

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **217192**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **401897**

(51) Int.Cl.
A61K 38/57 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **04.12.2012**

(54) **Zastosowanie liofilizatu monomeru inhibitora proteaz cysteinowych**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
19.08.2013 BUP 17/13

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
30.06.2014 WUP 06/14

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIwersytet PRZYRODniczy
WE WROcŁAWIU, Wrocław, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**BARTŁOMIEJ STAŃCZYKIEWICZ,
Wrocław, PL
JOANNA RYMASZEWSKA, Wrocław, PL
ANTONI POLANOWSKI, Wrocław, PL
TADEUSZ TRZISZKA, Trzebnica, PL
JAKUB GBUREK, Wrocław, PL
KRZYSZTOF GOŁĄB, Wrocław, PL
KATARZYNA JUSZCZYŃSKA, Wrocław, PL
MARTA JAKUBIK, Wałbrzych, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Anna Olszewska

PL 217192 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest zastosowanie liofilizatu monomeru inhibitora proteaz cysteinowych - ovocystatyny z białka jaja.

Funkcje poznawcze są procesami podczas których następuje odbieranie, przetwarzanie i przechowywanie informacji i obejmują min. procesy uczenia się i pamięci, jak również myślenia i uwagi. Niestety zaburzenia tych funkcji są charakterystyczne podczas rozwoju otępienia, w tym choroby Alzheimera, jak również dla osób w wieku podeszłym. Według prognoz Światowej Organizacji Zdrowia w 2040 roku rozpowszechnienie choroby Alzheimera będzie dotyczyć 80 milionów osób. Stąd problem społeczny, ekonomiczny i zdrowotny otępienia będzie ulegał stałemu wzrostowi (Rekomendacje zespołu ekspertów Polskiego Towarzystwa Alzheimerowskiego: Diagnostyka i leczenie otępień. Wyd. Medisfera 2012; Parnowski T. et al.: Choroba Alzheimera. Wyd. Lek. PZWL, 2010).

Światowe doniesienia badań genetycznych, eksperymentalnych, jak i klinicznych wskazują na rolę cystatyny C, endogennego inhibitora proteaz cysteinowych, w przebiegu chorób wpływających na centralny układ nerwowy, a w szczególności na chorobę Alzheimera (Sundelöf J. et al.: Serum cystatin C and the risk of Alzheimer disease in elderly men. *Neurology*. 71 (14):1072-9, 2008; Zerovnik E.: The emerging role of cystatins in Alzheimer's disease. *BioEssays*. (6):597-9, 2009; Ghidoni R. et al.: Plasma cystatin C and risk of developing Alzheimer's disease in subjects with mild cognitive impairment. *J. Alzheimer's Dis.* 22(3):985-91, 2010). Cystatyna C produkowana jest przez wszystkie ludzkie komórki i jest obecna we wszystkich płynach ustrojowych m.in.: w płynie mózgowo - rdzeniowym i krwi (Sundelöf J. et al.: Serum cystatin C and the risk of Alzheimer disease in elderly men. *Neurology*. 71 (14):1072-9, 2008; Ghidoni R. et al.: Plasma cystatin C and risk of developing Alzheimer's disease in subjects with mild cognitive impairment. *J. Alzheimer's Dis.* 22(3):985-91, 2010; Mi W. et al.: Complexes of amyloid-beta and cystatin C in the human central nervous system. *J. Alzheimer's Dis.* 18(2):273-80, 2009; Hansson SF. et al.: Reduced levels of amyloid-beta-binding proteins in cerebrospinal fluid from Alzheimer's disease patients. *J. Alzheimer's Dis.* 16(2):389-97, 2009; Kálmán J. et al.: Serum and cerebrospinal fluid cystatin C levels in vascular and Alzheimer's dementia. *Acta Neurol. Scand.* 101(4):279-82, 2000).

