

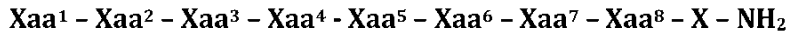
ÖZET**ADİPOKİNETİK HORMON/KIRMIZI PİGMENT-KONSANTRE EDİCİ HORMON (AKH/RPCH)
PEPTİT AİLESİNİN UTERUSTA KASILMA OLUŞTURMADA TERAPÖTİK KULLANIMI**

5 Mevcut buluş Adipokinetik hormon/Kırmızı pigment-konsantre edici hormon (AKH/RPCH) peptit ailesinin üyesi olan peptitlerin yeni bir kullanımı ile ilgilidir. Buluş özellikle uterusta kasılma oluşturmaya yönelik bir ajan olarak Adipokinetik hormon/Kırmızı pigment-konsantre edici hormon (AKH/RPCH) peptit ailesi ile ilgili olup; tamamlanmamış kürtaj veya düşük durumunda fetusun aborsiyonuna yardım etmek, zor doğum sırasında kasılma oluşturmak, doğumdan sonra kanamayı kontrol etmek ve doğum hasarına bağlı oluşan hastalıklara karşı koruma sağlamak için sunulması ile ilgilidir.

İSTEMLER

1. Uterusta kasılma oluşturmaya yönelik bir ajan olarak aşağıdaki yapıyı ihtiva eden bir peptit hormonu:

5



burada;

10

Xaa¹ bir piroglutamat rezidüsüdür,

Xaa² rezidüsü Leu, Val, Ile, Phe, Tyr aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,

Xaa³ rezidüsü Asn ve Thr aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,

Xaa⁴ rezidüsü Phe ve Tyr aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,

Xaa⁵ rezidüsü Thr ve Ser aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,

15

Xaa⁶ rezidüsü Pro, Ser, Thr, ve Ala aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,

Xaa⁷ rezidüsü Asn, Gly, Ser, Asp, Trp, ve Val aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,

Xaa⁸ rezidüsü Trp aminoasidi olarak seçilir,

20

X; 0 ila 2 aminoasite sahip bir rezidü olup; 1-2 aminoasit olması durumunda birinci için Gly rezidüsü, ikinci için Gly, Thr, Asn, Ser, Tyr, Trp rezidüsünden birini ihtiva eder.

2. İstem 1'e göre sunulan, uterus kasılması oluşturmaya yönelik bir ajan olarak bir peptit hormonu olup, özelliği söz konusu peptit hormonunun aşağıdaki yapıya sahip olmasıdır:

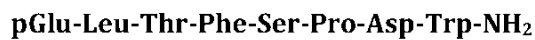
25



burada Xaa⁵ rezidüsü, Ser ve Thr rezidülerinden oluşan bir gruptan seçilmektedir.

3. İstem 1'e göre sunulan, uterus kasılması oluşturmaya yönelik bir ajan olarak bir peptit hormonu olup, özelliği söz konusu peptit hormonunun aşağıdaki yapıya sahip olmasıdır:

30



4. İstem 1 ila 3'ten herhangi birine göre sunulan, uterus kasılması oluşturmaya yönelik bir ajan olarak bir peptit hormonu olup, özelliği söz konusu ajanın kullanımının tamamlanmamış kürtaj veya düşük durumunda fetusun aborsiyonu, zor doğum sırasında kasılma oluşturmak, doğumdan sonra kanamayı kontrol etmek ve doğum hasarına bağlı oluşan hastalıklara karşı koruma sağlamak için olmasıdır.
- 5
5. İstem 4'e göre sunulan, uterus kasılması oluşturmaya yönelik bir ajan olarak bir peptit hormonu olup, özelliği söz konusu doğum hasarına bağlı oluşan hastalıkların fetal malformasyonlar, genetik mutasyonlar, fetusa geçebilen maternal enfeksiyon, intrauterin hipoksi, gestasyonel diyabet ve bir gebelik komplikasyonundan oluşan gruptan seçilmiş olmasıdır.
- 10
6. İstem 1'e göre sunulan, uterus kasılması oluşturmaya yönelik bir ajan olarak bir peptit hormonu olup, özelliği söz konusu peptit hormonunun bir farmasötik bileşim içerisinde sunulmuş olmasıdır.
- 15
7. İstem 6'ya göre sunulan, uterus kasılması oluşturmaya yönelik bir ajan olarak bir peptit hormonu olup, özelliği söz konusu farmasötik bileşimin enjeksiyonluk su içerisinde bir solüsyon formunda olmasıdır.
- 20
8. İstem 7'ye göre sunulan, uterus kasılması oluşturmaya yönelik bir ajan olarak bir peptit hormonu olup, özelliği söz konusu farmasötik bileşimin enjeksiyonluk ampul veya flakon formunda olmasıdır.
- 25
9. İstem 6'ya göre sunulan, uterus kasılması oluşturmaya yönelik bir ajan olarak bir peptit hormonu olup, özelliği söz konusu farmasötik bileşimin bir koruyucu, çözüldürücü ve PH ayarlama ajanından oluşan bir gruptan seçilen en az bir ekşiyan ihtiva etmesidir.
- 30
10. İstem 6'ya göre sunulan, uterus kasılması oluşturmaya yönelik bir ajan olarak bir peptit hormonu olup, özelliği söz konusu farmasötik bileşimin bir ekşiyan olarak sodyum klorür ihtiva etmesidir.
- 35
11. İstem 7'ye göre sunulan, uterus kasılması oluşturmaya yönelik bir ajan olarak bir peptit hormonu olup, özelliği söz konusu farmasötik bileşimdeki peptit hormonunun miktarının 0.001 mg/ml ile 1.0 mg/ml arasında olmasıdır.

