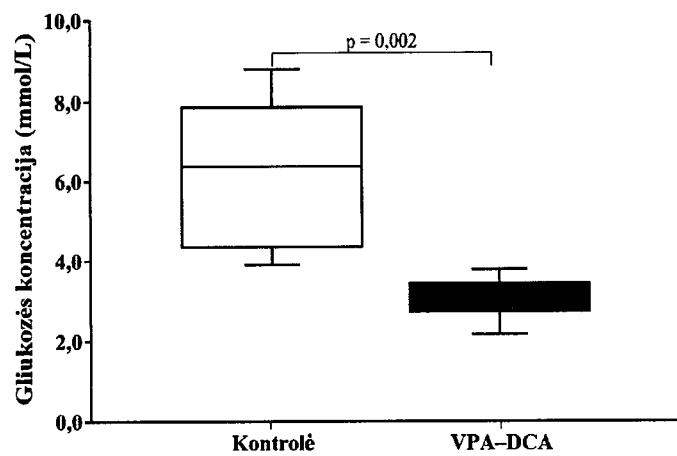
11. Veikliųjų medžiagų derinys pagal bet kurį iš 5–10 punktų, besiskiriantis tuo, kad jis skiriamas kartu su T-ląstelių receptorių-inžinerinių T-ląstelių terapija arba chimerinių antigeno receptorių T-ląstelių terapija.

12. Veikliųjų medžiagų derinys, skirtas panaudoti pagal bet kurį iš 5–11 punktų, besiskiriantis tuo, kad derinys yra skirtas solidiniams navikams, hematologiniam vėžiui ir/arba kamieninių ląstelių kilmės vėžiui gydyti.

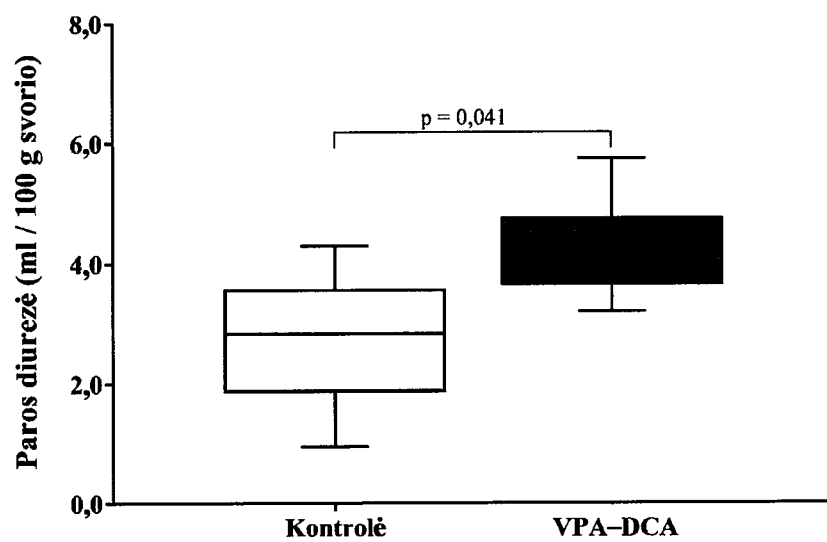
13. Veikliųjų medžiagų derinys, skirtas panaudoti pagal bet kurį iš 5–12 punktų, besiskiriantis tuo, kad vėžys yra parinktas iš gliomos, neuroblastomos, melanomos, kepenų ląstelių karcinomos, daugybinės mielomos, retinoblastomos, plaučių adenokarcinomos, smulkialąstelinio plaučių, nesmulkialąstelinio plaučių, prostatos, kiaušidžių, skrandžio, storosios žarnos ir tiesiosios žarnos, kasos, šlapimo pūslės, inkstų, gimdos kaklelio, krūties, galvos ir kaklo, seilių liaukos vėžio.

14. Veikliųjų medžiagų derinys, skirtas panaudoti pagal 12 arba 13 punktą, besiskiriantis tuo, kad sergančiam vėžiu kartu yra hiperglikemija susijusi su metaboliniu sindromu.

