

ÖZET

BİR HÜCREDE TELOMER UZUNLUĞUNUN ARTTIRILMASI

Hayvan hücrelerinde telomerlerin uzunluklarının arttırılmasının bir yöntemi, bir
5 hayvana bir *Uncaria* türünün bir aköz ekstraktı uygulanarak gerçekleştirilir.
Hayvan, bir insan olabilir ve *Uncaria* türü, *Uncaria tomentosa* olabilir. Yeterli bir
zaman periyodu boyunca *Uncaria tomentosa*'nın bir aköz ekstraktının günlük
dozunu alan insan özneler, tedaviden önce alınan bir taban çizgisi ölçümüne göre
telomer uzunluğunda bir artış göstermiştir. Ekstrakt, topikal olarak veya sistemik
10 olarak uygulanabilir.

İSTEMLER

1. Bir öznenin hücrelerinde telomerlerin uzunluklarının arttırılması yöntemi olup, özelliği;
5
a) öznenen bir hücre numunesinin bir veya daha fazla telomerinin uzunluklarının ölçülmesi;
b) söz konusu öznenin söz konusu hücrelerinde söz konusu telomerlerin uzunluklarını arttırmak üzere farmasötik olarak etkili bir miktarda ve yeterli olan bir zaman periyodu boyunca bir *Uncaria* türünün bir aköz ekstraktının özneye uygulanması;
10
c) bir veya daha fazla telomerin uzunluğunun yeniden ölçülmesi, telomerlerin uzamamış olması halinde uygulamaya devam edilmesi; ve
d) söz konusu yöntemin, söz konusu telomerlerin uzamasına neden olması adımlarını içermesidir.
15
2. İstem 1'e göre yöntemi olup, özelliği söz konusu aköz ekstraktın oral olarak uygulanmasıdır.
- 20
3. İstem 2'ye göre yöntemi olup, özelliği söz konusu aköz ekstraktının miktarının yaklaşık 200 mg/gün ila yaklaşık 700 mg/gün aralığında olması ve ayrıca söz konusu aköz ekstraktının, minimumda %8 ağırlık/ağırlık (w/w) karboksi alkil ester (CAE'ler) içermesidir.
- 25
4. İstem 3'e göre yöntem olup, özelliği söz konusu aköz ekstraktın miktarının yaklaşık 700 mg/gün olmasıdır.
5. İstem 4'e göre yöntem olup, özelliği öznenin bir insan olmasıdır.

6. İstem 1'e göre yöntem olup, özelliği söz konusu aköz ekstraktın, bir kapsül, bir tablet, bir sıvı, bir şurup ve bir jelden oluşan gruptan seçilen bir dağıtım aracında formüle edilmesidir.
- 5 7. İstem 1'e göre yöntem olup, özelliği söz konusu aköz ekstraktın, bir transdermal yama içinde formüle edilmesidir.
8. İstem 2'ye göre yöntem olup, özelliği söz konusu aköz ekstraktın, bir kapsül, bir tablet, bir sıvı, bir şurup ve bir jelden oluşan gruptan seçilen bir dağıtım aracında formüle edilmesidir.
- 10 9. İstem 5'e göre yöntem olup, özelliği söz konusu *Uncaria* türünün *Uncaria tomentosa* olmasıdır.
- 15 10. İstem 1'e göre yöntem olup, özelliği söz konusu öznenin bir insan olmasıdır.
11. İstem 1'e göre yöntem olup, özelliği söz konusu *Uncaria* türünün *Uncaria tomentosa* olmasıdır.
- 20 12. İstem 1'e göre yöntem olup, özelliği söz konusu öznenin hücrelerinde söz konusu telomerlerin uzunluklarını arttırmak üzere yeterli olan söz konusu zaman periyodunun, en az 6 ay olmasıdır.
- 25 13. İstem 1'e göre yöntem olup, özelliği söz konusu öznenin hücrelerinde söz konusu telomerlerin uzunluklarını arttırmak üzere yeterli olan söz konusu zaman periyodunun, en az 1 yıl olmasıdır.
- 30 14. İstem 7'ye göre yöntem olup, özelliği transdermal yamanın, uzatılmış bir zaman periyodu üzerinde özneye söz konusu ekstraktı dağıtmasıdır.

15. Bir öznenin hücrelerinde telomerlerin uzunluklarının arttırılması yöntemi olup, özelliği;
- 5 (a) bir öznenin çekirdekli hücrelerin bir numunesinin elde edilmesi;
- (b) çekirdekli hücrelerin söz konusu numunesinde telomerlerin uzunluklarının ölçülmesi;
- (c) söz konusu öznenin hücrelerinde telomerlerin uzunluklarını arttırmak üzere yeterli olan bir zaman periyodu boyunca bir *Uncaria* türünün bir aköz ekstraktının etkili bir miktarının günlük bir dozunun söz konusu
- 10 özneye oral olarak uygulanması;
- (d) söz konusu zaman periyodunun tamamlanmasından sonra söz konusu öznenin çekirdekli hücrelerin bir numunesinin elde edilmesi; ve
- (e) söz konusu zaman periyodunun tamamlanmasından sonra söz konusu öznenin çekirdekli hücrelerin söz konusu numunesinde telomerlerin
- 15 uzunluklarının ölçülmesi;
- (f) söz konusu zaman periyodunun başlatılmasından önceki söz konusu telomerlerin söz konusu uzunluklarının söz konusu zaman periyodunun tamamlanmasından sonraki söz konusu telomerlerin söz konusu uzunlukları ile karşılaştırılması; ve
- 20 (g) telomerlerin uzamamış olması halinde uygulamaya devam edilmesi adımlarını içermesidir.
16. İstem 15'e göre yöntem olup, özelliği söz konusu öznenin bir hücresinde telomerlerin uzunluklarını arttırmak üzere yeterli olan söz konusu zaman
- 25 periyodunun, en az bir yıl olmasıdır.
17. İstem 15'e göre yöntem olup, özelliği söz konusu çekirdekli hücrelerin beyaz kan hücreleri olmasıdır.
- 30 18. İstem 15'e göre yöntem olup, özelliği söz konusu öznenin bir insan olmasıdır.

19. İstem 15'e göre yöntem olup, özelliği söz konusu (b) ve (e) ölçüm adımlarının, nicel polimeraz zincir reaksiyonu ile gerçekleştirilmesidir.
- 5 20. İstem 15'e göre yöntem olup, özelliği söz konusu *Uncaria* türünün *Uncaria tomentosa* olmasıdır.

TARİFNAME

BİR HÜCREDE TELOMER UZUNLUĞUNUN ARTTIRILMASI

BULUŞUN ALTYAPISI

5

Mevcut buluş, bir hayvan hücresinde bir telomerin uzunluğunu arttırma yöntemi ile ilgilidir. Buluş, bir *Uncaria* türünün aköz ekstraktının bir hayvana uygulanması ile gerçekleştirilir.

- 10 Bir telomer, bir kromozomun ucunda, kromozom ucunu kesilmeye karşı ve bir komşu kromozom ile füzyona karşı koruyan tekrarlayan DNA dizisinin bir bölgesidir. Bu doğrultuda telomerler, lineer DNA moleküllerine stabilite sağlar (Greider, CW (1990) BioEssays 12(8):363-369). Kromozomların uçlarına başlık sağlayan telomerik TTAGGG tekrar dizilerinin, normal hücrelerin replikatif
- 15 yaşlanması esnasında kısaldığı gösterilmiştir (Harley et al. (1990) Nature 345(6274): 458-460).

- Telomerler, hücre bölünmesi esnasında tüketilir, ancak enzim telomeraz revers transkriptazın etkisi ile yenilenir. Telomeraz içermeyen insan somatik hücreleri,
- 20 tamamlanmayan replikasyonun sonucu olarak telomerik dizileri kademeli olarak kaybeder. Bir hücredeki bir telomerin uzunluğunun arttırılmasına yönelik çeşitli yöntemler, teknikte bilinir (Joeng et al. (2004) Long lifespan in worms with long telomeric DNA. Nature Genetics 36(6): 607-611; Bodnar et al. (1998) Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. Science
- 25 279(5349): 349-352). Bu yöntemler birincil olarak telomeraz aktivitesinin arttırılmasına dayanır. Örneğin insan telomeraz katalitik alt birimini aşırı ifade eden normal insan hücrelerini inceleyen bir çalışma, arttırılmış telomeraz aktivitesinin sonucu olarak uzatılmış telomerleri göstermiştir (Bodnar et al., yukarıda yer almaktadır). Mevcut buluştan farklı olarak, önceki teknik yöntemleri
- 30 telomeraz aktivitesini arttırma veya diğer bir şekilde telomer uzunluğunu arttırma yöntemi ile kombinasyon halinde DNA onarımını arttırma aracı sağlamaz.