12. İstem 11'e göre sunulan, uterus kasılması oluşturmaya yönelik bir ajan olarak bir peptid hormonu olup, özelliği söz konusu farmasötik bileşimdeki peptid hormonunun miktarının 1.0 mcg/ml ile 50.0 mcg/ml arasında olmasıdır.

5

10

Tarifname

ADİPOKİNETİK HORMON/KIRMIZI PİGMENT-KONSANTRE EDİCİ HORMON (AKH/RPCH) 5 PEPTİT AİLESİNİN UTERUSTA KASILMA OLUŞTURMADA TERAPÖTİK KULLANIMI

Buluşun İlgili Olduğu Teknik Alan

10 Mevcut buluş Adipokinetik hormon/Kırmızı pigment-konsantre edici hormon (AKH/RPCH) peptit ailesinin üyesi olan peptitlerin yeni bir kullanımı ile ilgilidir. Buluş özellikle uterusu kasılma oluşturmaya yönelik bir ajan olarak Adipokinetik hormon/Kırmızı pigment-konsantre edici hormon (AKH/RPCH) peptit ailesi ile ilgili olup; tamamlanmamış kürtaj veya düşük durumunda fetusun aborsiyonuna yardım etmek, zor doğum sırasında kasılma oluşturmak, doğumdan sonra kanamayı kontrol etmek ve doğum hasarına bağlı oluşan hastalıklara karşı koruma sağlamak için sunulması ile 15 ilgilidir.

Buluşun Arka Planı

Literatürde böceklerde peptitlerin varlığı özellikle böcek nöropeptitleri hakkında detaylı bilgi bulmak mümkündür. Böcek nöropeptitleri açısından düşünüldüğünde homeostaz ve metabolizmadan 20 sorumlu peptitler, üreme, büyüme ve gelişmeyi düzenleyen peptitler ve spontan kas hareketlerini modifiye eden peptitler olarak bir sınıflandırma yapılabilir. Böceklerdeki karakter olarak metabolik, davranışsal, gelişim veya üremeye ilgili olabilecek birçok prosesin nöropeptitler tarafından etkilendiği veya düzenlendiği bilinmektedir.

25 Majör nöropeptit gruplarından biri adipokinetik ve hipertrehalosemik peptitler olup AKH/RPCH peptit ailesine aittir. Adipokinetik veya hiperlipemik etki, hemolenf lipitlerin (diacilgliserol) konsantrasyonunun artmasıdır. Hipertrehalosemik etki ise hemolenf karbonhidratlarının (şeker trehaloz) artmasıdır. Adipokinetik ve hipertrehalosemik peptitler yağ, karbonhidrat ve protein metabolizmasını kontrol ederler. Bu peptit grubunun AKH/RPCH peptit ailesi olarak 30 isimlendirilmesinin sebebi, adipokinetik ve hipertrehalosemik peptitlerin karides *Pandalus borealis* (Rab-RPCH)'deki kırmızı pigment-konsantre edici hormon ile yapısal benzerliğidir. Bugüne kadar 30 peptit tespit edilmiştir ki bu da bu aileyi en geniş peptit ailelerinden biri yapar. Bütün üyeler 8 ila 10 aminoasit uzunluğunda olup N-terminalde proglutamat rezidü ve C-terminalde bir amid ile

bloklanmıştır. 4 (Phe veya Tyr) ve 8 (Trp) pozisyonunda aromatik rezidüer bulunmaktadır ve çoğu durumda aminoasit sıralaması benzerdir.

AKH/RPCH peptit ailesinin hiperlipemik ve hipertrehalosemik etkilerinin yanı sıra aşağıda verilen

5 aktiviteri de majör aktiviter olarak belirtilmektedir:

- Periplaneta Americana'nın kalp çarpma sıklığının stimülasyonu
- Çekirgenin izole edilmiş bacağıının spontan aktivitesindeki kas tonunun ve kasılma sıklığının artması
- L. migratoria ve circirböceęi Acheta domesticus'ın protein sentezinin engellenmesi
- 10 • S. gregaria'nın yağ asidi sentezinin engellenmesi
- L. migratoria'nın yağ kitlesinde RNA sentezinin engellenmesi

Sonuç olarak, AKH/RPCH peptitleri çeşitli böcek model sistemlerinde özellikle yağ kitlesinin metabolik durumuna etki etmek de dâhil olmak üzere birçok fizyolojik etki oluşturlar. Buna bağlı olarak adipokinetik hormon fonksiyonlarının çekirgenin uçuşundaki etkisi üzerine birçok fizyolojik araştırma yapılmıştır. Söz konusu hormonların, karbonhidrat ve lipidlerin mobilizasyonunda ve/veya bu substratların uçuş kaslarında kullanımında direkt etkisi vardır ancak bunlara ilave olarak lipidlerin lipoprotein olarak uçuş kaslarına aktarılmasında ve uçuş kaslarındaki lipoprotein lipazın enzim sistemi üzerinde indirekt etkisi de vardır. Bu enzim lipoproteinden diaçilgliserolün boşaltılması ve sonuç olarak uçuş kasının kasılmasına imkân veren oksidasyona hazır olmasını sağlamaktan sorumludur (*Gade G., The Explosion of Structural Information on Insect Neuropeptides, in "Progress in the Chemistry of Organic Natural Products no. 71", 1997*).

Böceklerdeki adipokinetik ve hipertrehalosemik hormonların öncelikli işleri hemolenfte dolaşan trehaloz (disakkarit), diaçilgliserol ve prolin gibi enerji metabolitlerini regüle etmektir. Bu peptit hormonlar beynin arkasındaki nöroendokrin bezi korpora kardiakada bulunan nörosekretuar nöronların ürünleridir. Böcek korpora kardiakanın yapısal düzenlemesi omurgalı endokrin sisteminin hipotalamus-nörohipofizine benzerdir (*Gade, G., Heather G., Adipokinetic and hypertrehalosemic neurohormones in "Marco Biomedical and Life Sciences Encyclopedia of Entomology", Springer reference*).

