



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0031972

(51)⁷ A61K 35/74; A61K 31/445; A61K 31/702; C07H 3/06; A61P 3/04; A61P 3/10; A61P 43/00; C07D 211/46; A61K 31/133; A61K 45/00 (13) B

(21) 1-2011-02643

(22) 25/03/2010

(86) PCT/JP2010/055238 25/03/2010

(87) WO/2010/110374 30/09/2010

(30) 2009-077555 26/03/2009 JP

(45) 25/05/2022 410

(43) 26/12/2011 285A

(73) BIOFERMIN PHARMACEUTICAL CO., LTD. (JP)

1-1-2, Sannomiyacho, Chuo-ku, Kobe, Hyogo 6500021 Japan

(72) ISA, Yasuhiro (JP); SHIMAKAWA, Masaki (JP); YAMAMURA, Hideki (JP); OHNO, Hiroshi (JP).

(74) Công ty Cổ phần Sở hữu công nghiệp INVESTIP (INVESTIP)

(54) CHẾ PHẨM VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA CHẾ PHẨM NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết dùng để nâng cao hoạt tính của chất ức chế α -glucosidaza. Chất nâng cao này chứa ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến dược phẩm, các chế phẩm ăn và chế phẩm uống chứa chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết và vi khuẩn dùng cho việc nâng cao hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm nâng cao tác dụng hạ đường huyết, chế phẩm này nâng cao hoạt tính hạ đường huyết của thuốc hạ đường huyết. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến dược phẩm, các chế phẩm ăn và chế phẩm uống chứa chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết và vi khuẩn dùng cho việc nâng cao hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza.

Tình trạng kỹ thuật theo sáng chế

Trong những năm gần đây, do những thay đổi về môi trường sống, bệnh nhân hoặc người tiềm ẩn các bệnh liên quan đến cách sống (bệnh ở người lớn), như bệnh đái tháo đường và béo phì, đã và đang tăng lên về số lượng. Ví dụ, bệnh đái tháo đường là bệnh do hiện tượng chuyển hóa đường bất thường gây ra, và là bệnh liên quan đến nguy cơ về các biến chứng đặc trưng khác nhau là kết quả của mức glucoza trong máu tăng mang tính chất bệnh lý (nồng độ glucoza trong máu). Liệu pháp ăn kiêng là thiết yếu trong điều trị bệnh đái tháo đường. Tuy nhiên, khi một mình liệu pháp ăn kiêng là không đủ hữu hiệu, thì dùng đến insulin hoặc thuốc hạ đường huyết dùng qua đường miệng.

Chất ức chế α -glucosidaza (enzym phân hủy disacarit), chất này là một trong số những loại thuốc hạ đường huyết dùng qua đường miệng, có hoạt tính làm trì hoãn quá trình phân hủy các disacarit thành các monosacarit và quá trình hấp thụ chúng, và do đó có khả năng ức chế tình trạng tăng sau bữa ăn của mức glucoza trong máu bằng cách làm trì hoãn quá trình tiêu hóa trong ruột và quá trình hấp thụ sacarit, như tinh bột. Tuy nhiên, chất ức chế α -glucosidaza này thì không hữu hiệu trong điều trị mức glucoza trong máu cao không phải sau khi ăn, và không có khả năng làm giảm mức glucoza trong máu lúc đói. Do đó, đã và đang có mong muốn về việc tăng cường hoạt tính hạ đường huyết của thuốc hạ đường huyết như vậy. Ngoài ra, các chất ức chế α -glucosidaza có các tác dụng phụ mạnh, trong đó có, trướng bụng, cảm thấy đầy bụng, tình trạng khó chịu ở bụng, và tiêu chảy.