Cystatyna C może odkładać się i współwystępować z β -amyloidem w ludzkim mózgu (Zerovnik E.: The emerging role of cystatins in Alzheimer's disease. *BioEssays*. (6):597-9, 2009; Mi W. et al.: Complexes of amyloid-beta and cystatin C in the human central nervous system. *J. Alzheimer's Dis.* 18(2):273-80, 2009; Yaffe K. et al.: Cystatin C as a marker of cognitive function in elders: findings from the health ABC study. *Ann. Neurol.* 63(6):798-802, 2008). Wyniki badań wskazują, iż cystatyna C odgrywa istotną rolę w rozwoju choroby Alzheimera, poprzez zahamowanie agregacji β -amyloidu ($A\beta$) i jego osadzania. Mechanizm działania cystatyny C prawdopodobnie polega na wiązaniu molekuł białka prekursorowego β -amyloidu (β APP) oraz peptydów $A\beta$ 40 i $A\beta$ 42 (Sundelöf J. et al.: Serum cystatin C and the risk of Alzheimer disease in elderly men. *Neurology*. 71 (14):1072-9, 2008; Zerovnik E.: The emerging role of cystatins in Alzheimer's disease. *BioEssays*. (6):597-9, 2009; Mi W. et al.: Complexes of amyloid-beta and cystatin C in the human central nervous system. *J. Alzheimer's Dis.* 18(2):273-80, 2009). W związku z powyższym hamuje oligomeryzację β -amyloidu i amyloidogenezę, chroniąc tym samym mózg przed jego toksycznym działaniem (Zerovnik E.: The emerging role of cystatins in Alzheimer's disease. *BioEssays*. (6):597-9, 2009).

Pojawiły się również doniesienia, iż niski poziom cystatyny C w surowicy poprzedza ujawnienie się choroby Alzheimera (Sundelöf J. et al.: Serum cystatin C and the risk of Alzheimer disease in elderly men. *Neurology*. 71 (14):1072-9, 2008). Ponadto wyniki badań *in vitro* i *in vivo*, wskazują na protekcyjny wpływ cystatyny C względem chorób neurodegeneracyjnych poprzez hamowanie proteaz cysteinowych (np. katepsyna B), autofagii oraz indukcję proliferacji (Gauthier S et al.: Protective mechanisms by cystatin C in neurodegenerative diseases. *Front Biosci (Schol Ed)*. 1 ;3:541 -54, 2011).

Powyższe badania opierały się na endogennej cystatynie C w ustroju, stąd egzogenne podawanie wymagało przeprowadzenia testów w kierunku wpływu egzogennej cystatyny, na rozwój zaburzeń funkcji poznawczych, zwłaszcza postępujących wraz z rozwojem choroby Alzheimera oraz procesem starzenia.

Obecnie rekomendowana farmakoterapia zaburzeń poznawczych w przebiegu choroby Alzheimera obejmuje inhibitory cholinesterazy tj. donepezil, rywastygminę, galantaminę oraz antagonistę NMDA - memantynę. Stosowanie innych leków niż wyżej wymienione w celu zmniejszenia zaburzeń funkcji poznawczych nie jest rekomendowane ze względu na brak potwierdzenia w badaniach klinicznych

(Rekomendacje zespołu ekspertów Polskiego Towarzystwa Alzheimerowskiego: Diagnostyka i leczenie otępień. Wyd. Medisfera 2012). Ocena skuteczności tych inhibitorów wskazuje na umiarkowany efekt objawowy w zakresie poprawy funkcji poznawczych (Sobów T. Zasady postępowania terapeutycznego w zespołach otępiennych. 2007. Pol. Prz. Neurol. 3(2) 97-104). Stąd poszukiwanie nowych strategii prewencyjnych oraz terapeutycznych jak i pozyskiwanie nowych substancji mających działanie przeciwotępienne i wpływających na poprawę funkcji poznawczych jest uzasadnione.

Dotychczas znane jest, a ujawnione m. in. w opisach patentowych EP2388591 (A2); CA2745731 (A1); EP1394549 (A1), powiązanie cystatyny C z zaburzeniami funkcji poznawczych i chorobą Alzheimera, opisywanej jako biomarker, której możliwość oznaczenia m.in. w płynie mózgowo-rdzeniowym pozwala na zastosowanie jako narzędzia diagnostycznego i różnicującego.

Z opisu patentowego PL208280, znane jest zastosowanie inhibitorów proteaz cysteinowych w leczeniu chorób i stanów chorobowych np. różnych schorzeń obejmujących stany zapalne, reumatoidalne zapalenie stawów, zapalenie kości i stawów, osteoporozę i nowotwory.

Cystatyna wyizolowana z białka jaja kurzego - ovocystatyna jest strukturalnie podobna do ludzkiej cystatyny C i jest jej analogiczną formą. Z opisu patentowego US 4,902,509 znane jest jej zastosowanie jako czynnik redukujący wzrost wirusów z rodziny *Picornaviridae*.

Jak wspomniano powyżej, we wcześniejszym stanie techniki nie występują żadne sugestie czy wzmianki na temat zastosowania związku według wynalazku, w przeciwdziałaniu i leczeniu zaburzeń funkcji poznawczych, zwłaszcza postępujących wraz z rozwojem choroby Alzheimera oraz procesem starzenia.