Telomer uzunluğunun ölçülmesine yönelik yöntemler, teknikte iyi bilinir ve örneğin Cawthon, RM (2002) Nucleic Acids Res. 30(10): e47, Harley et al. (1990) Nature 345: 458-460, O'Callaghan and Fenech (2011) Biological Procedures Online 13:3, USPN 5,489,508 (West et al., 6 Şubat 1996'da yayınlanmıştır) ve 5 USPN 5,741,677'de (Kozlowski et al., 21 Nisan 1998'de yayınlanmıştır) açıklanır. Herhangi bir telomer uzunluğunu ölçme yöntemi, mevcut buluşta kullanılabilir.

Herhangi bir çekirdekli hücre tipi, telomer uzunluğunu ölçme amacına yönelik 10 kullanılabilir. Lenfositler ve bukkal hücreler, hastalardan kolay bir şekilde elde edildiğinden yaygın olarak kullanılır (O'Callaghan and Fenech (2011) Biological Procedures Online 13:3). Periferik lökositler de telomer uzunluğu değerlendirmesine yönelik yaygın olarak kullanılır (Aviv et al. (2011) Nucleic Acids Research 39(20): e134). Burada açıklandığı üzere, "periferik lökositler" ve 15 "beyaz kan hücreleri" terimleri değişimli olarak kullanılır. İlgili çekirdekli hücre tipinden izole edilen genomik DNA, telomer uzunluğunu ölçmek üzere kullanılır. Genomik DNA'nın izole edilmesine yönelik yöntemler teknikte iyi bilinir.

Daha önceden C-Med 100[®] olarak bilinen AC-11[®], *Uncaria tomentosa* bitkisinin 20 kabuğunun sıcak su ekstraktıdır. Karakterizasyonu ve hazırlama yöntemi, Pero'ya ait U.S. Pat. No. 6,039,949'da açıklanır (21 Mart 2000'de yayınlanmıştır). Hayvan ve insan çalışmaları, DNA onarımını ve immün fonksiyonu artırma üzerindeki yararlı AC-11[®] etkisini göstermiştir (Sheng et al. (2000) J. Ethnopharmacol. 69: 115-126; Sheng et al. (2001) Phytomedicine 8(4): 275-282).

25

Pero'ya ait U.S. Pat. No. 6,039,949, bir *Uncaria* türünün suda çözülebilir bir ekstraktını ve bunu hazırlamaya yönelik bir yöntemi açıklar. Referans ayrıca, ekstraktın sıçanlara oral uygulamasını açıklar. Ancak referans, telomerleri uzatma veya diğer bir şekilde telomer uzunluğunu manipüle etme veya muhafaza etme 30 yöntemini tasarlamaz. Benzer şekilde referans, telomer uzunluğunu ölçmeyi tasarlamaz.

Sheng et al. (2001, *yukarıda yer almaktadır*), C-MED-100'ün (*Uncaria tomentosa*'nın bir su ekstraktı) on iki sağlıklı yetişkin insan gönüllüye oral uygulanmasını açıklar. Test edilen dozlar, 8 hafta 250 mg ve 350 mg'lık günlük dozlardır. DNA hasarının azalması ve DNA onarımındaki artış, tedavi edilmemiş bir kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iki takviye grubunda görülmüştür. Referans, telomerleri uzatma yöntemini açıklamaz ve takviyenin uygulanmasından önce ve sonra, telomer uzunluğunu ölçmeyi tasarlamaz.

Lamm et al. (2001, *Phytomedicine* 8(4):267-274), insan gönüllülere iki ay 350 mg x günde 2 kez dozunda C-MED-100® oral uygulamasını açıklar. C-MED-100® ile takviye edilen çalışma katılımcıları, tedavi edilmemiş bir kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 23 değerlikli pnömokoksik aşıya yanıt verme kapasitelerine yönelik test edilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı immün iyileşme, takviye edilen gruptakilere yönelik gözlenmiştir. Referans, telomerleri uzatma yöntemini açıklamaz ve takviyenin uygulanmasından önce ve sonra, telomer uzunluğunun ölçülmesini tasarlamaz.

Pero'ya ait U.S. Pat. No. 7,955,626 (7 Haziran 2011'de yayınlanmıştır), saflaştırılmış bir kinik asit alkil esterinin veya bir karboksi alkil esterinin topikal olmayan uygulamasını açıklar. Referans, *Uncaria tomentosa*'nın su ekstraktını ve karboksi alkil esterleri (CAE) elde etmek üzere ince katmanlı kromatografi ile ekstraktın daha fazla saflaştırılmasını açıklar. Buluş, kinik asit içeren bir bileşimin uygulanması ile ilgili değildir. İlaveten buluş, spesifik olarak belirlenen kriterleri karşılayan bir kinik asit alkil ester veya bir karboksil alkil ester olmak üzere, bir **esterin** etkili bir miktarını içeren farmasötik bir bileşimin uygulanması ile ilgili olduğundan, buluşun yöntemi kinik asidin (serbest asit formunda veya bunun bir tuzu) eklenmesini gerektirmez. İlaveten referans, telomer uzunluğunun ölçülmesini açıklamaz ve telomerlerin uzunluğunun arttırılmasını kapsamaz.

U.S. Pat. No. 8,372,449 (Pero, Ronald W., 12 Şubat 2013'te yayınlanmıştır), kinik asit ve bir kinik asit tuzundan oluşan gruptan seçilen saflaştırılmış ve izole edilmiş

- bir bileşiği içeren farmasötik bir bileşimin topikal olmayan uygulamasının metodunu açıklar. Buluş, buna ihtiyacı olan bir memelide tümör oluşumuna ve/veya büyümesine yanıtı geliştirmeye yönelik bir yöntemeye yöneliktir. Farmasötik bileşim, TNF- α üretimini inhibe etmek üzere veya beyaz kan
- 5 hücrelerinin apoptozunu indüklemek üzere etkili bir miktarda uygulanır, burada söz konusu kinik asit ve söz konusu kinik asit tuzu, yaklaşık olarak 500 $\mu\text{g/ml}$ veya daha az HL-60 hücrelerinde IC_{50} kullanarak bir biyoanaliz etkinliğine sahip olan bir amonyum tuzu ve/veya bunun şelatını oluşturabilir. Açıklama, C-MED-100[®] biyoaktif ajanının (*Uncaria tomentosa*'nın bir su ekstraktı) *in vivo* olarak
- 10 kinik asit lakton olmadığını ancak bunun amonyum tuzu dahil olmak üzere kinik asit ve bunun tuzları olduğunu gösterir. *In vivo* çalışma örnekleri, sıçanlara gavaj uygulaması ile ve farelerde içme suyu aracılığıyla farelerde ve sıçanlarda oral dozajlama çalışmaları ile ilgilidir. Farelerin C-MED-100[®] ile tedavisi, lenfosit yarı ömrünün uzaması nedeniyle dalak hücrelerinin artan sayısına neden olmuştur.
- 15 Sıçanlarda kinik asit (QA) ve bunu amonyum tuzu (QAA), yaklaşık olarak ters doksorubisin indüklü lökopenide C-MED-100[®] kadar etkili olmuştur. Referans, 250-700 mg arasındaki C-MED-100[®]'nin günlük oral dozlarının, anti-inflamatuvar, DNA onarımı, immün stimülasyonu ve anti-tümör proseslerinin geliştirilmesine ilişkin insanlarda etkili olduğunu kanıtladığını ortaya çıkarır. Bu
- 20 referans, telomerleri uzatma veya diğer bir şekilde telomer uzunluğunu manipüle etme veya muhafaza etme yöntemini tasarlamaz. Benzer şekilde referans, kinik asit, bir kinik asit tuzu veya C-MED-100[®] uygulanmasından önce veya sonra telomer uzunluğunu ölçmeyi tasarlamaz.
- 25 Daha önceden C-MED-100[®] olarak bilinen AC-11[®] içindeki biyoaktif bileşenin kinik asit lakton olduğu rapor edilir (USPN 6,964,784, 15 Kasım 2005'te yayınlanmıştır). Ayrıca *in vivo* biyoaktif ajan kinik asit olurken (USPN 8,372,449, 12 Şubat 2013'te yayınlanmıştır) *in vitro* biyoaktif ajan, kinik asit laktondur (USPN 8,372,448, 12 Şubat 2013'te yayınlanmıştır).