Tài liệu sáng chế 1 bộc lộ chất ức chế quá trình tiêu hóa sacarit chứa dạng kết hợp của chất ức chế α -glucosidaza và tế bào sống được sản xuất axit lactic không gây

bệnh, và chế phẩm ức chế quá trình tiêu hóa sacarit chứa chất ức chế này. Tài liệu sáng chế 1 mô tả rằng dạng kết hợp của chất ức chế α -glucosidaza và các tế bào sống được sản xuất axit lactic là hữu hiệu trong việc phòng ngừa tiêu chảy v.v. Tài liệu không phải sáng chế 1 bộc lộ rằng việc cho sử dụng đồng thời acarboza và vi khuẩn axit lactic *Lactobacillus casei* YIT9029 đã cải thiện các tác dụng phụ của acarboza, như tình trạng đầy bụng. Tài liệu sáng chế 2 và 3 bộc lộ thành phần thức ăn có lợi cho sức khỏe chứa thành phần có hoạt tính ức chế α -glucosidaza và thành phần có hoạt tính cải thiện môi trường ruột, vi khuẩn axit lactic, ví dụ, như thành phần thức ăn có lợi cho sức khỏe không có nguy cơ về các tác dụng phụ và có thể sử dụng được cho việc phòng ngừa hoặc cải thiện bệnh béo phì và các bệnh liên quan đến cách sống, như bệnh đái tháo đường. Trong tài liệu sáng chế 2 và 3, đã nêu lên rằng vì chế phẩm chứa thành phần có hoạt tính cải thiện môi trường ruột, vi khuẩn axit lactic, ví dụ, ức chế quá trình phân hủy trong ruột, thúc đẩy sự nhu động bình thường của ruột, và phòng ngừa táo bón, nên chế phẩm này đầy hứa hẹn đối với việc làm giảm béo phì và phòng ngừa ung thư trực tràng- kết tràng. Tài liệu sáng chế 4 bộc lộ thuốc hạ đường huyết chứa các tế bào vi khuẩn axit lactic trong vai trò là thành phần hoạt tính.

Tuy nhiên, tài liệu sáng chế 1 đến 4 và tài liệu không phải sáng chế 1 không có mô tả nào liên quan đến sự tăng cường hoạt tính của các thuốc hạ đường huyết. Do đó, còn có khả năng cải thiện để thu được hoạt tính hạ đường huyết tốt hơn hữu ích đối với việc phòng ngừa hoặc điều trị của các bệnh liên quan đến cách sống, như bệnh đái tháo đường và béo phì.

Danh mục tài liệu viện dẫn

[Tài liệu sáng chế]

[PTL 1] JP 07-2647 B

[PTL 2] JP 2007-330124 A

[PTL 3] JP 2006-20606 A

[PTL 4] JP 10-7577 A

[Tài liệu không phải tài liệu sáng chế]

[NPL 1] Manabu Narumiya et al., "Combinational effect of acarbose and *Lactobacillus* preparation in improving intestinal bacterial flora and abdominal symptoms", *Rinsho to Kenkyu*, quyển 83, số 8, 149-154 2006

Bản chất kỹ thuật theo sáng chế

Vấn đề kỹ thuật cần được giải quyết

Vì các lý do nêu trên, mục đích của sáng chế là cung cấp chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết, chất này tăng cường một cách hiệu quả hoạt tính hạ đường huyết của thuốc hạ đường huyết.

Cách thức giải quyết vấn đề

Các tác giả sáng chế đã thực hiện các nghiên cứu sâu rộng để giải quyết vấn đề được mô tả trên đây, và đã kiểm tra hoạt tính hạ đường huyết của các chất khác nhau. Kết quả là, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng việc cung cấp chất ức chế α -glucosidaza và vi khuẩn, như vi khuẩn axit lactic, cho động vật có tác dụng tạo ra tính hiệp trợ đặc trưng của chất ức chế α -glucosidaza và vi khuẩn, như vi khuẩn axit lactic, và nhờ đó, làm giảm một cách đáng kể mức glucoza trong máu (nồng độ glucoza trong máu) vào lúc đói. Mới phát hiện được rằng trong khi việc cung cấp một chất đơn lẻ của chất ức chế α -glucosidaza hoặc vi khuẩn, như vi khuẩn axit lactic, không làm giảm một cách đáng kể mức glucoza trong máu, phương thức cung cấp đồng thời chất ức chế α -glucosidaza và vi khuẩn, như vi khuẩn axit lactic, nâng cao bằng tác dụng hiệp trợ hoạt tính hạ đường huyết vào lúc đói.