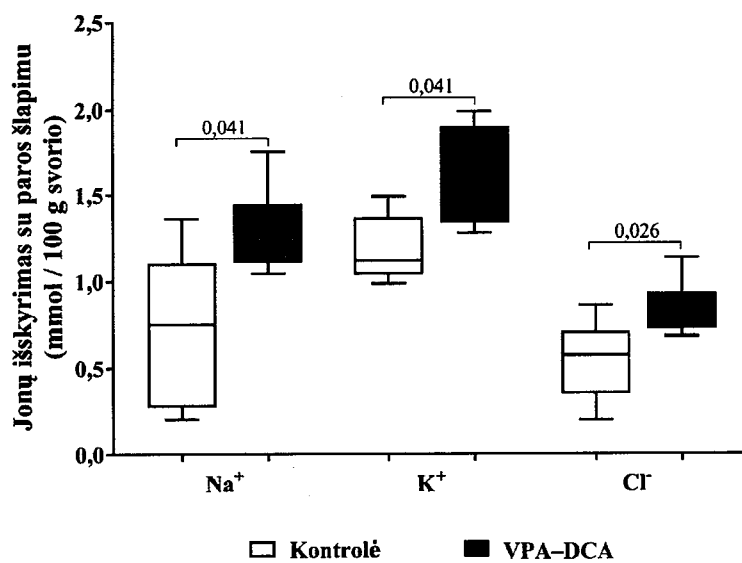
15. Veikliųjų medžiagų derinys, skirtas panaudoti pagal bet kurį iš ankstesnių punktų, kur vėžio gydymas deriniu taikomas vykdant ikiklinikinius ir klinikinius tyrimus.



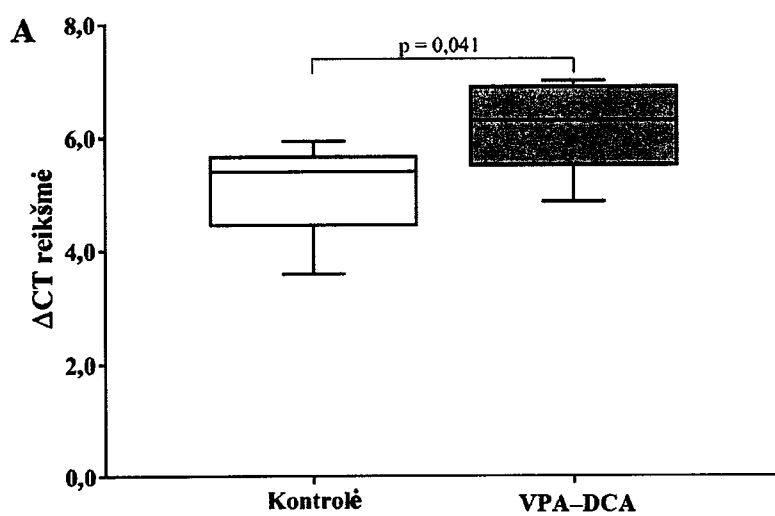
1 pav.



2 pav.



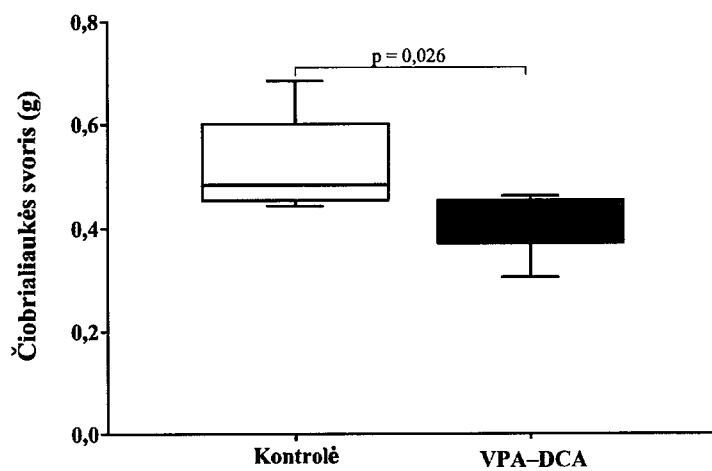
3 pav.