Badania nad wynalazkiem prowadzono w ramach projektu finansowanego przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego, Grant Nr POIG. 01.03.01-00-158/09.

Liofilizat monomeru inhibitora proteaz cysteinowych - ovocystatyna wykazuje nieoczekiwany efekt hamujący rozwój zaburzeń funkcji poznawczych, postępujących wraz z chorobą Alzheimera oraz procesem starzenia. Efekt ten jest nieprzewidywany na podstawie znajomości właściwości ovocystatyny. Zatem istotą wynalazku jest zastosowanie monomerycznej formy ovocystatyny pozyskanej według sposobu ujawnionego w opisie wynalazku zgłoszonego do UPRP i zarejestrowanego pod numerem P.396028, do wytwarzania składnika albo substancji czynnej produktu leczniczego do profilaktyki i/lub leczenia łagodnych zaburzeń funkcji poznawczych oraz zespołów otępiennych, w tym choroby Alzheimera. Istotą jest również zastosowanie tej substancji do wytwarzania suplementu diety, dodatku żywieniowego lub składnika preparatów złożonych, korzystnie wpływających na funkcje kognitywne, w tym pamięć i koncentrację uwagi.

Doświadczenia *in vivo* przeprowadzone z użyciem monomerycznej formy ovocystatyny pozyskanej według sposobu opisanego w zgłoszeniu patentowym P.396028, z białka jaj kurzych, oraz testu behawioralnego oceniającego funkcje poznawcze, m.in. zdolność uczenia się i pamięci, przyniosły rezultaty świadczące o istotnej poprawie w zakresie funkcjonowania poznawczego u myszy modyfikowanych genetycznie na chorobę Alzheimera oraz w modelu młodych i starych szczurów.

Hamujący wpływ monomeru ovocystatyny na rozwój zaburzeń funkcji poznawczych przedstawiono w poniższych przykładach.

P r z y k ł a d 1: Do oceny hamującego wpływu na rozwój zaburzeń funkcji poznawczych, towarzyszących procesowi starzenia użyto szczurów rasy Wistar Han, w tym młodych (4-miesięcznych - waga ~400 g) oraz starych (10-miesięcznych - waga ~450 g). W obydwu grupach wyróżniono podgrupy: eksperymentalną, która otrzymywała dootrzewnowo iniekcję ovocystatynę w dawce 200 µg/szczura oraz kontrolną, której podawano w taki sam sposób placebo w postaci 0,9% roztworu NaCl.

Następnie wykonano test behawioralny oceniający zdolność uczenia się i pamięci. Test labiryntu wodnego Morrisa, polegał na tym, że 30 minut przed każdą sesją szczurom podawano dootrzewnowo iniekcję ovocystatyny lub placebo zgodnie z podziałem grup. Zwierzę umieszczano w okrągłym basenie wodnym (Ø180 cm), z platformą zanurzoną pod powierzchnią wody, którą umieszczano w stałym miejscu. Szczur, aby wydostać się z wody powinien odnaleźć ukrytą platformę. Na ścianach pomieszczenia umieszczono charakterystyczne obiekty, (tzw. flagi), które umożliwiały orientację w przestrzeni. Od 1-go do 12-go dnia przeprowadzano trening (każdego dnia 1 sesja). W czasie treningu szczury uczone gdzie została umiejscowiona platforma (położenie w strefie SW między centrum a brzegiem basenu) w taki sposób, że umieszczano je w basenie na pozycji startowej (N,W,E,S) zgodnie z Tabelą 1. W dniu testu (dzień 13-ty) platformę wyjmowano z basenu, a szczury umieszczano w basenie na pozycji startowej N. Za pomocą kamery wideo rejestrowano czas pobytu szczura w czterech strefach labiryntu wodnego Morrisa (NE, NW, SE, SW). Schemat doświadczenia prezentuje Tabela 1. Dane analizowano przy użyciu oprogramowania SMART ver. 2,5 (PanLab, Hiszpania). Pa-

rametrem mierzonym w teście jest odsetek dystansu przebytego przez osobnika w porównaniu z całym przebyłym dystansem (D%) w strefie SW. Labirynt wodny Morrisa bada pracę hipokampu, czego obrazem jest zdolność zwierzęcia do orientacji w przestrzeni, pozwala także na ocenę umiejętności uczenia się i zapamiętywania.