Ngoài ra, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng, thậm chí trong thử nghiệm dung nạp glucoza đường miệng (oral glucoza tolerance test-OGTT) trong đó glucoza, chất này là một monosacarit, được cho dùng qua đường miệng, thì phương thức cung cấp đồng thời chất ức chế α -glucosidaza và vi khuẩn, như vi khuẩn axit lactic, cũng nâng cao bằng tác dụng hiệp trợ hoạt tính hạ đường huyết và làm giảm mức glucoza trong máu một cách đáng kể. Tuy nhiên, việc cung cấp một chất đơn lẻ của chất ức chế α -glucosidaza hoặc vi khuẩn, như vi khuẩn axit lactic, đã không giảm được mức glucoza trong máu trong OGTT. Trên cơ sở những khám phá này, các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng việc cung cấp chất ức chế α -glucosidaza kết hợp với vi khuẩn, như vi khuẩn axit lactic, nâng cao bằng tác dụng hiệp trợ hoạt tính hạ đường huyết.

Vì đường như có tương đối ít disacarit trong ống tiêu hóa ở trạng thái đói so với ở trạng thái sau bữa ăn, và glucoza, chất này là một monosacarit, được cho dùng trong OGTT, thật là hợp lý khi cho rằng hoạt tính hạ đường huyết rất tốt đạt được trong trường hợp sử dụng đồng thời chất ức chế α -glucosidaza và vi khuẩn, như vi khuẩn axit lactic, là không phải là kết quả của tình trạng nâng cao của hoạt tính phân hủy

disacarit của chất ức chế α -glucosidaza nhưng là kết quả của tình trạng nâng cao có tính hiệp trợ của hoạt tính hạ đường huyết vào lúc đói và ở trạng thái được chất thêm glucoza, trước tiên, tình trạng nâng cao mang tính hiệp trợ thu được nhờ việc sử dụng đồng thời chất ức chế α -glucosidaza và vi khuẩn, như vi khuẩn axit lactic. Các tác giả sáng chế còn phát hiện ra rằng trong phương thức cung cấp chất ức chế α -glucosidaza kết hợp với vi khuẩn, như vi khuẩn axit lactic như vậy, thậm chí khi lượng của chất ức chế α -glucosidaza là nhỏ hơn bình thường, thì cũng có thể đạt được tình trạng giảm hữu hiệu về mức glucoza trong máu ở cả trạng thái đói và trạng thái được chất thêm glucoza. Phát hiện này đã dẫn các tác giả sáng chế đến chỗ nhận thức về tình trạng nâng cao có hiệu quả của hoạt tính hạ đường huyết với các tác dụng phụ giảm.

Ngoài ra, theo “Development of BASEN Tablets (trade name) 3. Effects on insulin secretion and pancreatic islet lesions” của Takeda Pharmaceutical Company Ltd. (http://www2.takedamed.com/content/search/doc1/067/kaihatsu/kai067_4.html), phương thức cung cấp theo chế độ ăn 9-tuần (0,005%: 4,1 mg/kg/ngày) vogliboza, chất này là chất ức chế α -glucosidaza, cho các con chuột GK được đặc trưng bởi sự dung nạp glucoza bất thường đã cải thiện mức dung nạp glucoza. Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng trong khi phương thức cung cấp theo chế độ ăn 6-tuần (0,0003%: 0,6 mg/kg/ngày) vogliboza cho các con chuột KK-A^y có tình trạng dung nạp glucoza bất thường đã không cải thiện mức dung nạp glucoza, phởng thức cung cấp 6-tuần chế độ ăn mà ở đó bổ sung ít nhất một loại vi khuẩn ở đó chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn ở dạng hóa (sacarit hóa), và vi khuẩn axit butyric đã cải thiện mức dung nạp glucoza. Kết quả là, đã thấy được rằng phương thức cung cấp đồng thời chất ức chế α -glucosidaza và vi khuẩn, như vi khuẩn axit lactic, thì hữu hiệu hơn, thậm chí khi lượng bị giảm xuống của chất ức chế α -glucosidaza được cho dùng trong khoảng thời gian ngắn hơn, trong việc đạt được tác dụng hạ đường huyết hơn phương thức cung cấp một chất đơn lẻ của chất ức chế α -glucosidaza.

Dựa trên những khám phá trên đây, các tác giả sáng chế đã tiến hành nghiên cứu thêm và đã hoàn tất sáng chế.