- Giampapa'ya ait U.S. Pat. No. 8,974,839 (16 Ekim 2014'te yayınlanmıştır), bir DNA onarım kompleksi olarak açıklanan *Uncaria tomentosa*'nın bir su ekstraktını içeren bir çok bileşenli takviye bileşimini açıklar. Buluşun takviyesi aynı zamanda bir telomer muhafaza kompleksini içerir. Ancak *Uncaria tomentosa*'nın su ekstraktı, bir telomer muhafaza kompleksi olarak açıklanmaz. Referans, telomerleri uzatma veya diğer bir şekilde telomer uzunluğunu manipüle etme yöntemini tasarlamaz. Benzer şekilde referans, telomer uzunluğunu ölçmeyi tasarlamaz.
- 10 Giampapa et al.'e ait U.S. Patent Başvuru No. 2017/0128355 (11 Mayıs 2017'de yayınlanmıştır), bir *Uncaria* türünün suda çözünen bir ekstraktını içeren birçok bileşenli bileşimin topikal olarak uygulanması yöntemini açıklar. Referans, telomerleri uzatma veya diğer bir şekilde telomer uzunluğunu manipüle etme veya muhafaza etme yöntemini tasarlamaz. Benzer şekilde referans, telomer uzunluğunu ölçmeyi tasarlamaz.
- 15 Yu et al.'a ait U.S. Pat. No. 5,656,665 (12 Ağustos 1997'de yayınlanmıştır), bir deri kırıxıklığının görülebilir bir şekilde azaltılmasına yönelik ve kırıxıklığa ve/veya etkilenen yüz derisine kinik asit veya kinolakton topikal olarak uygulanarak insan yüz derisi üzerinde yaşlanma etkisinin tersine çevrilmesine yönelik bir yöntemi açıklar. Çok çeşitli hazırlanışlar tasarlanır. Çalışma örnekleri, deriye topikal uygulama ile 90 insan gönüllü öznede çeşitli bileşimlerin test edilmesine yöneliktir. Bu referans, telomerleri uzatma veya diğer bir şekilde telomer uzunluğunu manipüle etme veya muhafaza etme yöntemini tasarlamaz.
- 20 Benzer şekilde referans, kinik asit veya kinolakton uygulanmasından önce veya sonra telomer uzunluğunu ölçmeyi tasarlamaz. Referans, bir özneye veya bir hücreye *Uncaria tomentosa*'nın bir su ekstraktının uygulanmasını açıklamaz. Ayrıca *Uncaria tomentosa*'nın bir eksraktından bahsedilmez. Referans, topikal uygulama ile sınırlıdır ve diğer uygulama modlarını tasarlamaz.
- 25
- 30

Ehrenkranz'a ait U.S. Patent Başvurusu Yayın No. 2015/0338387 (26 Kasım 2015'te yayınlanmıştır), yaşlanma gibi bir biyometriğin izlenmesi ve ayarlanmasına yönelik bir yöntemi açıklar. Buluşun yöntemi, seçilen biyometriğin durumunu etkilemek üzere seçilen bir takviyenin bir özneye uygulanmasını içerir.

- 5 Takviye, oral uygulamaya yönelik formüle edilebilir. Uzun bir olasılıklar listesi arasından takviye, *Uncaria tomentosa*'nın bir ekstraktı olabilir ve biyometrik analit, uzun bir olasılıklar listesi arasından telomer uzunluğu olabilir. Referans, herhangi bir çalışma örneğini içermez veya bir memeliye ekstraktın uygulanması ile bir hücrede bir telomerin uzunluğunu arttırmak üzere *Uncaria tomentosa*'nın
- 10 bir ekstraktının kullanılmasından spesifik olarak bahsetmez. Ayrıca referans, *Uncaria tomentosa*'nın bir su ekstraktını spesifik olarak açıklamaz.

- McDaniel'e ait U.S. Patent Başvuru No. 2014/0079836 (20 Mart 2014'te yayınlanmıştır), canlı hücrelerde telomerin uzunluğunu ve/veya yapısal
- 15 bütünlüğünü etkilemek amacıyla gen muhafaza prosesinin aktivitesinin modüle edilmesine yönelik bir yöntemi açıklar. Kinik asit, örnek niteliğinde bir yaşam süresini değiştiren bileşik olarak açıklanır. Buluşun yöntemi spesifik olarak bir hücrenin, dokunun, organın veya organizmanın kinik asit veya bunun bir analogu veya türevi ile temas ettirilmesine yöneliktir. Kinik asit, kahve kirazında doğal
- 20 olarak bulunan olarak açıklanır. Açıklama, telomerlerin uzatılmasını ayrıca telomer uzunluğu muhafaza genlerinden en az birinin aktivitesini veya seviyesinin modüle edilmesini veya telomerazın aktivitesi veya seviyesinin modüle edilmesini tasarlar. Bu referans, herhangi bir amaca yönelik *Uncaria tomentosa*'nın bir su ekstraktının kullanılmasını tasarlamaz. *Uncaria* türünden bahsedilmez. Referans
- 25 spesifik olarak canlı hücrelerde telomerin uzunluğunu modüle edici olarak kinik asiti göstermez. Bir organizmada kinik asite veya telomer uzamasına yönelik herhangi bir çalışma örneği mevcut değildir. Telomer uzunluğu **muhafazasına** yönelik çalışma örnekleri sağlanır ancak yeşil çay ekstraktı, kahve kirazı ekstraktı ve idebenonun etkilerini inceleyen *in vitro* deneyler (kültür içinde hücreler)
- 30 mevcuttur.

Başvuru Sahipleri tarafından bir özneye bir *Uncaria* bitkisinin bir aköz ekstraktının uygulanmasının telomer uzamasına neden olduğu gösterilmiştir.

BULUŞUN KISA AÇIKLAMASI

5

Mevcut buluş, bir hayvan hücresinde bir telomerin uzunluğunu arttırma yöntemi ile ilgilidir. Buluş, söz konusu telomerin uzunluğunu arttırmak üzere yeterli olan bir miktarda ve bir zaman periyodu boyunca bir hayvana bir *Uncaria* türünün aköz ekstraktının bir hayvana uygulanması ve söz konusu ekstraktın uygulanmasından önce ve sonra söz konusu telomerin uzunluğunun ölçülmesi ile gerçekleştirilir. Tercih edilen bir düzenlemede buluşun yöntemi, bir memeli hücresinde bir telomer uzunluğunun arttırılmasına yöneliktir, söz konusu yöntem, bir memeliye veya buna ihtiyacı olan bir memeliye söz konusu telomerin uzunluğunu arttırmak üzere yeterli olan bir miktarda ve bir zaman periyodu boyunca bir *Uncaria* türünün aköz bir ekstraktının uygulanmasını ve söz konusu ekstraktın uygulanmasından önce ve sonra söz konusu telomerin uzunluğunun ölçülmesini içerir.

Böylece mevcut buluşun birinci bir amacı, bir hücrede telomer uzunluğunun arttırılmasının bir yöntemini sağlamaktır, söz konusu yöntem, söz konusu öznenin bir hücresinde bir telomerin uzunluğunu arttırmak üzere yeterli olan bir miktarda ve bir zaman periyodu boyunca bir *Uncaria* türünün bir aköz ekstraktının bir özneye uygulanmasını içerir.

Mevcut buluşun diğer bir amacı, bir hücrede telomer uzunluğunun arttırılmasının bir yöntemini sağlamaktır, söz konusu yöntem, söz konusu öznenin bir hücresinde bir telomerin uzunluğunu arttırmak üzere yeterli olan bir zaman periyodu boyunca bir *Uncaria* türünün bir aköz ekstraktının yaklaşık 200 mg ila yaklaşık 700 mg'lik günlük dozunun bir özneye oral olarak uygulanmasını içerir.

30

Mevcut buluşun diğer bir amacı, bir hücrede telomer uzunluğunun arttırılmasının bir yöntemini sağlamaktır, söz konusu yöntem, söz konusu öznenin bir hücresinde bir telomerin uzunluğunu arttırmak üzere farmasötik olarak etkili bir miktarda ve yeterli olan bir zaman periyodu boyunca bir *Uncaria* türünün bir aköz ekstraktının
5 bir özneye uygulanmasını içerir, burada söz konusu *Uncaria* türü, *Uncaria tomentosa*'dır.