Böceklerin korpus kardiakumundaki nörosekretuar hücreleri böceğe bağlı olarak adipokinetik, hipertrehalosemik veya hiperprolinaemik hormon adı verilen bir takım hormonlar sentezler. Bu nöropeptitler hormon gibi davranırlar ki dolayısıyla nörohormondurlar ve özellikle böceğin oksidatif

metabolizması çok yüksek olduğunda örneğin uçuş kasları maksimumda ve uzun periyotlarda kasıldığında gereklidirler. Dolayısıyla böcekler yağ dokusundaki depolardan mobilize edilecek yüksek miktarda enerjiye ihtiyaç duyarlar (*Gade, G., The importance of small peptide hormones for regulation of energy metabolism in insects, Seminar, 2011, Cape Town*).

5 Adipokinetik hormonlar (AKHlar) birçok böcekte yağ dokusundan enerji sübstratlarının mobilizasyonuna aracılık eden, metabolik nöropeptitlerdir. Bu nöropeptitleri ifadeleyen dAkh geni üzerinde yapılan transjenik manipülasyonlar sonucunda AKH'ların hem hipertrehalosemiye hem de hiperlipemiye yol açtığı anlaşılmıştır. Ayrıca AKH peptitlerinin motor nöronlar üzerinde uyarıcı etkileri olduğu bilinmektedir.

Heterologus (çekirge ve hamamböceklerinde) ve homologus bioanaliz kullanılarak, İmparator Yusufçuk *Anax Imperator*'un korpora kardiakasının ekstraktlarından pGlu-Val-Asn-Phe-Ser-Pro-Ser-Trp-NH₂ nöropeptidi izole edilmiştir. Sentetik peptidin düşük konsantrasyonlarının İmparator Yusufçuk'a enjeksiyonları hemolenf lipid konsantrasyonlarını arttırmış bu durum da uçuş sırasında peptidin lipid homeostazda bir rolünün olduğunu düşündürmüştür. Bu nedenle, Ani-AKH, yani *Anax imperator* adipokinetik hormonu olarak adlandırılmıştır [*Gade G, Janssens MP, Kellner R. A novel peptide in the AKH/RPCH family isolated from the corpora cardiaca of the Emperor dragonfly, Anax imperator. Peptides, Vol. 15, No. 1, pp. 1-6, 1994*].

20 Adipokinetik hormonların lipit metabolizmasındaki fonksiyonları US 6,852,693 no'lu ABD patentine de konu olmuştur. Söz konusu patent böcek AKH ailesine dâhil peptitlerin yapılarına dayanarak elde edilen polipeptit bileşiklerin insanlarda lipitlerin mobilize edilmesi için kullanılmasına dair bir yöntemle ilişkindir. Söz konusu başvuru bu bileşik ve peptitlerin insan vücut ağırlığını değiştirmede 25 örneğin kilo kaybında etkili olabileceğini ve insanda lipit mobilizasyonunda etkili olabilecek diğer bileşiklerin ayırt edilmesinde kullanılan yöntemleri açıklamaktadır.

Buluş sahibinin yakın zamandaki bir çalışmasında, (AKH/RPCH) peptit ailesinin depresyon, anksiyete, ağrı ve lokomasyon hastalıklarının tedavisinde kullanılabileceğini ve nöroprotektif etkileri 30 olabileceği gösterilmiştir (*Mutlu O, Gumuslu E, Kopturk S, Ulak G, Akar F, Erden F, Kaya H, Tanyeri P. Effects of chronic administration of adipokinetik and hypertrehalosemic hormone on animal behavior, BDNF and CREB expression in the hippocampus and neurogenesis in mice. Fundam Clin Pharmacol. 2016; 30(1): 4-13*).

Oksitosin bir hormon, nöropeptid ve ilaçtır. İlaç olarak, doğumu başlatmak için uterusun kontraksiyonuna neden olur veya doğum hızını artırır ve doğumdan sonra kanamayı azaltır. Bu amaçla, kas veya ven içine enjeksiyon ile uygulanır. Oksitosin 9 amino asitten (nonapeptid) oluşan bir peptittir. Oksitosinin sistemik adı sistein-tirozin-izolösin-glutamin-asparajin-sistein-prolin-lösin-
5 glisin-amid'dir (cys-tyr-ile-gln-asn-cys-pro-leu-gly-NH₂, veya CYIQNCPLG-NH₂). Sistein rezidüleri kükürt köprüsü oluşturur.

Oksitosinin periferik (hormonal) etkileri vardır ve yine beyinde bazı etkilere sahiptir. Oksitosinin etkileri spesifik oksitosin reseptörleri tarafından yönetilir. Oksitosin reseptörü magnezyum ve
10 kolesterole gereksinim duyan G-protein-kaplı bir reseptördür. Oksitosin reseptörü G-protein-kaplı reseptörlerin Rodopsin-tip (sınıf I) grubuna aittir. Yapılan çalışmalarda oksitosinin çeşitli davranışlara, sosyal tanıma, anksiyete ve maternal davranışlar üzerine etkisi incelenmiştir (Lee HJ, Macbeth AH, Pagani JH, Young WS. *Oxytocin: the great facilitator of life. Progress in Neurobiology. 2009; 88 (2): 127-51*).

15 Oksitosin otizmde rol oynayabilir ve otizmin tekrarlayan davranışları için etkili bir tedavi olabilir (Bartz JA, Hollander E. *Oxytocin and experimental therapeutics in autism spectrum disorders. Prog Brain Res. 2008; 170:451-62*).