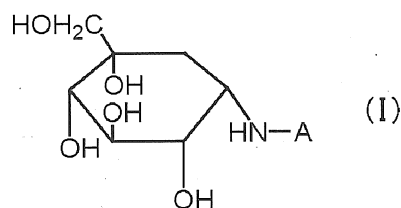
Đó là, sáng chế đề cập đến các mục từ (1) đến (16) dưới đây.

(1) Chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết dùng cho việc nâng cao hoạt tính của chất ức chế α -glucosidaza, chất nâng cao này chứa ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ

nhóm chứa vi khuẩn bifido (bifidobacteria), vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric.

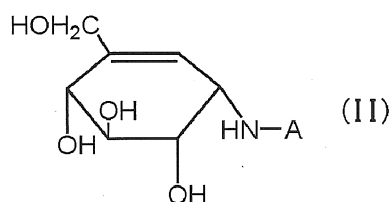
(2) Chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo (1) trên đây, còn chứa chất ức chế α -glucosidaza.

(3) Chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo (1) hoặc (2) trên đây, trong đó chất ức chế α -glucosidaza là dẫn xuất valiolamin được trình bày bằng công thức tổng quát (I):

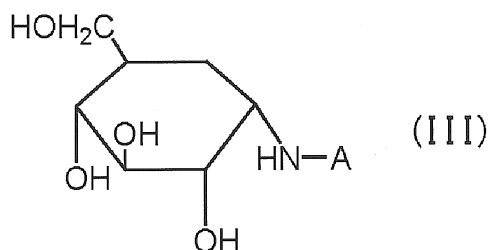


(trong đó A là nhóm hydrocacbon của chuỗi có 1 đến 10 nguyên tử cacbon và tùy ý có một hoặc nhiều hydroxyl, phenoxy, thienyl, furyl, pyridyl, xyclohexyl, và phenyl được tùy ý thế; nhóm hydrocacbon vòng có 5 hoặc 6 nguyên tử cacbon và tùy ý có một hoặc nhiều hydroxyl, hydroxymetyl, metyl và amino; hoặc gốc đường),

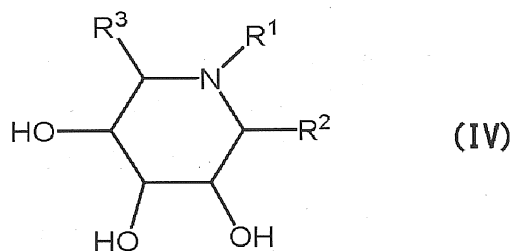
dẫn xuất valienamin được thế N được trình bày bằng công thức tổng quát (II):



(trong đó A có cùng một nghĩa như đã được định nghĩa trên đây),
dẫn xuất validamin được thế N được trình bày bằng công thức tổng quát (III):



(trong đó A có cùng một nghĩa như đã được định nghĩa trên đây), hoặc
3,4,5-trihydroxypiperidin được trình bày bằng công thức tổng quát (IV):



(trong đó R^1 và R^3 có thể là giống hoặc khác nhau và độc lập đại diện cho nguyên tử hydro, nhóm hydrocacbon béo không no hoặc no, mạch thẳng, mạch phân nhánh hoặc vòng được tùy ý thế, hoặc vòng hydrocacbon được tùy ý thế, vòng thơm, hoặc dị vòng; R^2 đại diện cho -H, -OH, -OR', -SH, -SR', -NH₂, -NHR', -N(R')(R''), NH₂CH₂-, NHR'-CH₂-, NR'R''-CH₂-, -COOH, -COOR', HO-CH₂-, R'CO-NHCH₂-, R'CO-NR''CH₂-, R'SO₂NHCH₂-, R'SO₂-NR''CH₂-, R'-NH-CO-NH-CH₂-, R'-NH-CS-NH-CH₂-R'-O-CO-NH-CH₂-, -SO₃H, -CN, -CONH₂, -CONHR', hoặc -CONR'R'', trong đó R' và R'' có thể là giống hoặc khác nhau và mỗi phần tử này có cùng một nghĩa với nghĩa của R^1 ; và khi R^3 là -CH₂OH và R^2 là nguyên tử hydro hoặc -OH, khi R^3 là nguyên tử hydro và R^2 là nguyên tử hydro, -OH, -SO₃H, -CN, hoặc -CH₂-NH₂, hoặc khi R^3 là -CH₂-NH₂ và R^2 là -OH, thì R^1 không phải là nguyên tử hydro).