Mevcut buluşun diğer bir amacı, bir hücrede telomer uzunluğunun arttırılmasının bir yöntemini sağlamaktır, söz konusu yöntem, söz konusu öznenin bir hücresinde
10 bir telomerin uzunluğunu arttırmak üzere yeterli olan bir zaman periyodu boyunca bir *Uncaria* türünün bir aköz ekstraktının yaklaşık 200 mg ila yaklaşık 700 mg'lık günlük dozunun bir özneye oral olarak uygulanmasını içerir, burada söz konusu *Uncaria* türü, *Uncaria tomentosa*'dır, burada söz konusu öznenin bir hücresinde bir telomerin uzunluğunu arttırmak üzere yeterli olan zaman periyodu en az bir
15 yıldır ve ayrıca burada söz konusu aköz ekstrakt, minimumda %8 karboksi alkil ester (CAE'ler) (ağırlık/ağırlık (w/w)) içerir.

Mevcut buluşun diğer bir amacı, bir hücrede telomer uzunluğunun arttırılmasının bir yöntemini sağlamaktır, söz konusu yöntem, söz konusu öznenin bir hücresinde
20 bir telomerin uzunluğunu arttırmak üzere yeterli olan bir miktarda ve bir zaman periyodu boyunca bir *Uncaria* türünün bir aköz ekstraktının bir özneye oral olarak uygulanmasını içerir, burada *Uncaria* türünün söz konusu aköz ekstraktı, bir kapsül, tablet, sıvı veya jel olarak sağlanır ve burada söz konusu *Uncaria* türü, *Uncaria tomentosa*'dır. Kapsül, tablet, sıvı veya jel, yavaş salınımlı bir formül
25 veya uzatılmış salınımlı bir formül olarak sağlanır.

Mevcut buluşun diğer bir amacı, bir hücrede telomer uzunluğunun arttırılmasının bir yöntemini sağlamaktır, söz konusu yöntem, söz konusu öznenin bir hücresinde bir telomerin uzunluğunu arttırmak üzere yeterli olan bir zaman periyodu boyunca
30 bir *Uncaria* türünün bir aköz ekstraktının yaklaşık 700 mg'lık günlük dozunun bir

özneye oral olarak uygulanmasını içerir, burada söz konusu *Uncaria* türü, *Uncaria tomentosa*'dır ve söz konusu özne bir insandır.

5 Mevcut buluşun bu ve diğer amaçları, açıları ve özellikleri, burada açıklanan örnekler ile bağlantılı olarak okunduğunda aşağıdaki detaylı açıklamadan daha iyi anlaşılacaktır.

ŞEKİLLERİN KISA AÇIKLAMASI

10 ŞEKİL 1 Bir yıl ve iki yıllık zaman noktalarında, tedaviden önce ve tedaviden sonra, bir insan çalışma katılımcısı, özne HV'nin telomer uzunluğu. Tedavi, 700 mg'lık günlük dozda bir kapsül içinde formüle edilen *Uncaria tomentosa*'nın bir aköz ekstraktının oral uygulaması ile gerçekleştirilmiştir. Standart eğri, farklı yaşlarda genel popülasyona yönelik ortalama telomer
15 uzunlukları sağlar.

ŞEKİL 2 Bir yıl ve iki yıllık zaman noktalarında, tedaviden önce ve tedaviden sonra, bir insan çalışma katılımcısı, özne EL'nin telomer uzunluğu.

20 ŞEKİL 3 Bir yıl ve iki yıllık zaman noktalarında, tedaviden önce ve tedaviden sonra, bir insan çalışma katılımcısı, özne DB'nin telomer uzunluğu.

ŞEKİL 4 Bir yıl ve iki yıllık zaman noktalarında, tedaviden önce ve tedaviden sonra, bir insan çalışma katılımcısı, özne LC'nin telomer uzunluğu.

25

ŞEKİL 5 Bir yıl ve iki yıllık zaman noktalarında, tedaviden önce ve tedaviden sonra, bir insan çalışma katılımcısı, özne RC'nin telomer uzunluğu. Bu özne, doktorunun talebine göre çalışmanın ikinci yılı sırasında 4 ila 5 ay boyunca AC-11® kullanımını bırakmıştır.

30

ŞEKİL 6 Bir yıl ve iki yıllık zaman noktalarında, tedaviden önce ve tedaviden sonra, bir insan çalışma katılımcısı, özne LM'nin telomer uzunluğu.

5 ŞEKİL 7 Bir yıl ve iki yıllık zaman noktalarında, tedaviden önce ve tedaviden sonra, bir insan çalışma katılımcısı, özne KC'nin telomer uzunluğu.

ŞEKİL 8 Bir yıl ve iki yıllık zaman noktalarında, tedaviden önce ve tedaviden sonra, bir insan çalışma katılımcısı, özne BD'nin telomer uzunluğu.

10 ŞEKİL 9 Bir yıl ve iki yıllık zaman noktalarında, tedaviden önce ve tedaviden sonra, bir insan çalışma katılımcısı, özne MM'nin telomer uzunluğu. Bu özne, doktorunun talebine göre 4 ila 5 ay boyunca AC-11[®] kullanımını bırakmıştır.

15 ŞEKİL 10 Bir yıl ve iki yıllık zaman noktalarında, tedaviden önce ve tedaviden sonra, bir insan çalışma katılımcısı, özne JM'nin telomer uzunluğu.

ŞEKİL 11 Bir yıl ve iki yıllık zaman noktalarında, tedaviden önce ve tedaviden sonra, bir insan çalışma katılımcısı, özne LCR'nin telomer uzunluğu.

20

BULUŞUN DETAYLI AÇIKLAMASI

Bir hayvana bir bitki ekstraktının uygulanmasına, böylece hayvanın bir hücresine bitki ekstraktının dağıtılmasına yönelik yöntemler teknikte iyi bilinir. Standart dağıtım araçları tasarlanır. Buna göre bitki ekstraktı, istenen dozaj rejimini kolaylaştırmak amacıyla bir kapsül, tablet, sıvı, jel, losyon, krem veya merhem gibi bir dağıtım aracı içinde formüle edilebilir. Bitki ekstraktı, oral olarak, topikal olarak veya bir transdermal yama aracılığıyla uygulanabilir. Dağıtım araçları, özellikle bir kapsül, tablet, sıvı veya jel, yavaş salınımlı bir formül veya uzatılmış salınımlı bir formül olarak sağlanabilir.

25

30

Telomer uzunluğunun ölçülmesine yönelik yöntemler, teknikte iyi bilinir ve örneğin Cawthon, RM (2002, *yukarıda yer almaktadır*), Harley et al. (1990, *yukarıda yer almaktadır*), O'Callaghan and Fenech (2011, *yukarıda yer almaktadır*), USPN 5,489,508 (West et al., 6 Şubat 1996'da yayınlanmıştır) ve
 5 USPN 5,741,677 (Kozlowski et al., 21 Nisan 1998'de yayınlanmıştır) ayrıca burada sağlanan örnekler içinde açıklanır. Cawthon, RM'nin (2002, *yukarıda yer almaktadır*) nicel polimeraz zincir reaksiyonu, diğer bir primere hibritleştirildiğinde değil ancak telomer hekzamer tekrarlarına hibritleştirildiğinde her bir primerin, DNA polimerazının bunun 3'-ucundan uzanmasına olanak
 10 sağlamak üzere tasarlandığı bir primer çiftini kullanan bir floresan bazlı analizdir. Herhangi bir telomer uzunluğunu ölçme yöntemi, mevcut buluşun yönteminde kullanılabilir.