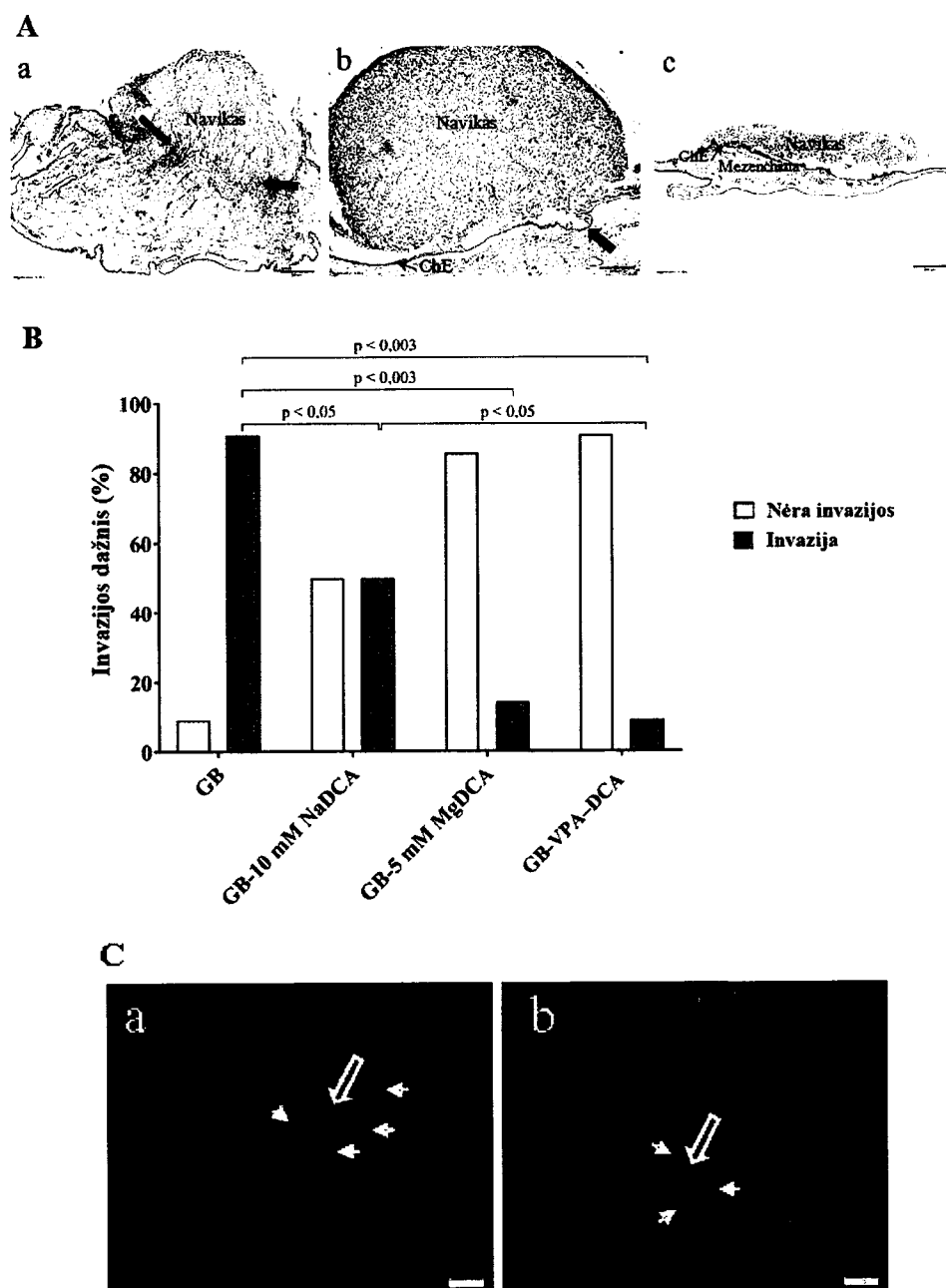
B

Tirta grupė	CT vidurkis		ΔCT	ΔΔCT	2 ^{-ΔΔCT}
	<i>Gapdh</i>	<i>Slc12a2</i>			
kontrolė	24,655	29,761	5,106	1,068	0,477
VPA-DCA	24,150	30,324	6,174 ^a		