(4) Chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết dùng cho việc nâng cao hoạt tính của ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric, chất nâng cao này chứa chất ức chế α -glucosidaza.

(5) Chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo (4) trên đây, còn chứa ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric.

(6) Chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo (4) hoặc (5) trên đây, trong đó chất ức chế α -glucosidaza là dẫn xuất valiolamin được trình bày bằng công thức tổng quát (I), dẫn xuất valienamin được thế N được trình bày bằng công thức tổng quát (II), dẫn xuất validamin được thế N được trình bày bằng công thức tổng quát (III), hoặc 3,4,5-trihydroxypiperidin được trình bày bằng công thức tổng quát (IV).

(7) Thuốc chứa chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (6) trên đây.

(8) Chế phẩm ăn hoặc chế phẩm uống dùng cho việc nâng cao hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza, chế phẩm này chứa chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo mục bất kỳ trong số các mục từ (1) đến (3) trên đây.

(9) Chế phẩm ăn hoặc chế phẩm uống dùng cho việc nâng cao hoạt tính hạ đường huyết của ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric, chế phẩm này chứa chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo mục bất kỳ trong số các mục từ (4) đến (6) trên đây.

(10) Chất thúc đẩy quá trình biểu hiện dùng cho hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza, chất thúc đẩy này chứa ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric.

(11) Ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric, dùng cho việc nâng cao hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza.

(12) Chất ức chế α -glucosidaza dùng cho việc nâng cao hoạt tính hạ đường huyết của ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric.

(13) Ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric, dùng cho việc thúc đẩy quá trình biểu hiện của hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza.

(14) Ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric kết hợp với chất ức chế α -glucosidaza dùng để nâng cao hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza.

(15) Chất ức chế α -glucosidaza kết hợp với vi khuẩn.

(16) Ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric kết hợp với chất ức chế α -glucosidaza, dùng để thúc đẩy quá trình biểu hiện của hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza.

Hiệu quả của sáng chế

Chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế có khả năng nâng cao bằng tác dụng hiệp trợ hoạt tính hạ đường huyết của thuốc hạ đường huyết, và do đó, hữu hiệu trong việc phòng ngừa hoặc cải thiện các bệnh liên quan đến cách sống, như

bệnh đái tháo đường và béo phì. Ngoài ra, do hoạt tính hạ đường huyết được nâng cao nhờ tính hiệp trợ của thuốc hạ đường huyết, nên có thể làm giảm liều lượng, và do đó, cũng có thể làm giảm các tác dụng phụ của thuốc hạ đường huyết. Ngoài ra, thậm chí khi chất ức chế α -glucosidaza được cho dùng theo lượng ít hơn trong khoảng thời gian ngắn hơn bình thường, thì cũng có thể đạt được tác dụng hạ đường huyết rất tốt.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 biểu thị tác dụng ức chế của chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế với hiện tượng tăng về mức glucoza trong máu của các con chuột mô hình đái tháo đường vào lúc đói.

Fig.2 biểu thị tác dụng ức chế của chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế với hiện tượng tăng về mức glucoza trong máu của các con chuột mô hình đái tháo đường sau khi chất thêm glucoza.

Fig.3 biểu thị tác dụng ức chế của chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế với hiện tượng tăng về mức glucoza trong máu của các con chuột mô hình đái tháo đường sau khi chất thêm glucoza, bằng cách sử dụng vùng dưới đường cong nồng độ máu-thời gian (AUC) làm chỉ báo.

Fig.4 biểu thị cấu trúc bên trong của mép vòi phun của máy sấy phun có vòi phun 4 kênh.

Fig.5 biểu thị tác dụng ức chế của chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế với hiện tượng tăng về mức glucoza trong máu của các con chuột mô hình đái tháo đường sau khi chất thêm glucoza.