Tabela 1
Schemat doświadczenia z użyciem modelu młodych i starych szczurów we wszystkich grupach.

Dzień	Trening												TEST
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Start:	N	W	S	E	N	W	S	E	N	W	S	E	N
Platforma	SW	SW	SW	SW	SW	SW	SW	SW	SW	SW	SW	SW	-
Iniekcja 30 min przed sesją	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

N-północ, W-zachód, E-wschód, S-południe, SW-południowy zachód, (+)-podanie; (-) - brak podania

Wyniki testu przedstawiono w tabeli 2, 3, 4.

Tabela 2
Działanie hamujące owocystatyny w dawce 200 µg/szczur zaburzeń funkcji poznawczych w grupie starych szczurów.

Preparat	N	D%	
		X ± SD	p<
Podgrupa kontrolna	9	34,84±7,70	0,05
200 µg/szczur	9	43,78±8,30	

N - liczba zwierząt, X - średni odsetek dystansu przebytego przez osobników w podgrupach, w porównaniu z całym przebyłym dystansem (D%) w strefie SW, SD - odchylenie standardowe, p - poziom istotności

Tabela 3
Działanie owocystatyny w dawce 200 µg/szczur względem zaburzeń funkcji poznawczych w grupie młodych szczurów.

Preparat	N	D%	
		X ± SD	p
Podgrupa kontrolna	8	42,83±5,47	n.s
200 µg/szczur	8	48,85±9,00	

N - liczba zwierząt, X - średni odsetek dystansu przebytego przez osobników w podgrupach, w porównaniu z całym przebyłym dystansem (D%) w strefie SW, SD - odchylenie standardowe, p - poziom istotności, n.s. - różnica statystycznie nieistotna

Tabela 4
Porównanie podgrup kontrolnych grupy młodych i grupy starych szczurów.

Preparat	N	D%	
		X ± SD	p<
Grupa: młode szczury Podgrupa kontrolna	8	42,83±5,47	0,05
Grupa: stare szczury Podgrupa kontrolna	9	34,84±7,70	

N - liczba zwierząt, X - średni odsetek dystansu przebytego przez osobników w podgrupach, w porównaniu z całym przebyłym dystansem (D%) w strefie SW, SD - odchylenie standardowe, p - poziom istotności

Zastosowanie liofilizatu monomeru inhibitora proteaz cysteinowych - owocystatyny z białka jaja wykazało wyraźne działanie hamujące rozwój zaburzeń funkcji poznawczych, zwłaszcza postępujących z procesem starzenia w standardowym modelu doświadczalnym, wykorzystywanym w badaniach przedklinicznych substancji o potencjalnych właściwościach prokognitywnych. Jego wyrazem było istotne wydłużenie odsetka dystansu przebytego w strefie SW przez szczury stare z podgrupy ekspe-

rymentalnej w porównaniu ze szczurami z podgrupy kontrolnej, w teście labiryntu wodnego Morrisa. Brak istotnych różnic pomiędzy podgrupą kontrolną i podgrupą otrzymującą ovocystatynę w dawce 200 µg/szczur w grupie młodych szczurów oraz istotne różnice pomiędzy podgrupami kontrolnymi grup młodych i starych szczurów wskazują na potwierdzenie modelu doświadczalnego, a tym samym wyników otrzymanych dla grupy starych szczurów.

Analiza statystyczna z zastosowaniem testu *t* dla prób niezależnych wykazała, że działanie ovocystatyny jest statystycznie istotne.