20 Nazal olarak uygulanan oksitosinin büyük olasılıkla amigdalay (korku cevaplarından sorumlu olduğu düşünülmekte) inhibe ederekten korkuyu azalttığı rapor edilmiştir (Kirsch P, Esslinger C, Chen Q, Mier D, Lis S, Siddhanti S, Gruppe H, Mattay VS, Gallhofer B, Meyer-Lindenberg A. *Oxytocin modulates neural circuitry for social cognition and fear in humans. The Journal of Neuroscience. 2005; 25 (49): 11489-93*).

25 Oksitosin hayvan depresyon modellerinde antidepresan-benzeri etkiler gösterir (Matsuzaki M, Matsushita H, Tomizawa K, Matsui H *Oxytocin: a therapeutic target for mental disorders. The Journal of Physiological Sciences. 2012; 62 (6): 441-4*), ve onun eksikliği insanlardaki depresyon patofizyolojisi ile ilişkili olabilir (McQuaid RJ, McInnis OA, Abizaid A, Anisman H, *Making room for oxytocin in understanding depression". Neuroscience and Biobehavioral Reviews. 2014; 45: 305-22*).

30

Yakın zamandaki çalışmalar, beyinde para-ventriküler hipotalamustaki oksitosin nöronlarının normal koşullarda iştahı baskılayıcı rolü olduğunu ve diğer hipotalamik nöronların bu oksitosin nöronlarının inhibisyonu ile yemeyi tetiklediğini göstermiştir. Kontrol edilemeyen beslenme ve obesitenin görüldüğü bir genetik bozukluk olan Prader-Willi sendromunda bu tip oksitosin nöronları yoktur ve bu nöronlar bu hastalığın patofizyolojisi ile ilişkili olabilir (Atasoy D, Betley JN, Su HH, Sternson SM. *Deconstruction of a neural circuit for hunger. Nature. 2012; 488 (7410): 172-7*).

Adipokinetik hormon (AKH) oksitosinin bileşik yapısına benzer şekilde bir aminoasit dizilimine sahiptir. AKH santral davranışsal etkilere sahiptir (Mutlu O, Gumuslu E, Kokturk S, Ulak G, Akar F, Erden F, Kaya H, Tanyeri P. *Effects of chronic administration of adipokinetik and hypertrehalosemic hormone on animal behavior, BDNF and CREB expression in the hippocampus and neurogenesis in mice. Fundam Clin Pharmacol. 2016; 30(1): 4-13*).

Bu çalışmalar temelinde buluş sahibi, AKH'nın uterus myometrium kontraksiyonları üzerindeki periferik etkilerini, hem santral hem periferik etkileri olan oksitosin ile karşılaştırarak incelemiştir.

Doğumsal hasar, doğum işleminden önce, sırasında veya hemen sonra çocukta oluşan hasar veya yaralanma ile ilgilidir. Doğumsal hasar doğum travması ve doğumsal defektlerden ayrılmalıdır. "Doğum travması" spesifik olarak doğum sırasında oluşan sinir zedelenmesi veya kemik kırılması gibi mekanik hasar ile ilişkilidir. "Doğumsal defekt" ise fetüs rahimdeyken genetik mutasyonlara, enfeksiyonlara veya toksinlere maruziyet sonucu oluşan hasarlarla ilişkilidir.

Distosi veya sıkışmış doğum olarak da bilinen zor doğum, çocuk doğum kanalından rahat bir şekilde geçemeyince görülür. Genetik mutasyonlar pek çok çeşit fetal malformasyona neden olabilir, bunlar arasında hafiften şiddetliye kadar değişebilen yarı damak, hatta ölümcül deformiteler yer alabilir. Maternal enfeksiyon fetusa geçebilir, bu durum dikey geçişli enfeksiyon olarak adlandırılır. Intrauterin hipoksi, veya rahimdeki oksijen yoksunluğu, fetusta ciddi beyin hasarına yol açabilir. Bu durum özellikle göbek kordonu veya plasentanın malformasyonu veya hasarı sonucu oluşur. Intrauterine hipoksi serebral palsi ve diğer nörolojik ve psikiyatrik bozukluklara neden olabilen beyin hasarına yol açabilir (Gunn AJ; Bennet, L. *Fetal hypoxia insults and patterns of brain injury: insights from animal models. Clin Perinatol. 2009; 36: 579-93*). Gestasyonel diabetes prematür doğum, makrozomi, veya ölü doğuma neden olabilir. Plasenta previa, plasental ayrılma, anemi ve preeklampsi, fetusa yeterli oksijen ve besin geçişini kısıtlayabilir, bu durumda doğum defekt riskini artırır. Kemik kırıkları zor doğum sırasında oluşabilir. Beyin hasarı pek çok faktöre bağlı olarak

oluşabilir, bunlar arasında genetik mutasyona veya toksinlere maruziyete bağlı oluşan fetal malformasyon, intrauterin hipoksi, veya doğum sırasındaki fiziksel travma yer alabilir. Serebral palsi doğum öncesi veya sırasında gerçekleşen beyin hasarına bir örnektir; her yıl yaklaşık 10,000 çocuğa serebral palsi teşhisi konmaktadır.

5

Görüldüğü üzere tekniğin bilinen durumunda geniş bir peptit ailesi olan AKH'ların birçok özelliği yapılan çalışmalar ile ortaya çıkarılmıştır ve günümüzde çalışmalar halen devam etmektedir. Tekniğin mevcut durumunda uterus kasılmasını sağlamak üzere kullanışlı yeni ajanların geliştirilmesi için sürekli bir ihtiyaç vardır. Mevcut buluş yukarıdaki amaçlar için alternatif ve kullanışlı ajanlar olarak Adipokinetik hormon/Kırmızı pigment-konsantre edici hormon (AKH/RPCH) peptit ailesi peptitlerini sunmaktadır.