Fig.6 biểu thị tác dụng ức chế của chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế với hiện tượng tăng về mức glucoza trong máu của các con chuột mô hình đái tháo đường sau khi chất thêm glucoza, bằng cách sử dụng vùng dưới đường cong nồng độ máu-thời gian (AUC) làm chỉ báo.

Fig.7 biểu thị tác dụng ức chế của chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế với hiện tượng tăng về mức glucoza trong máu của các con chuột mô hình đái tháo đường sau khi chất thêm glucoza.

Fig.8 biểu thị tác dụng ức chế của chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế với hiện tượng tăng về mức glucoza trong máu của các con chuột mô hình đái

thảo đường sau khi chất thêm glucoza, bằng cách sử dụng vùng dưới đường cong nồng độ máu-thời gian (AUC) làm chỉ báo.

Mô tả chi tiết sáng chế

Khía cạnh thứ nhất về chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế (sau đây có thể được gọi một cách đơn giản là “chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết 1 theo sáng chế”) là chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết dùng cho việc nâng cao hoạt tính của chất ức chế α -glucosidaza, chất nâng cao này chứa ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric. Vi khuẩn được chứa này có chức năng nâng cao hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza. Tốt hơn, nếu chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết 1 theo sáng chế còn chứa chất ức chế α -glucosidaza.

Khía cạnh thứ hai về chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế (sau đây có thể được gọi một cách đơn giản là “chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết 2 theo sáng chế”) là chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết dùng cho việc nâng cao hoạt tính của ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric, chất nâng cao này chứa chất ức chế α -glucosidaza. Chất ức chế α -glucosidaza được chứa này có chức năng nâng cao hoạt tính hạ đường huyết của vi khuẩn. Tốt hơn, nếu chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết 2 theo sáng chế còn chứa ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric.

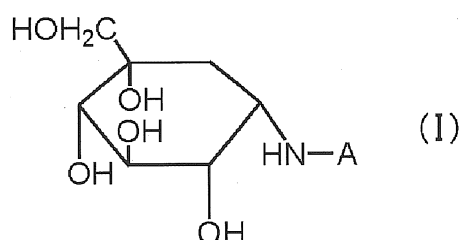
Trong chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết 1 theo sáng chế và chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết 2 theo sáng chế (sau đây những chất này được gọi một cách đơn giản là “chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế”), việc sử dụng ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric kết hợp với chất ức chế α -glucosidaza có tác dụng nâng cao một cách đặc hiệu và hiệp trợ hoạt tính hạ đường huyết của vi khuẩn và/hoặc chất ức chế α -glucosidaza và nhờ đó, có thể đem lại hoạt tính hạ đường huyết rất tốt. Do đó, bằng việc sử dụng chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế, có thể phòng ngừa hoặc cải thiện các bệnh liên quan đến cách sống, như bệnh đái tháo đường và béo phì, một cách hiệu quả. Trong cách sử dụng như vậy đối

với chất ức chế α -glucosidaza kết hợp với vi khuẩn được đề cập trên đây, thậm chí khi lượng của chất ức chế α -glucosidaza là nhỏ hơn bình thường, có thể đạt được tình trạng giảm có hiệu quả về mức glucoza trong máu. Kết quả là, hoạt tính hạ đường huyết có thể được nâng cao một cách hiệu quả mà các tác dụng phụ thì giảm. Ngoài ra, thậm chí khi lượng của chất ức chế α -glucosidaza là nhỏ hơn lượng bình thường (lượng này thường được sử dụng trong phương thức cung cấp một chất đơn lẻ) nhằm đến tác dụng hạ đường huyết, thì cũng có thể đạt được tác dụng hạ đường huyết rất tốt trong khoảng thời gian ngắn hơn.

Như được sử dụng ở đây, “phòng ngừa” chứa việc không chế hoặc làm trì hoãn sự khởi phát bệnh. Đồng thời, “cải thiện” chứa không chỉ việc chữa lành hoàn toàn các triệu chứng hoặc các bệnh mà còn làm giảm bớt các triệu chứng.

Chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn.