P r z y k ł a d 2. Do oceny hamującego wpływu na rozwój zaburzeń funkcji poznawczych, charakterystycznych dla choroby Alzheimera użyto modelu transgenicznego myszy z podwójną mutacją: B6C3-Tg (APP^{swe}, PSEN1^{dE9})85Dbo/Mmjax (3-miesięczne), stanowiących grupę eksperymentalną i B6C3-Tg (APP^{swe}, PSEN1^{dE9})85Dbo/Mmjax NCAR (3-miesięczne), będących grupą kontrolną. Zwierzęta otrzymano z firmy The Jackson Laboratories (USA). Po 1 miesięcznym okresie adaptacji w grupie eksperymentalnej wyróżniono podgrupę, która otrzymywała ovocystatynę w dobowej dawce 40 µg z 0,1% roztworem albuminy wołowej w postaci dodatku do wody pitnej na osobnika o wadze ~28 g oraz podgrupę, której podawano placebo w postaci wody pitnej z 0,1% roztworem albuminy wołowej. Podobne podgrupy utworzono w grupie kontrolnej, a preparat i placebo podawano w taki sam sposób. Zarówno grupie eksperymentalnej jak i kontrolnej preparat i placebo podawano przez okres pięciu miesięcy. Albuminę wołową zastosowano jako stabilizator monomerycznej cystatyny z białka jaja (Gołęb K. et al.: Stabilizacja monomerycznej formy cystatyny z białka jaja. *Przem. Chem.*, 91, 5, 174-179, 2012). Następnie przeprowadzono test behawioralny oceniający zdolność uczenia się i pamięci tzn. test labiryntu wodnego Morrisa. Zwierzę umieszczano w okrągłym basenie wodnym (Ø122 cm), z platformą, którą umieszczono w stałym miejscu. Mysz, aby wydostać się z wody powinna odnaleźć ukrytą platformę. Na ścianach pomieszczenia umieszczono charakterystyczne obiekty, (tzw. flagi), które umożliwiały orientację w przestrzeni. Eksperyment poprzedzono serią treningów (5 sesji). W czasie treningu tj. od 1-go do 5-go dnia mysz uczono, gdzie umiejscowiono platformę, rozpoczynając każdą sesję z innej pozycji startowej (N,S,W,E) zgodnie z tabelą 5. Pierwszego dnia treningu platformę umieszczono nad powierzchnią wody, a od 2-go do 5-go dnia pod powierzchnią wody.

W dniu 6-tym przeprowadzono test, który polega na wyjęciu platformy z basenu, a wyuczona mysz po serii treningów powinna pływać w rejonie, gdzie uprzednio znajdowała się platforma. Za pomocą kamery wideo rejestrowano czas pobytu myszy w czterech strefach labiryntu wodnego Morrisa (NE, NW, SE, SW) oraz w dniu testu (dzień 6) w miejscu położenia platformy w czasie treningu. Schemat doświadczenia prezentuje Tabela 5. Dane analizowano przy użyciu oprogramowania SMART ver. 2,5 (PanLab, Hiszpania). Parametrem mierzonym w teście jest, odsetek dystansu przebytego przez osobnika w porównaniu z całym przebytem dystansem (D%) oraz odsetek czasu przebywania (PT%) w strefie SW, gdzie poprzednio umieszczona była platforma. Labirynt wodny Morrisa bada pracę hipokampu, czego obrazem jest zdolność zwierzęcia do orientacji w przestrzeni, pozwala także na ocenę umiejętności uczenia się i zapamiętywania.

T a b e l a 5

Schemat doświadczenia z użyciem modelu transgenicznego choroby Alzheimera (Bromley-Brits K. et al.: Morris Water Maze Test for Learning and Memory Deficits in Alzheimer's Disease Model Mice. *J. Vis. Exp.* (53), e2920, DOI : 10.3791/2920, 2011)

	Dzień 1		Dzień 2	Dzień 3	Dzień 4	Dzień 5	Dzień 6
	Położenie platformy	Pozycja startowa	Położenie platformy SW. Pozycja startowa jak poniżej:				Brak platformy
Sesja 1	SW	S	W	N	N	E	N
Sesja 2	NW	N	S	W	E	S	-
Sesja 3	NE	S	N	E	W	W	-
Sesja 4	CENTER	E	E	W	S	E	-
Sesja 5	SE	W	S	S	N	N	-

N-północ, W-zachód, E-wschód, S-południe, SW-południowy-zachód; NW-północny-zachód, NE- północny-wschód, SE-południowy-wschód;

Wyniki przedstawiono w tabeli 6, 7, 8.

Tabela 6

Działanie hamujące owocystatyny w dobowej dawce 4 µg/mysz zaburzeń funkcji poznawczych, towarzyszących chorobie Alzheimera w grupie eksperymentalnej.

Preparat	N	D%		% PT	
		X ± SD	p<	X ± SD	p<
Podgrupa: kontrola-placebo	9	24,47±8,77	0,01	24,37±9,03	0,01
Podgrupa: 4 µg/mysz	9	39,64±8,79		38,87±9,35	

N - liczba zwierząt, X - średni odsetek dystansu przebytego przez osobnika w porównaniu z całym przebyty dystansem (D%) oraz odsetek czasu przebywania (PT%) w strefie SW, SD - odchylenie standardowe, p - poziom istotności

Tabela 7

Działanie owocystatyny w dobowej dawce 4 µg/mysz względem zaburzeń funkcji poznawczych, towarzyszących chorobie Alzheimera w grupie kontrolnej.