10

Buluşun Kısa Açıklaması

15

Mevcut buluş Adipokinetik hormon/Kırmızı pigment-konsantre edici hormon (AKH/RPCH) peptit ailesinin üyesi olan peptitlerin yeni bir kullanımı ile ilgilidir. Buluş özellikle uterus kasılma oluşturmaya yönelik bir ajan olarak Adipokinetik hormon/Kırmızı pigment-konsantre edici hormon (AKH/RPCH) peptit ailesi ile ilgili olup; tamamlanmamış kürtaj veya düşük durumunda fetusun aborsiyonuna yardım etmek, zor doğum sırasında kasılma oluşturmak, doğumdan sonra kanamayı kontrol etmek ve doğum hasarına bağlı oluşan hastalıklara karşı koruma sağlamak için sunulması ile ilgilidir.

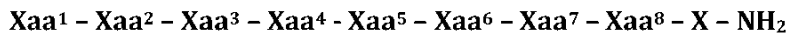
20

Doğumsal hasara bağlı hastalıklar, fetal malformasyonlar, genetik mutasyonlar, fetusa geçebilen maternal enfeksiyon, serebral palsi'yi de içeren intrauterin hipoksi, gestasyonel diabetes ve gebelik komplikasyonlarıdır. Gebelik komplikasyonlarında plasenta previa, plasenta dekolmanı, anemi, preeklampsi, brakial fleksus hasarı, beyin hasarı, morarma, kemik kırıkları ve mekonyum aspirasyon sendromunu içermektedir.

25

Buluş konusu peptit hormonları aşağıdaki kimyasal yapıya sahiptir:

30



burada;

Xaa¹ bir piroglutamat rezidüsüdür,

Xaa² rezidüsü Leu, Val, Ile, Phe, Tyr aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,

Xaa³ rezidüsü Asn ve Thr aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,

Xaa⁴ rezidüsü Phe ve Tyr aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,

Xaa⁵ rezidüsü Thr ve Ser aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,

Xaa⁶ rezidüsü Pro, Ser, Thr, ve Ala aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,

5 Xaa⁷ rezidüsü Asn, Gly, Ser, Asp, Trp, ve Val aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,

Xaa⁸ rezidüsü Trp aminoasidi olarak seçilir,

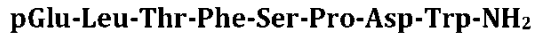
X, 0 ila 2 aminoasite sahip bir rezidü olup, tercihen 0'dır; ve 1-2 aminoasit olması durumunda birinci için Gly rezidüsü, ikinci için Gly, Thr, Asn, Ser, Tyr, Trp rezidüsünden birini ihtiva eder.

10 Buluşun tercih edilen bir yapılanmasında buluşa ait peptid hormonlarının aminoasit sekansı aşağıdaki gibidir:



15 burada Xaa⁵ rezidüsü Ser ve Thr aminoasitleri arasından seçilmektedir.

Bir başka açıdan buluş konusu peptid hormonu aşağıdaki amino asit sekansını haizdir:



20 Mevcut buluşun tercih edilen yapılanmalarında, uterus kasılma oluşturmaya yönelik bir ajan olarak bir peptid hormonu tamamlanmamış kürtaaj veya düşük durumunda fetusun aborsiyonu, zor doğum sırasında kasılma oluşturmak, doğumdan sonra kanamayı kontrol etmek ve doğum hasarına bağlı oluşan hastalıklara karşı koruma sağlamak için kullanılmaya uygun bir ajandır.

25 Yukarıda bahsedilen doğum hasarına bağlı oluşan hastalıklar; fetal malformasyonlar, genetik mutasyonlar, fetusa geçebilen maternal enfeksiyon, ve serebral palsi'yi içeren intrauterin hipoksi, gestasyonel diabetes ve bir gebelik komplikasyonundan oluşan gruptan seçilmektedir.

30 Bahsi geçen gebelik komplikasyonu tercihen plasenta previa, plasenta dekolmanı, anemi, preeklampsi, brakial fleksus hasarı, beyin hasarı, morarma, kemik kırıkları ve mekonyum aspirasyon sendromundan oluşan bir gruptan seçilmektedir.

Bir başka yönden, mevcut buluş yukarıda tanımlanan peptit hormonunu bir farmasötik bileşim içerisinde sunmaktadır. Bu farmasötik bileşim tercihen bir solüsyon formunda, daha da tercihen enjeksiyonluk ampul veya flakon formundadır.

- 5 Mevcut buluşa ait farmasötik bileşim bir koruyucu, çözüldürücü ve PH ayarlama ajanından oluşan bir gruptan seçilen en az bir ekşiyan ihtiva edebilir. Bu bileşim tercihen bir ekşiyan olarak sodyum klorür ihtiva edebilir.

10 Bileşimde mevcut peptit hormonu miktarı, hedeflenen terapötik etkiyi elde etmeye yeterli bir miktarda olabilir, ve tercihen 1.0mg/ml'den daha az, daha da tercihen 50.0 mcg/ml'den daha az olabilir.

Şekillerin Açıklaması

15 **Şekil 1** insan uterus şeritlerinin Ani-AKH (10^{-8} - 10^{-4} M), Lia-AKH (10^{-8} - 10^{-4} M), Pht-HrTH (10^{-8} - 10^{-4} M) ve oksitosin (10^{-8} - 10^{-4} M) uygulandığında oluşturduğu kasılma yanıtlarını KCl (80 mM)'ın maksimal kasılma yanıtının yüzdesi olarak göstermektedir. İstatistik analiz için Kruskal-Wallis post hoc Dunn's testi kullanıldı. Veriler ortalama değerler \pm standart ortalama hatası olarak belirtildi. (* $p < 0.05$ oksitosin grubu ile karşılaştırıldığında).