Tốt hơn, nếu chất ức chế α -glucosidaza được sử dụng trong sáng chế là dẫn xuất valiolamin được trình bày bằng công thức tổng quát (I):



(trong đó A là nhóm hydrocacbon của chuỗi có 1 đến 10 nguyên tử cacbon và tùy ý có một hoặc nhiều hydroxyl, phenoxy, thienyl, furyl, pyridyl, xyclohexyl, và phenyl được tùy ý thế; nhóm hydrocacbon vòng có 5 hoặc 6 nguyên tử cacbon và tùy ý có một hoặc nhiều hydroxyl, hydroxymetyl, metyl và amino; hoặc gốc đường),

chất này thì được mô tả trong, ví dụ, JP 57-200335 A, JP 58-59946 A, JP 58-162597 A, JP 58-216145 A, JP 59-73549 A, JP 59-95297 A, JP 7-2647 B, và JP 11-236337 A.

Trong công thức tổng quát (I) trên đây, A bao gồm, ví dụ, các nhóm hydrocacbon béo không no hoặc no, mạch thẳng hoặc phân nhánh có 1 đến 10 nguyên tử cacbon, và nhóm phenyl được tùy ý thế chứa nhóm phenyl được tùy ý thế bằng, ví dụ, alkyl thấp, alkoxy thấp, halogen, phenyl, v.v.

Gốc đường có nghĩa là nhóm còn lại thu được bằng cách loại nguyên tử hydro khỏi phân tử sacarit, và bao gồm, ví dụ, các gốc đường được dẫn xuất từ monosacarit và oligosacarit.

Các ví dụ cụ thể về dẫn xuất valiolamin được thể N được trình bày bằng công thức tổng quát (I) trên đây bao gồm:

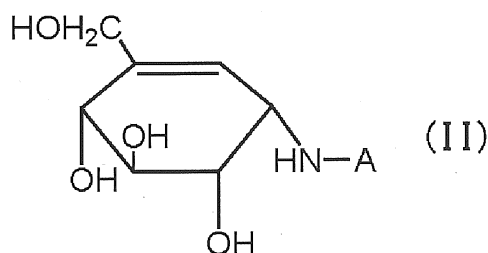
- (1) N-phenetyl valiolamin,
- (2) N-(3-phenylalyl)valiolamin,
- (3) N-furfuryl valiolamin,
- (4) N-thienyl valiolamin,
- (5) N-(3-pyridyl metyl)valiolamin,
- (6) N-(4-bromobenzyl)valiolamin,
- (7) N-[(R)- β -hydroxy phenetyl]valiolamin,
- (8) N-[(S)- β -hydroxy phenetyl]valiolamin,
- (9) N-(β -hydroxy-2-metoxy phenetyl)valiolamin,
- (10) N-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyl)valiolamin,
- (11) N-(xyclohexyl metyl)valiolamin,
- (12) N-geranyl valiolamin,
- (13) N-(1,3-dihydroxy-2-propyl)valiolamin,
- (14) N-(1,3-dihydroxy-1-phenyl-2-propyl)valiolamin,
- (15) N-[(R)- α -(hydroxymetyl)benzyl]valiolamin,
- (16) N-xyclohexyl valiolamin,
- (17) N-(2-hydroxy xyclohexyl)valiolamin,
- (18) N-[(1R,2R)-2-hydroxy xyclohexyl]valiolamin,
- (19) N-(2-hydroxy xyclopentyl)valiolamin,
- (20) metyl 4-[(1S,2S)-(2,4,5(OH)/3,5) - 2,3,4,5 - tetrahydroxy - 5 -(hydroxymetyl) xyclohexyl] amino - 4,6 - dideoxy- α -D-glucopyranosit,
- (21) metyl 4-[(1S,2S)-(2,4,5(OH)/3,5)-2,3,4,5-tetrahydroxy-5-(hydroxymetyl) xyclohexyl]amino - 4-deoxy- α -D-glucopyranosit,
- (22) [(1S,2S) - (2,4,5(OH)/3,5)-2,3,4,5 - tetrahydroxy - 5 - (hydroxymetyl) xyclohexyl][(1R,2S)-(2,6/3,4)-4-amino-2,3-dihydroxy-6-(hydroxymetyl)xyclohexyl] amin,
- (23) N-[(1R,2S)-(2,4/3,5)-2,3,4-trihydroxy-5-(hydroxymetyl)xyclohexyl]valiolamin,