Aşağıda belirtilen örneklerde kullanılan *Uncaria tomentosa*'nın aköz ekstraktı, 20
 15 yıllık bir araştırma üzerine iyi bir şekilde karakterize edilmiştir (bakınız örneğin 21 Mart 2000'de yayınlanan, Pero, RW'ye, ait US Pat. No. 6,039,949 ve 12 Şubat 2013'te yayınlanan Pero, RW'ye ait US Pat. No. 8,372,449). Aköz ekstrakt, US Pat. No. 8,372,449 (*yukarıda yer almaktadır*) ve Sheng et al. (2001, *yukarıda yer almaktadır*) içinde açıklandığı üzere %8-10 (w/w) aralığında değişen CAE
 20 konsantrasyonu ile minimumda %8 (w/w) karboksi alkil esterleri (CAE'ler) içeren ticari bir ürün elde etmek üzere maltodekstrin gibi bir taşıyıcı eleman üzerinde spreyle kurutulmuştur. Bu ürün aynı zamanda AC-11[®] olarak bilinir. Burada açıklanan örnekler, bu şekilde hazırlanan 350 mg AC-11[®] içeren kapsüller kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

25

AC-11[®], dikkatli toksikolojik çalışmalara (Sheng et al. (2000) J. Ethnopharmacology 69: 115-126) tabi tutulmuştur. 8 g/kg vücut ağırlığının bir dozuna kadar ürünün tek oral dozlarının bir grubu verilen sıçanlarda veya arka arkaya altı hafta boyunca 5 mg/kg'lık günlük dozların verildiği insan gönüllülerde
 30 herhangi bir akut toksisite gözlemlenmemiştir. 8 hafta boyunca 10/80 mg/kg veya 4 hafta boyunca 160 mg/kg dozlarında *U. Tomentosa* ekstraktları ile günlük olarak

tedavi edilen sıçanlar, herhangi bir kronik toksisitenin akut işaretlerini göstermemiştir (Sheng et al., 2000, *yukarıda yer almaktadır*). Ayrıca *U. tomentosa* asmasının dış kabuğu yaban, spesifik olarak Amazon yağmur ormanlarından toplanır. Bu, sıcak su özütleme prosesine yönelik başlangıç

5 materyalidir. Su dışında herhangi bir diğer solvent, özütleme prosesinde kullanılmaz. Ayrıca AC-11, 15 yıllık ticari kullanım üzerine örnek niteliğinde bir mikrobiyolojik profile ve kusursuz bir güvenlik kaydına sahiptir. AC-11'in güvenlik profilini değerlendirmek üzere kullanılan toksikolojik tarama analizleri, teknikte iyi bilinir (bakınız örneğin, Hasnisa et al. (2017) J. Trop. Agric. and Fd.

10 Sci. 45(1): 111-119; Zhang et al. (2017) Fundam. Toxicol. Sci. 4(2): 45-56; and Parasuraman, S. (2011) J. Pharmacol. and Pharmacotherapeutics 2(2): 74-79).

Tercih edilen bir düzenlemede hayvan, bir memelidir. Diğer bir düzenlemede hayvan, bir fare veya sıçan dahil olmak üzere bir kemirgendir. Diğer bir

15 düzenlemede hayvan, bir insan dahil olmak üzere bir primattır.

Bazı düzenlemelerde özne, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı veya kanser gibi bir hastalığa veya bozukluğa sahip olan bir insandır. Diğer düzenlemelerde özne, açık bir şekilde sağlığı iyi olan bir insandır.

20

Buluşun yönteminin tercih edilen bir düzenlemesinde ekstrakt oral olarak uygulanır ve doz yaklaşık 700 mg/gün'dür. Diğer düzenlemelerde doz, yaklaşık 200 mg/gün ila yaklaşık 700 mg/gün aralığında değişir. Bazı düzenlemelerde günlük doz yaklaşık 350 mg'dir. Diğer düzenlemelerde günlük doz yaklaşık 250

25 mg'dir. Sıçanlarda oral dozajlama, $LD_{50} > 8\text{g/kg}$ göstermiştir (Sheng et al. (2001) J. Ethnopharm. 69: 115-26). Sıçanlarda gösterilen yüksek tolerans seviyesi göz önünde bulundurulduğunda özneye toksik olabilecek seviyenin altında kalan bir doza kadar olan, bir özneye uygulanan 10 g/gün'lük bir doz tasarlanır. Benzer bir şekilde 200 mg/gün'lük bir dozun bir öznenin bir hücrelerinde bir telomerin

30 uzunluğunu arttırmak üzere etkili olması tasarlanırken aynı zamanda yeterli bir zaman periyodu boyunca uygulandığında 200 mg/gün'ün altındaki dozların uygun

bir zaman periyodu boyunca uygulanması durumunda öznenin bir hücresinde bir telomerin uzunluğunu arttırmak üzere etkili olması tasarlanır. Burada açıklanan dozlar, %8-10 (w/w) CAE içeren bir ekstrakta refere eder.

- 5 Tercih edilen bir düzenlemede bir öznenin hücrelerinde telomerlerin uzunluğunu arttırmak üzere yeterli olan zaman periyodu en fazla bir yıllık bir zaman periyodudur. Diğer düzenlemelerde bir öznenin hücrelerinde telomerlerin uzunluğunu arttırmak üzere yeterli olan zaman periyodu yaklaşık 6 ay ile yaklaşık 2 yıl aralığındadır. Bazı düzenlemelerde *Uncaria* ekstraktının günlük
- 10 dozajlamasını içeren düzenli dozajlama, öznenin yaşamı boyunca devam ettirilir. Tedavi süresi geniş çapta değişebilir ve telomer uzunluğunun artmasına neden olmaya devam eder. İncelenen bu açıklama ile teknikte uzman bir kişi, telomer uzatmasına neden olmak üzere farmasötik olarak etkili bir dozajı belirleyebilir.
- 15 Tercih edilen bir düzenlemede dozajlama sıklığı günde bir keredir. Diğer düzenlemelerde dozajlama sıklığı günde iki keredir. Diğer düzenlemelerde dozajlama sıklığı, en az günde bir kere ile en az ayda bir kere aralığındadır. *Uncaria* ekstraktı, günde bir kere, günde iki kere, iki günde bir kere, üç günde bir kere, haftada bir kere veya ayda bir kere uygulanabilir. Diğer düzenlemelerde bir
- 20 transdermal yama, iki günde bir kere veya haftada bir kere uygulanır ve uzatılmış bir zaman periyodu boyunca özneye ekstraktı dağıtır. Buna göre dozajlama sıklığı geniş çapta değişebilir ve telomer uzunluğunda bir artışa neden olmaya devam eder.
- 25 Tercih edilen bir düzenlemede öznenin telomerleri, ekstraktın uygulanmasından önce ve bir öznenin bir hücresinde bir telomerin uzunluğunu arttırmak üzere yeterli olan bir zaman periyodundan sonra ölçülür. Diğer düzenlemelerde numuneler, *Uncaria* ekstraktının uygulanmasından önce ve tedavi periyodu sırasında çeşitli zaman noktalarında bir öznenin alınır. Numuneler muhafaza
- 30 edilebilir ve telomer uzunluğu, numunenin elde edilmesinden sonra herhangi bir zaman değerlendirilebilir. Bazı düzenlemelerde numuneler toplanır, bir zaman

periyodu boyunca muhafaza edilir ve akabinde bütün numunelerin öznenen elde edilmesinden sonra telomer uzunluğunun ölçümüne tabi tutulur.

5 Tercih edilen bir düzenlemede *Uncaria* ekstraktı, oral uygulamaya yönelik bir kapsül, tablet, sıvı, şurup veya jel olarak formüle edilir. Diğer düzenlemelerde *Uncaria* ekstraktı, topikal uygulamaya yönelik bir losyon, krem, merhem veya jel olarak formüle edilir. Diğer bir düzenlemede *Uncaria* ekstraktı, sistemik uygulamaya yönelik bir transdermal yama olarak formüle edilir.

10 Buluşun yönteminin tercih edilen diğer bir düzenlemesinde *Uncaria* türü, *Uncaria tomentosa*'dır.

ÖRNEKLER

15 Aşağıdaki örnekler, buluşun açılarını gösterir ve teknikte uzman kişiye mevcut buluşu nasıl yapacağı ve kullanacağına yönelik tam bir açıklama sağlar ve buluşçuların buluşları olarak kabul ettikleri kapsamı sınırlandırmayı amaçlamaz ve aşağıdaki deneylerin tamamını veya sadece gerçekleştirilen deneyleri temsil etmeyi amaçlamaz. Ayrıca bu sınırlayıcı olmayan örnekler, buluşun
20 uygulanmasında faydalı olan spesifik metodoloji sağlar.