20 **Şekil 2** İnsan uterus şeritlerinin Ani-AKH (10^{-4} M), Lia-AKH (10^{-4} M), Pht-HrTH (10^{-4} M) ve oksitosin (10^{-4} M) uygulandığında oluşturduğu kasılma yanıtlarını KCl (80 mM)'ın maksimal kasılma yanıtının yüzdesi olarak göstermektedir. İstatistik analiz için Kruskal-Wallis post hoc Dunn's testi kullanıldı. Veriler ortalama değerler \pm standart ortalama hatası olarak belirtildi. (* $p < 0.05$ oksitosin grubu ile karşılaştırıldığında)

25

Buluşun Detaylı Açıklaması

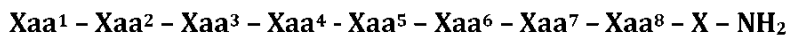
Mevcut buluş Adipokinetik hormon/Kırmızı pigment-konsantre edici hormon (AKH/RPCH) peptit ailesinin üyesi olan peptitlerin yeni bir kullanımı ile ilgilidir. Buluş özellikle uterus kasılma oluşturmaya yönelik bir ajan olarak Adipokinetik hormon/Kırmızı pigment-konsantre edici hormon (AKH/RPCH) peptit ailesi ile ilgili olup; tamamlanmamış kürtaj veya düşük durumunda fetusun aborsiyonuna yardım etmek, zor doğum sırasında kasılma oluşturmak, doğumdan sonra kanamayı kontrol etmek ve doğum hasarına bağlı oluşan hastalıklara karşı koruma sağlamak için sunulması ile ilgilidir.

Doğumsal hasara bağlı hastalıklar, fetal malformasyonlar, genetik mutasyonlar, fetusa geçebilen maternal enfeksiyon, serebral palsi'yi de içeren intrauterin hipoksi, gestasyonel diabetes ve gebelik komplikasyonlarıdır. Gebelik komplikasyonlarında plasenta previa, plasenta dekolmanı, anemi, preeklampsi, brakial fleksus hasarı, beyin hasarı, morarma, kemik kırıkları ve mekonyum aspirasyon sendromunu içermektedir.

“Peptit hormonu” terimi adipokinetik hormon/kırmızı pigment konsantre edici hormon (AKH/RPCH) peptit ailesine ait bir aminoasit (aa) polimerini ifade etmektedir. Bahsedilen peptit hormonu ile tercihen 8 ila 10 amino asit uzunluğunda, N-terminal olarak piroglutamat rezidü ve C-terminal olarak bir amid ile bloklanmış olan bir peptit tanımlanmaktadır. Daha özel olarak söz konusu hormon ailesine üye olan peptit hormonları 4. pozisyonda (Phe veya Tyr) ve 8 pozisyonda (Trp) aromatik rezidülere sahip bir peptidi ifade etmektedir. Özellikle mevcut buluş konusu peptit hormonları adipokinetik hormon/kırmızı pigment konsantre edici hormon (AKH/RPCH) ailesine üye herhangi bir peptit hormonuna ilişkindir.

Bir başka yönü ile mevcut buluş, belirtilen hastalıkları önleyen, iyileştiren ya da tedavi eden yukarıda tanımlanan peptitleri içeren farmasötik bileşime ilişkindir.

Buluş konusu adipokinetik hormon/kırmızı pigment konsantre edici hormon (AKH/RPCH) peptit hormonları aşağıdaki kimyasal yapıya sahiptir:



burada;

- Xaa¹ bir piroglutamat rezidüsüdür,
- Xaa² rezidüsü Leu, Val, Ile, Phe, Tyr aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,
- Xaa³ rezidüsü Asn ve Thr aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,
- Xaa⁴ rezidüsü Phe ve Tyr aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,
- Xaa⁵ rezidüsü Thr ve Ser aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,
- Xaa⁶ rezidüsü Pro, Ser, Thr, ve Ala aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,
- Xaa⁷ rezidüsü Asn, Gly, Ser, Asp, Trp, ve Val aminoasitlerinden oluşan bir grup içerisinde seçilir,

Xaa⁸ rezidüsü Trp aminoasidi olarak seçilir,

X, 0 ila 2 aminoasite sahip bir rezidü olup, tercihen 0'dır; ve 1-2 aminoasit olması durumunda birinci için Gly rezidüsü, ikinci için Gly, Thr, Asn, Ser, Tyr, Trp rezidüsünden birini ihtiva eder.

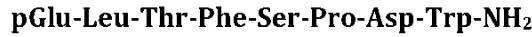
- 5 Buluşun tercih edilen bir yapılanmasında buluşa ait peptit hormonlarının aminoasit sekansı aşağıdaki gibidir:



burada Xaa⁵ rezidüsü Ser ve Thr aminoasitlerinden oluşan bir gruptan seçilmektedir.

10

Bir başka açıdan buluş konusu peptit hormonu aşağıdaki amino asit sekansını haizdir:



- 15 Diğer bir açıdan, mevcut buluş enjeksiyonluk su içerisinde aktif ajan olarak 0.001mg/ml ila 1.0mg/ml arasında olacak şekilde adipokinetik hormon/kırmızı pigment-konsantre edici hormon (AKH/RPCH) peptit ailesinden bir peptit hormonu veya karışımını içeren bir farmasötik kompozisyona ilişkindir. Farmasötik dozaj formu enjeksiyonluk ampul veya flakon olabilir. Farmasötik kompozisyon yardımcı madde olarak örneğin 9.0 mg/ml sodyum klorür içerir ve ayrıca koruyucu ve/veya çözündürücü
- 20 ve/veya PH ayarlama ajanı içerebilir. Daha açık olarak, peptit hormon 1.0mcg/ml ila 50mcg/ml arasında olabilir. Söz konusu farmasötik kompozisyon insan ve hayvanda kullanıma uygundur.

- İnsan uterus şeritleri kullanılarak Adipokinetik hormon/kırmızı pigment-konsantre edici hormon (AKH/RPCH) peptit ailesinin kullanıldığı bir çalışma aşağıda sunulmaktadır. Bu çalışmada kullanılan
- 25 peptit hormonları, kod adları ve aminoasit sekansları ile aşağıdaki Tablo-1'de verilmektedir.