Preparat	N	D%		%PT	
		X ± SD	P	X ± SD	p
Podgrupa: kontrola-placebo	8	35,66±8,74	n.s.	35,14±9,17	n.s.
Podgrupa: 40 µg/mysz	9	39,42±17,86		38,90±18,13	

N - liczba zwierząt, X - średni odsetek dystansu przebytego przez osobnika w porównaniu z całym przebyty dystansem (D%) oraz odsetek czasu przebywania (PT%) w strefie SW, SD - odchylenie standardowe, p - poziom istotności, n.s. - różnica statystycznie nieistotna

Tabela 8

Porównanie podgrup kontrolnych-placebo grupy eksperymentalnej i kontrolnej.

Preparat	N	D%		% PT	
		X ± SD	p<	X ± SD	p<
Podgrupa: kontrola-placebo grupy eksperymentalnej	9	24,47±8,77	0,05	24,37±9,03	0,05
Podgrupa: kontrola-placebo grupy kontrolnej	8	35,66±8,74		35,14±9,17	

N - liczba zwierząt, X - średni odsetek dystansu przebytego przez osobnika w porównaniu z całym przebyty dystansem (D%) oraz odsetek czasu przebywania (PT%) w strefie SW, SD - odchylenie standardowe, p - poziom istotności

Zastosowanie liofilizatu monomeru inhibitora proteaz cysteinowych - owocystatyny z białka jaja wykazało wyraźne działanie hamujące rozwój zaburzeń funkcji poznawczych, zwłaszcza postępujących wraz z rozwojem choroby Alzheimera w standardowym modelu doświadczalnym, często wykorzystywanym w badaniach przedklinicznych substancji o potencjalnych właściwościach prokognitywnych. Jego wyrazem było istotne wydłużenie odsetka dystansu przebytego oraz odsetka czasu przebywania w strefie SW przez myszy z podgrupy otrzymującej owocystatynę w dobowej dawce 40 µg/mysz w porównaniu z podgrupą kontrolną-placebo w grupie eksperymentalnej, w teście labiryntu wodnego Morrisa. Brak istotnych różnic pomiędzy podgrupą otrzymującą owocystatynę w dobowej dawce 40 µg/mysz w porównaniu z podgrupą kontrolną-placebo w grupie kontrolnej oraz istotne różnice pomiędzy podgrupami kontrola-placebo grup eksperymentalnej i kontrolnej wskazują na potwierdzenie modelu doświadczalnego oraz na kierunkowe działanie owocystatyny względem neuropatologii choroby Alzheimera.

Analiza statystyczna z zastosowaniem testu *t* dla prób niezależnych wykazała, że działanie owocystatyny jest statystycznie istotne.

Przedstawiony powyżej liofilizowany monomer owocystatyny, pozyskiwany z białka jaja, wykazuje hamujące działanie względem zaburzeń funkcji poznawczych *in vivo*. Owocystatyna pozyskiwana z białka jaja kurzego jest produktem mogącym mieć zastosowanie w neurologii i psychiatrii jako wspomagający środek przeciwotępienny. Ponadto statystyczna analiza z zastosowaniem testu *t* dla prób niezależnych wykazała poziom istotności $p < 0,05$, co potwierdza działanie przeciwotępienne owocystatyny, względem mysiego modelu choroby Alzheimera z zastosowaniem myszy transgenicznycch z podwójną mutacją na chorobę Alzheimera jak również procesu starzenia u szczurów.

Owocystatyna może być więc użyteczna jako środek w profilaktyce oraz leczeniu otępień, w tym otępienia typu alzheimerowskiego.

Zastrzeżenia patentowe

1. Zastosowanie monomerycznej formy owocystatyny pozyskanej według sposobu ujawnionego w opisie wynalazku zgłoszonego do UPRP i zarejestrowanego pod numerem P.396028, do wytwarzania składnika albo substancji czynnej produktu leczniczego do profilaktyki i/lub leczenia łagodnych zaburzeń funkcji poznawczych oraz zespołów otępiennych, w tym choroby Alzheimera.

2. Zastosowanie monomerycznej formy owocystatyny pozyskanej według sposobu ujawnionego w opisie wynalazku zgłoszonego do UPRP i zarejestrowanego pod numerem P.396028, do wytwarzania suplementu diety, dodatku żywieniowego lub składnika preparatów złożonych, korzystnie wpływających na funkcje kognitywne, w tym pamięć i koncentrację uwagi.