ÖRNEK 1

AC-11[®] İnsan Pilot Çalışması: Yaşlanan Popülasyonda Telomer Uzunluğu
25 üzerinde AC-11[®] Etkisi

Ortalama kişi telomeri, yetişkinlikte her yıl kısılır. Bu durum, şekillerin her biri üzerinde koyu çizgiyle yansıtılır. 11 insan gönüllüsünün bir pilot çalışması, bir yıllık ve iki yıllık zaman noktalarında AC-11[®] ile tedaviden önce ve tedaviden
30 sonra telomer uzunluklarını ölçmüştür. Tedavi, 700 mg'lık günlük dozda bir kapsül içinde formüle edilen *Uncaria tomentosa*'nın bir aköz ekstraktının oral

uygulaması ile gerçekleştirilmiştir. Ekstrakt, %8-10 CAE (w/w) içermiştir. 11
öznenin hepsinin telomeri, bazı durumlarda dramatik olmak üzere uzunluk
açısından artmıştır. ŞEKİLLER 1-11, asıl telomer uzunluğunu (kilobaz cinsinden)
ve açık görsel gösterime yönelik her bir öznenin yüzdeli puanlarını sağlar.
5 Sonuçlar şaşırtıcı ve beklenmedik olmuştur. Tek istisna, doktorunun talebine göre
her biri 4 ila 5 ay boyunca AC-11® kullanımını durduran iki özne (RC ve MM)
olmuştur (ŞEKİLLER 5 ve 9). Bunları, kısalan tek telomerler olmuştur. Tedavi
edilmemiş olarak bırakılmaları halinde çalışma süreci sırasında verilen yaşlarda
telomer uzunluğunda %2 ila 5'lik kayba sahip olmalarının çalışmadaki insanlara
10 yönelik normal olduğunu dikkate alın.

Bir kalıp, taban çizgisi puanları ortalamanın oldukça altında başlayan 5 insandan
4'ünde ortaya çıkmıştır. Her bir skor, yıl 1 içinde yavaşça yukarı gitmiştir ve
akabinde yıl 2 içinde aniden yükselmiştir. Bu bulgu, daha kötü telomer sağlığı
15 olan insanlarda telomer uzunluğu onarımına gecikmiş bir yanıtı yansıtabilir. Diğer
bir ticari ürün (bakınız USPN 7,846,904, 7 Aralık 2010'de yayınlanmıştır), DNA
hasarını onarmadan telomerazı çoğaltarak telomerleri uzatmayı sunarken bu
yaklaşım, DNA hasarını azaltmaksızın hücrenin bölme kapasitesinin
arttırılmasının kansere neden olabilecek hücre mutasyonlarının ve epigenetik
20 değişikliklerin birikmesi olasılığını arttırmasının beklenmesi nedeniyle tartışmaya
açıktır. Yeterli onarım olmaksızın hücreler, sağlık, yaşlanma ve hastalık üzerinde
olumsuz bir etkiye sahip olabilecek hasarlı DNA'nın artmış birikimi ile
tekrarlayacaktır. AC-11®'nin biyolojik etkileri, aynı zamanda doğal DNA onarım
prosesini geliştirirken telomerleri ve hücresel yaşam süresini uzatması açısından
25 bu sorunu ele alır.

En yüksek puanlı hasta, ortalama telomer uzunluğundan yıl 1 içinde yüzde 91'e
çıkmıştır ve akabinde yıl 2 içinde %92'ye küçülmüştür.

30 Uygunluk sağlamak amacıyla AC-11®, her bir hastaya aylık olarak dağıtılmıştır.
Seçilen numune, oldukça homojen bir numune olmuştur: daha yaşlı, etiğe uygun

ve bilinen herhangi bir hastalığı olmayan sağlık odaklı kişilerdir, bunlar, kendi telomer testlerine yönelik ödeme yapmıştır. AC-11[®], her bir kişiye ücretsiz olarak sağlanmıştır.

- 5 Tam kan, her bir öznenen alınmıştır, uygun zaman noktalarında işlenmiştir ve SpectraCell ile analiz edilmiştir böylece tarafsız veri toplama sağlanmıştır. Çekirdekli beyaz kan hücreleri, tam kandan ayrılmıştır ve telomer uzunluğunu ölçmek üzere kullanılmıştır. Genomik DNA, beyaz kan hücrelerinden izole edilmiştir ve telomer uzunluğu, Cawthon, RM qPCR yöntemine (2002, *yukarıda*
- 10 *yer almaktadır*) göre değerlendirilmiştir. Sonuçlar şaşırtıcı ve beklenmedik olmuştur. İstatistik numunenin küçük olmasına rağmen yıl bir içinde açık ve güçlü bir trend meydana gelmiştir ve yıl iki içinde devam etmiştir (bakınız Tablo 1). Telomer uzunluğundaki değişiklikler normal olarak oldukça yavaş bir prosestir ve normal olarak bir kısaltma prosesidir (bakınız Şekiller 1-11'deki standart eğri).

15

Tablo 1. Oral dozajlamadan önce ve *Uncaria tomentosa*'nın bir aköz ekstraktının 700 mg/gün oral uygulamasından bir yıl ve iki yıl sonra her bir özneye yönelik telomer uzunlukları. Özneler RC ve MM, doktorunun talebine göre 4 ila 5 ay boyunca AC-11[®] kullanımını bırakmıştır. Kısaltmalar: **kb** = kilobaz.

20

Özne	Taban çizgisi (kb)	Yıl 1 (kb)	Yıl 2 (kb)	Değişiklik (kb)
HV	5.68	6.09	7.24	+1.56
EL	4.57	4.57	5.52	+0.95
DB	7.71	8.16	8.48	+0.77
LC	6.4	7.98	8.06	+1.66
RC	6.02	6.55	6.36	+0.34
LM	5.15	5.37	7.44	+2.29
KC	6.01	7.06	7.63	+1.62
BD	5.67	6.62	7.74	+2.07

MM	6.89	6.62	7.11	+0.22
JM	7.27	7.7	7.67	+0.40
LCR	5.2	5.45	6.8	+1.60

ÖRNEK 2

Toksisite Çalışmaları

5

En fazla 8 hafta boyunca 40, 80 veya 160 mg/kg/gün'lük dozlarda sıçanlara uygulanan oral AC-11[®], gıda tüketiminde veya kilo alımında herhangi bir önemli değişikliğe neden olmamıştır. 8 g/kg'ye kadar olan tek oral dozlar, ölümlere veya akut toksisite işaretlerine neden olmamıştır. Bu nedenle sıçanlarda LD₅₀ > 8g/kg

10

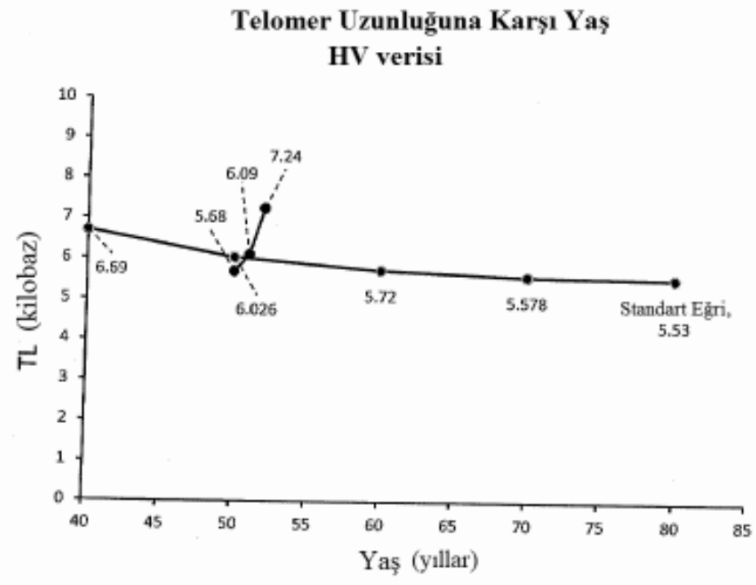
rapor edilmiştir (Sheng et al. (2000) J. Ethnopharm. 69: 115-26). 5 ila 160 mg/kg oral AC-11[®] verilen sıçanlar, karaciğer, böbrek ve dalak ağırlıklarında herhangi bir önemli farklılık göstermemiştir. Bir çalışma, 80 mg/kg AC-11[®] artı doksorubisin uygulanan sıçanların sadece doksorubisin alan hayvanlar ile karşılaştırıldığında önemli derecede artmış bir ortalama kalp ağırlığı katsayısına (%4.4) sahip olmuştur (%0.386 ± 0.034'e karşı %0.369 ± 0.022). Ancak AC-11[®] artı doksorubisin ile tedavi edilen hayvanlar tedavi edilmeyen kontroller ile karşılaştırıldığında ortalama kalp ağırlığında önemli herhangi bir fark olmamıştır. En fazla 8 hafta boyunca 5 ila 160 mg/kg/gün AC-11[®] ile tedavi edilen sıçanlardan elde edilen dokuların histopatolojik incelemesi, patolojik