Tablo 1 - İnsan uterus şeritlerinde kullanılan Adipokinetik hormon/kırmızı pigment-konsantre edici hormon peptitler (AKH/RPCH)

AKH/RPCH Ailesi - Kod adı	CAS No	Aminoasit sekansı - Kimyasal İsmi
Ani-AKH (Anax Imperator Mauricianus)	154512-22-8	pGlu-VNFSPSW-NH ₂ pGlu-Val-Asn-Phe-Ser-Pro-Ser-Trp-NH ₂

		<i>5-oxo-L-prolyl-L-valyl-L-asparaginyll-L-phenylalanyl-L-seryl-L-prolyl-L-seryl-L-Tryptophanamide</i>
Lia-AKH (<i>Libellula Auripennis</i>)	129536-34-1	PGlu-VNFTPSW-NH2 pGlu-Val-Asn-Phe-Thr-Pro-Ser-Trp-NH2 <i>5-oxo-L-prolyl-L-valyl-L-asparaginyll-L-phenylalanyl-L-threonyll-L-prolyl-L-seryl-L-Tryptophanamide</i>
Pht-HrTH Hipertrehalosemik hormon (<i>Phormia Terrae-Novae</i>)	129204-82-6	pGlu-LTFSPDW-NH2 pGlu-Leu-Thr-Phe-Ser-Pro-Asp-Trp-NH2 <i>5-oxo-L-prolyl-L-leucyl-L-threonyll-L-phenylalanyl-L-seryl-L-prolyl-L-alfa-aspartyl-L-Tryptophanamide</i>

(Ani-AKH M.W.=946.02, Lia-AKH M.W.=960.04, Pht-HrTH M.W.= 975.05, Oksitosin M.W.= 1007.2)

5 **Örnekler**

Adipokinetik hormon/kırmızı pigment-konsantre edici hormon peptitlerin insan uterus şeritlerinde çalışılması

10 **İnsan Uterus Şeritleri**

Bu çalışmada sezaryen sırasında alınan 21 kadının uterus şeridi kullanıldı. Etik onay Sakarya Üniversitesi Klinik Denemeler Etik Komitesi tarafından verildi (Gün: 22.01.2015, Sayı 050.01.04.17, Sakarya/Türkiye).

15 **İlaçlar**

Potasyum klorür ve oksitosin Sigma kimyasallardan (St Louis, Mo, USA) satın alındı. Anax imperator AKH (Ani-AKH), *Libellula auripennis* AKH (Lia-AKH) ve *Phormia-Terra* hipertrehalosemic hormon (Pht-HrTH) TRC (Toronto/Kanada)'dan satın alındı. Potasyum klorür, oksitosin ve AKHlar % 0.9 fizyolojik salin içinde çözüldü. İlaçlar taze olarak deney günü hazırlandı. Her bir deney grubu 7 uterus

20 şeridinden oluşturuldu.

Deney Tasarımı

Bu çalışmada uterus 1-2 cm uzunluğunda şeritlere ayrıldı ve her bir şerit uterus solüsyonu içeren [6,78 g NaCl; 0,4 g KCl; 0,28 g CaCl₂; 0,23g NaH₂PO₄; 1,86 g NaHCO₃; 2g Glukoz; 1lt. distile su içinde] 37°C'de 95%O₂ /5%CO₂ ile dengelenmiş 20 mL'lik organ banyosuna batırıldı. Dokular izometrik kuvvetin ölçümü için izometrik kuvvet güç-çeviricisi'ne (FDT 10 A Commat İletişim, Ankara, Türkiye) 5 bağlandı. İzometrik kuvvet, 4 kanallı güç-çevirici data kazanım sistemi(MP150 Biopac Systems Inc. Goleta), bilgiyi analiz etme kapasitesi olan bir yazılım (ACQ4.0 Biopac Systems Inc. Goleta) ve bilgiyi devamlı kaydeden bilgisayar tarafından ölçüldü. Dokunun üst ucu güç-çeviriciye bağlandı, alt uç ise sabitlendi. Dokular asıldıktan sonra, her bir şerit 1 saat boyunca 1 g'lık bazal gerilim ile dengelenmeye 10 bırakıldı ve uterus solüsyonu her 15 dakika da bir taze solüsyon ile değiştirildi. Dengelenmenin bitiminde, şeritler Krebs solüsyonu içindeki 80 mM KCl ile depolarize edildi ve 30 dakika bu şekilde dengelenmesi için beklendi. Dengelenmeden sonra, 7 uterus şeridinin Ani-AKH (Anax imperator AKH; 10⁻⁸-10⁻⁴ M), Lia-AKH (Libellula auripennis AKH;10⁻⁸-10⁻⁴ M), Pht-HrTH (Phormia Terrae hipertrehalosaemik hormon; 10⁻⁸-10⁻⁴ M) uygulandığında oluşturduğu konsantrasyon-cevap eğrileri 15 kümülatif olarak sırasıyla elde edildi. Son olarak, 7 uterus şeridinin Oksitosin (10⁻⁸-10⁻⁴ M) uygulandığında oluşan konsantrasyon-cevap eğrileri kümülatif olarak elde edildi. Her bir cevabın yeni ilaç uygulanmadan önce plato seviyesine gelmesi sağlandı. Her bir ilacın konsantrasyon-cevap eğrisinin bitiminden sonra, dokular 30 dakika boyunca yıkandı.