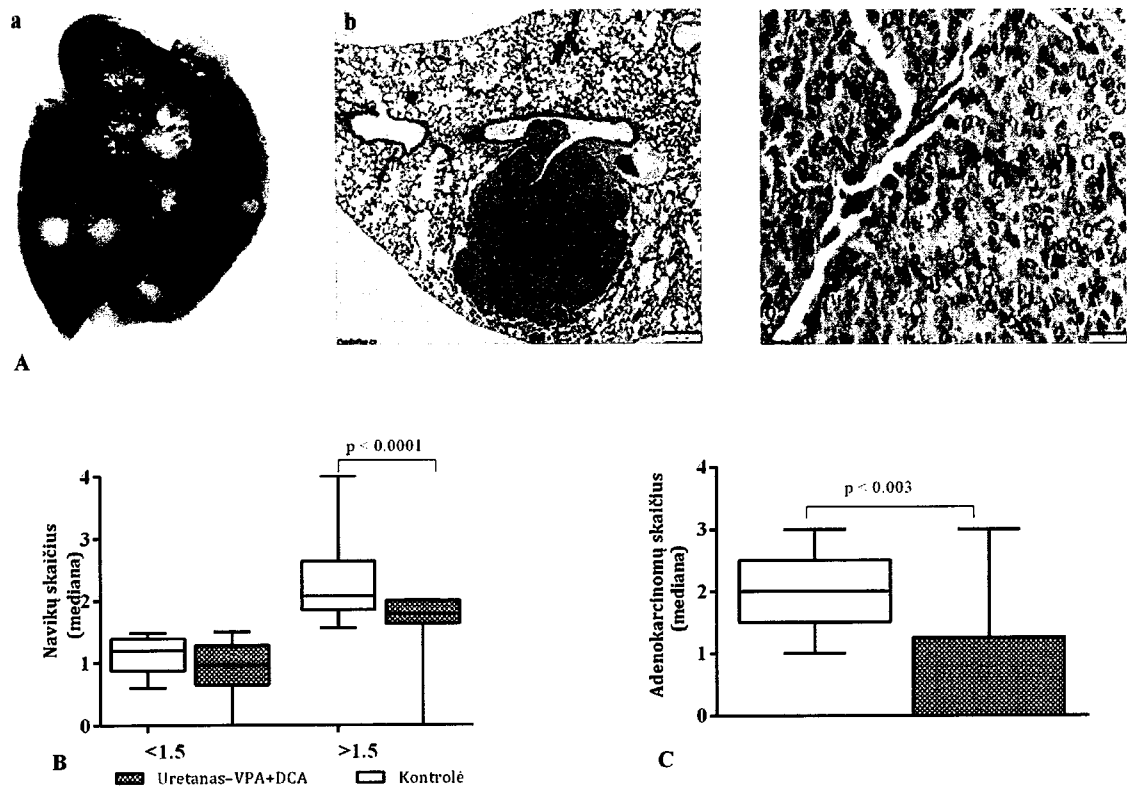
4 pav.



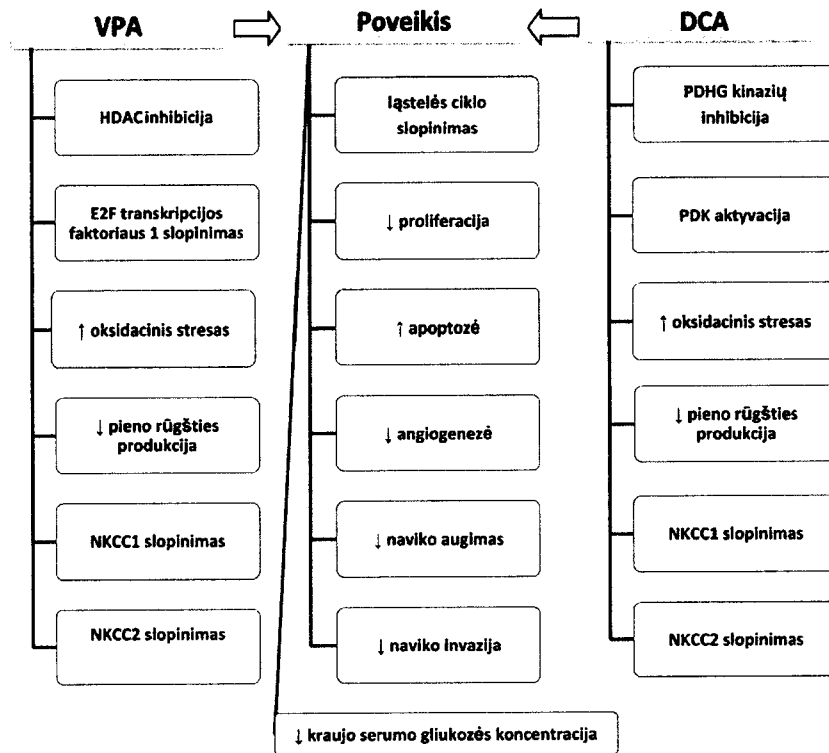
5 pav.



6 pav.



7 pav.



8 pav.