15

20

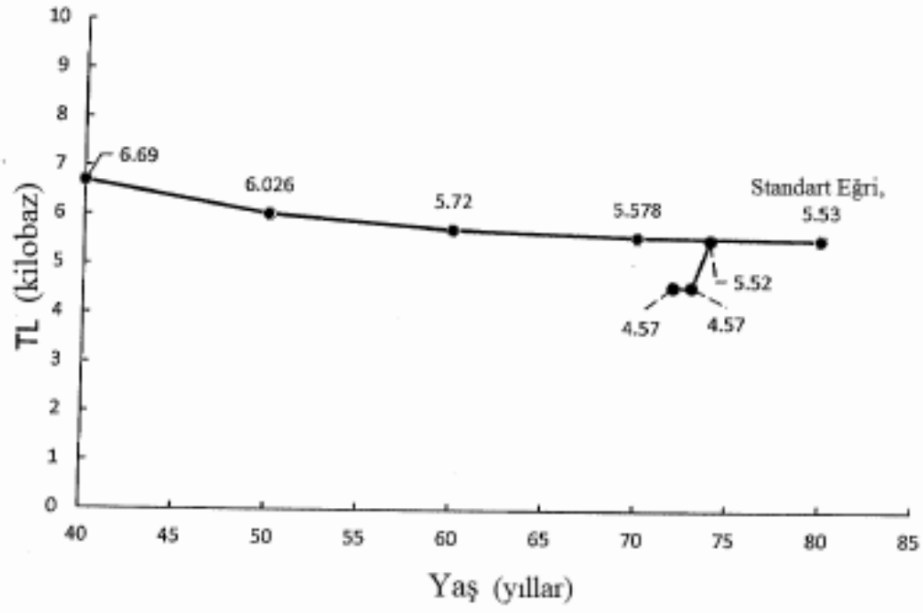
değişikliklerde bir artış ortaya çıkartmamıştır.