İstatistiksel İnceleme

Sonuçlar farklı deneylerin ortalama verileri ± standart ortalama hatası olarak ifade edildi. Ani-AKH, Lia-AKH, Pht-HrTH ve oksitosine verilen kasılma yanıtları KCl (80 mM)'ın neden olduğu maksimal kasılmanın yüzdesi olarak hesaplandı. Non-parametrik Kruskal-Wallis testi gruplar arasında anlamlı farklılık olup olmadığını belirlemek için kullanıldı. Farklılık olduğu zaman, gruplar Dunn's testi ile 25 birbiri ile karşılaştırıldı. Sonuçlar P < 0.05 olduğu zaman anlamlı farklı kabul edildi.

Her bir deney başlangıcından önce 80 mM KCl izole organ banyosuna eklendi ve KCl ile indüklenen kasılma yanıtı myometriyum kasına verilen referans cevap olarak kabul edildi. Ani-AKH (10⁻⁸-10⁻⁴ M), Lia-AKH(10⁻⁸-10⁻⁴ M), Pht-HrTH(10⁻⁸-10⁻⁴ M) ve oksitosin (10⁻⁸-10⁻⁴ M) uygulandığında verilen 30 kasılma yanıtları KCl (80 mM) tarafından oluşturulan maksimal kasılmanın yüzdesi olarak hesaplandı.

Ani-AKH, Lia-AKH, Pht-HrTH'n oksitosin ile karşılaştırıldığında ilaçların 10^{-8} dozlarında oluşturdukları kasılma yanıtları arasında anlamlı farklılık olmamıştır [H=6.71; p=0.08; Şekil 1].

5 Ani-AKH, Lia-AKH, Pht-HrTH, oksitosin ile karşılaştırıldığında ilaçların 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} dozlarında kasılma yanıtları arasında anlamlı farklılık olmuştur [H=8.33, p=0.03; H=8.04 p=0.04; H=8.18, p=0.04; sırasıyla; Şekil 1].

10 Ani-AKH, Lia-AKH, Pht-HrTH oxytosin ile karşılaştırıldığında ilaçların 10^{-4} dozlarında kasılma yanıtları arasında anlamlı farklılık olmuştur [H=9.58, p=0.02; Şekil 2].

Sonuçlar

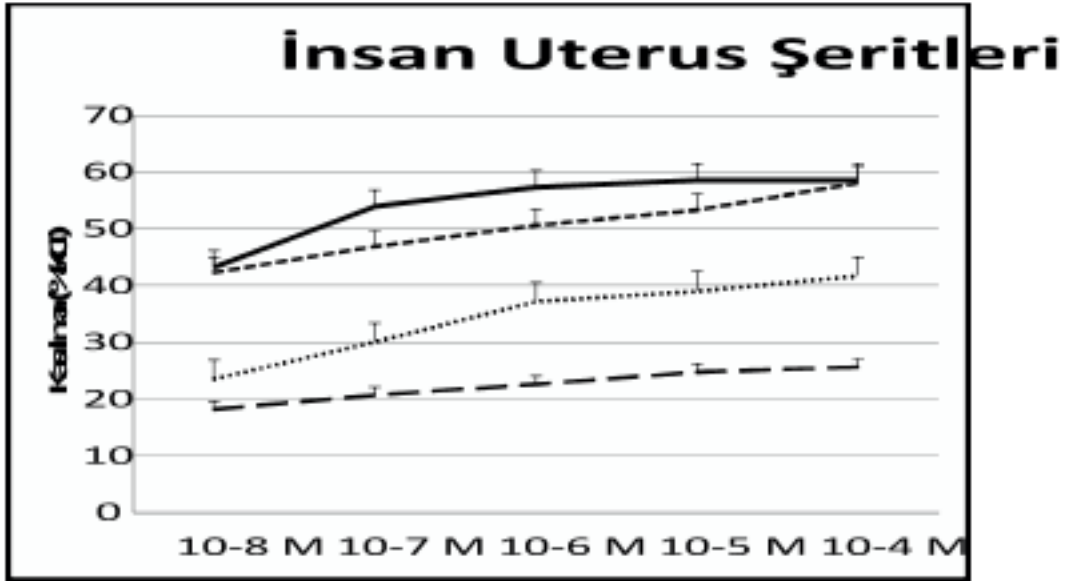
Ani-AKH, Lia-AKH, Pht-HrTH'n oksitosin ile karşılaştırıldığında ilaçların 10^{-8} dozlarında insan uterus şeritlerinde oluşturdukları kasılma yanıtları arasında anlamlı farklılık olmamıştır. Kasılma yanıtları benzer olmuştur.

15 Ani-AKH, Lia-AKH, Pht-HrTH oksitosin ile karşılaştırıldığında ilaçların 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M dozlarında insan uterus şeritlerinde oluşturdukları kasılma yanıtları arasında anlamlı farklılık olmuştur. AKHlar oksitosin ile mukayese edildiğinde daha fazla kasılma oluşturmuşlardır.

20 Bu sonuçlar incelenen AKH'ların insan uterusunda kasılma oluşturmak için kullanılabilirliğini göstermektedir.

Bu sonuçlara göre, (AKH/RPCH) peptid ailesi uterusunda kasılma oluşturmada kullanılabilir olup; bu kullanım tamamlanmamış kürtaj veya düşük durumunda fetusun aborsiyonuna yardım etmek, zor doğum sırasında kasılma oluşturmak, doğumdan sonra kanamayı kontrol etmek ve doğum hasarına bağlı oluşan hastalıklara karşı koruma sağlamak içindir.

25 Doğumsal hasara bağlı hastalıklar, fetal malformasyonlar, genetik mutasyonlar, fetusa geçebilen maternal enfeksiyon, serebral palsi'yi de içeren intrauterin hipoksi, gestasyonel diabetes ve gebelik 30 komplikasyonlarıdır. Gebelik komplikasyonlarında plasenta previa, plasenta dekolmanı, anemi, preeklampsi, brakial fleksus hasarı, beyin hasarı, morarma, kemik kırıkları ve mekonyum aspirasyon sendromunu içermektedir.



ŞEKİL

ŞEKİL 2