Şekil 1

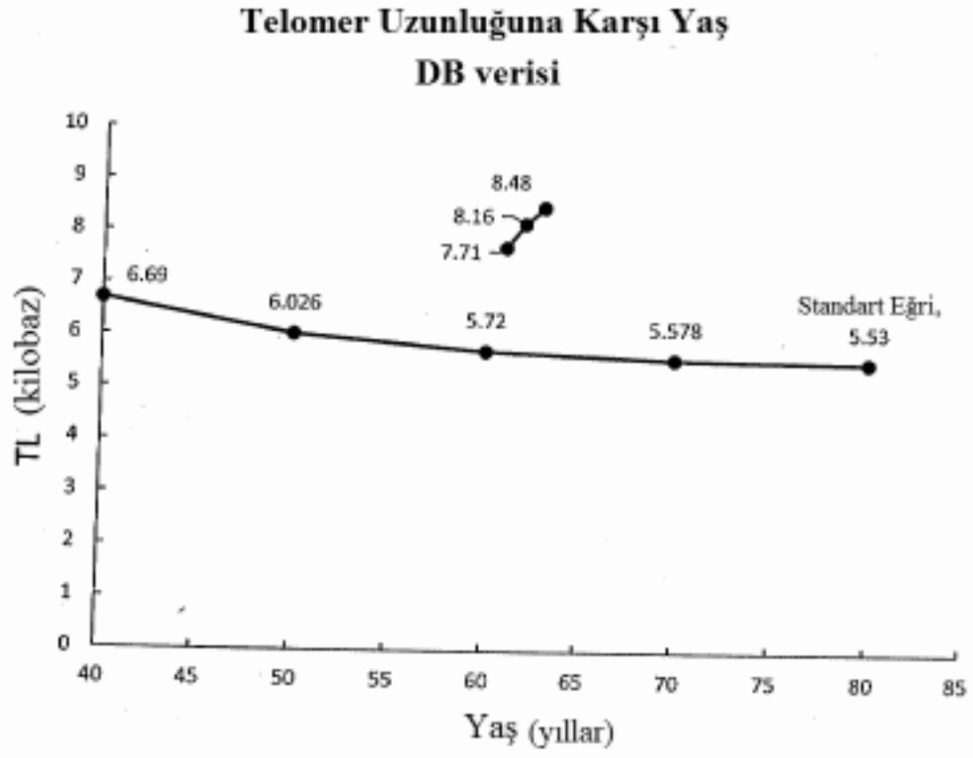


Şekil 2

Telomer Uzunluğuna Karşı Yaş
EL verisi

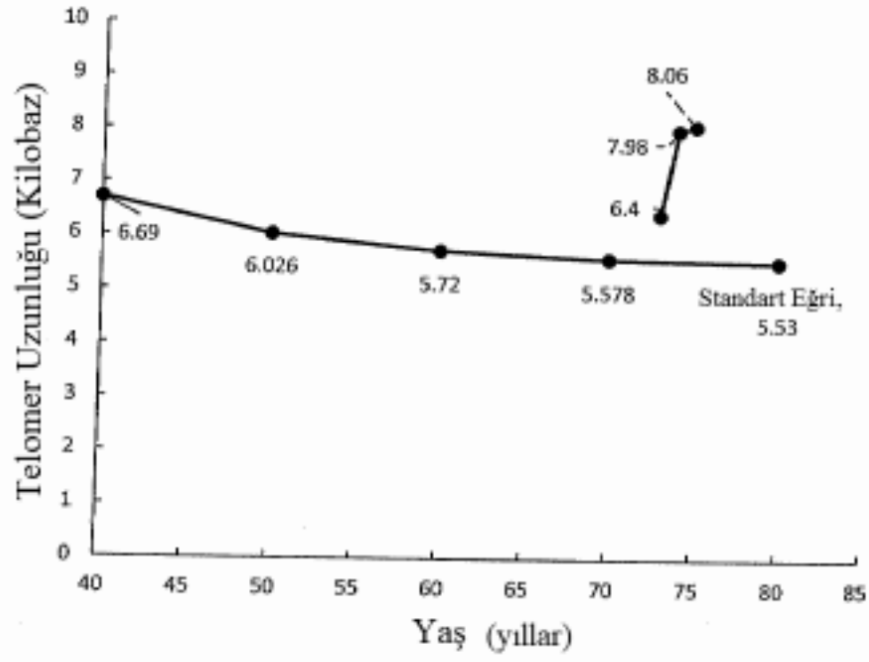


Şekil 3



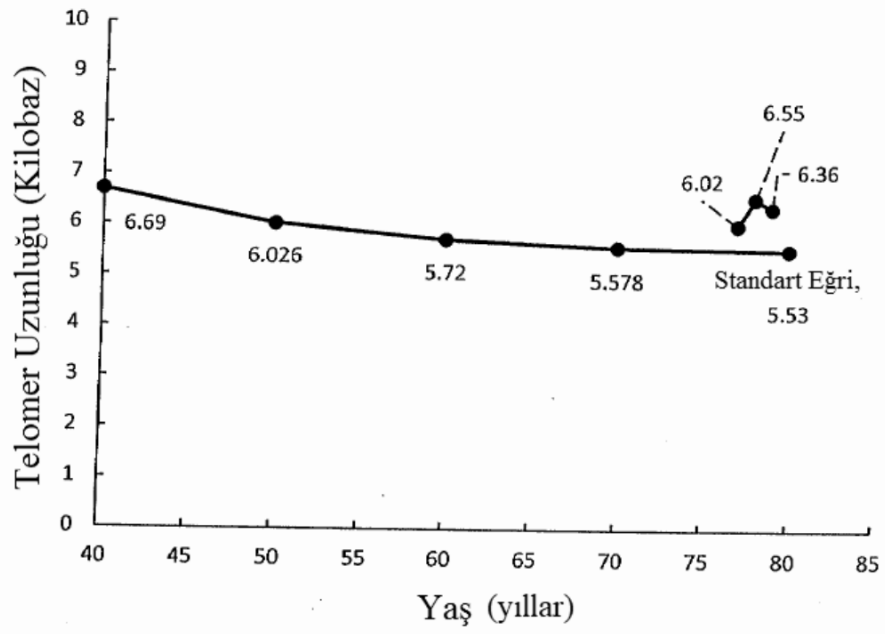
Şekil 4

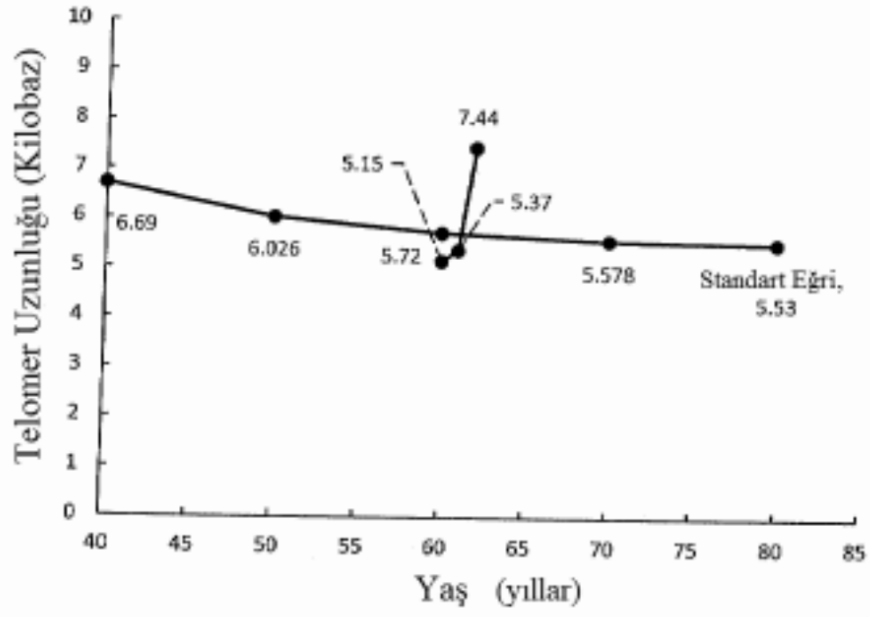
Telomer Uzunluğuna Karşı Yaş
LC verisi



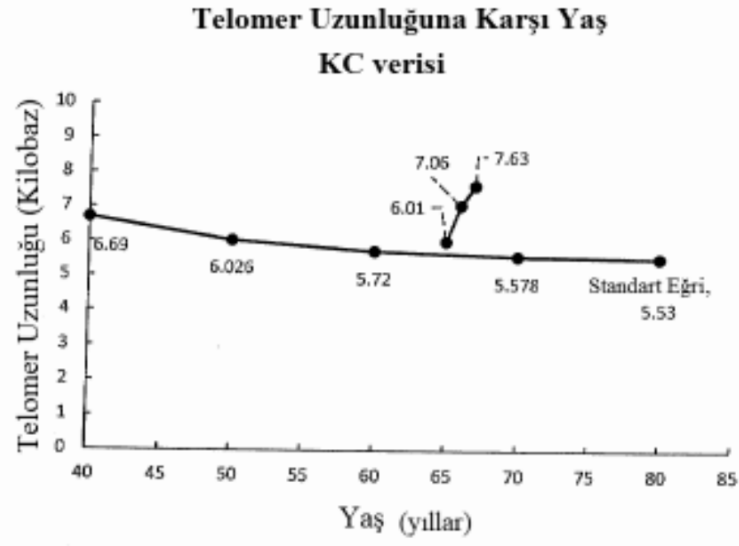
Şekil 5

Telomer Uzunluğuna Karşı Yaş
RC verisi

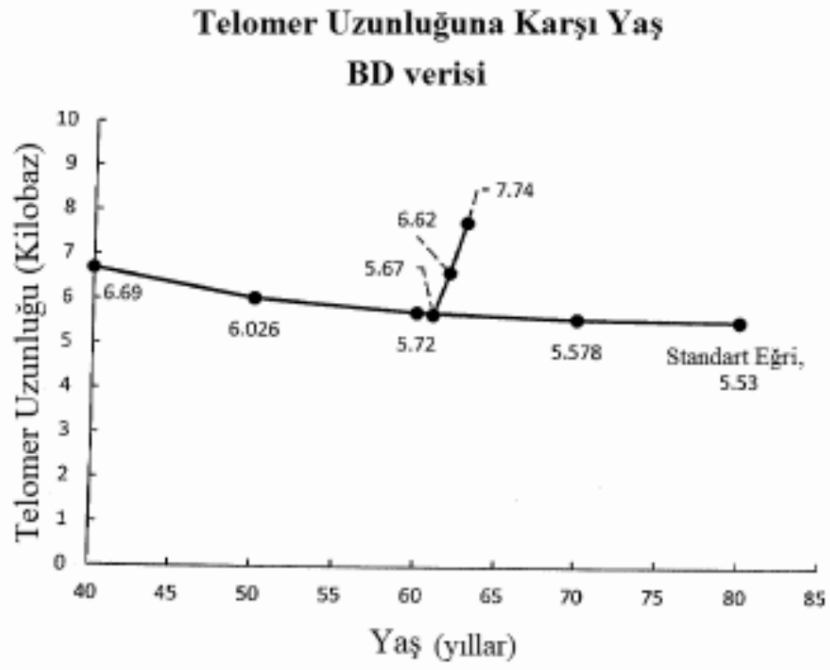


Şekil 6**Telomer Uzunluğuna Karşı Yaş
LM verisi**

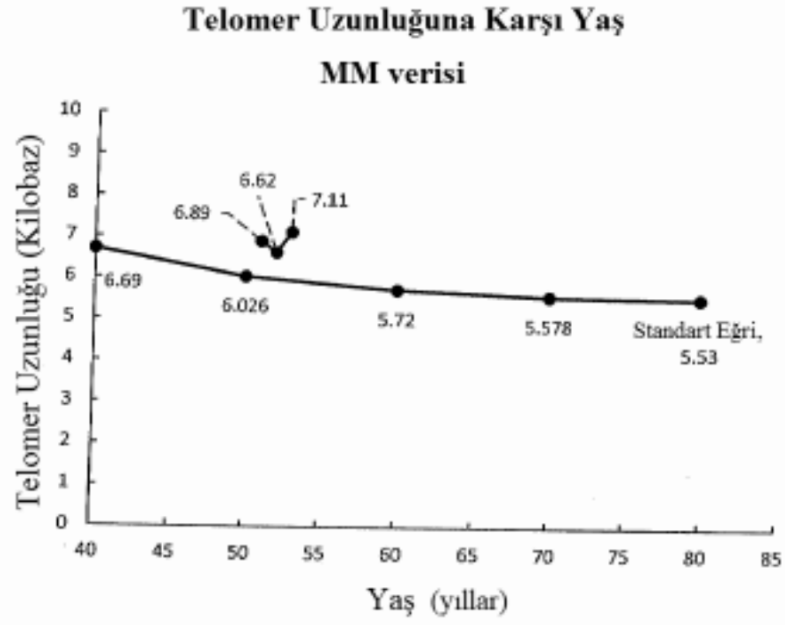
Şekil 7



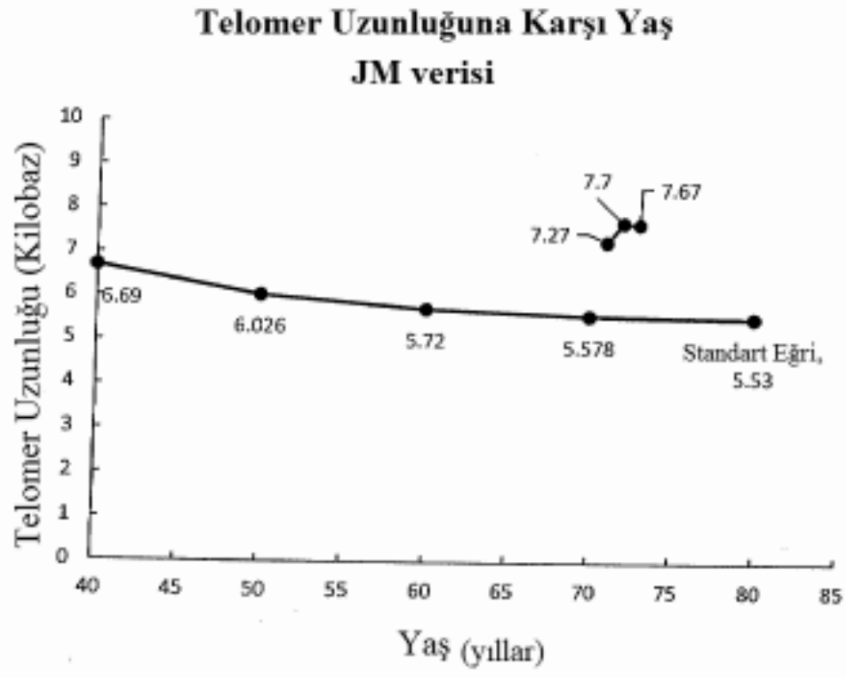
Şekil 8



Şekil 9



Şekil 10



Şekil 11