- (24) N-[(1R,2S)-(2,6/3,4)-4-amino-2,3-dihydroxy-6-methylcyclohexyl]valiolamin,
 (25) N-[(1R,2S)-(2,6/3,4)-2,3,4-trihydroxy-6-methylcyclohexyl]valiolamin,
 (26) N-[(1R,2S)-(2,4,6/3)-2,3,4-trihydroxy-6-methylcyclohexyl]valiolamin,
 (27) 4-O- α -[4-[(1S)-(1,2,4,5(OH)/3,5)-2,3,4,5-tetrahydroxy-5-(hydroxymethyl)cyclohexyl)amino]-4,6-dideoxy-D-glucopyranosyl]-D-glucopyranoza,
 và
 (28) 1,6-anhydro-4-O- α -[4-[(1S)-(1,2,4,5(OH)/3,5)-2,3,4,5-tetrahydroxy-5-C-(hydroxymethyl)cyclohexyl)amino]-4,6-dideoxy-D-glucopyranosyl]- β -D-glucopyranoza.

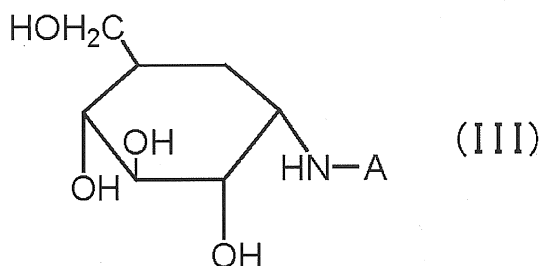
Bên cạnh những loại khác, N-(1,3-dihydroxy-2-propyl)valiolamin, ấy là, [2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)etyl]valiolamin hoặc 1L(1S)-(1(OH),2,4,5/1,3)-5-[[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)etyl]amino]-1-C-(hydroxymethyl)-1,2,3,4-xyclohexan tetrol (tên chung: vogliboza) thì được đặc biệt ưu tiên.

Tốt hơn, nếu chất ức chế α -glucosidaza được sử dụng trong sáng chế còn bao gồm

dẫn xuất valienamin được thế N được trình bày bằng công thức tổng quát (II):



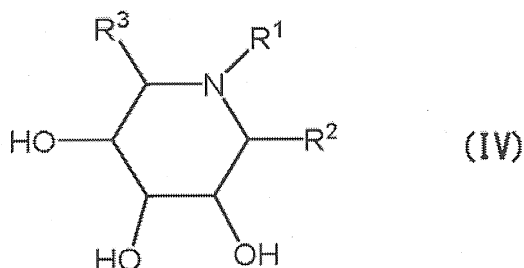
(trong đó A có cùng một nghĩa như đã được định nghĩa trên đây),
 chất này được mô tả trong, ví dụ, JP 57-64648 A, và
 dẫn xuất validamin được thế N được trình bày bằng công thức tổng quát (III):



(trong đó A có cùng một nghĩa như đã được định nghĩa trên đây),
 chất này được mô tả trong, ví dụ, JP 57-114554 A. Các ví dụ được ưu tiên của dẫn xuất valienamin được thế N được trình bày bằng công thức tổng quát (II) trên đây chứa

acarboza (tên chung) (BAYg5421, Naturwissenschaften, quyển 64, 535-537 (1977), JP 54-39474 B) (tên hóa học: O-4,6-dideoxy-4-[[[(1S,4R,5S,6S)-4,5,6-trihydroxy-3-(hydroxymethyl)-2-cyclohexen-1-yl]amino]- α -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O- α -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 4)-D-glucopyranoza).

Chất ức chế α -glucosidaza được ưu tiên theo sáng chế còn chứa 3,4,5-trihydroxypiperidin được trình bày bằng công thức tổng quát (IV):



(trong đó R¹ và R³ có thể là giống hoặc khác nhau và độc lập đại diện cho nguyên tử hydro, nhóm hydrocarbon béo không no hoặc no, mạch thẳng, mạch phân nhánh hoặc vòng được tùy ý thế, hoặc vòng hydrocarbon được tùy ý thế, vòng thơm, hoặc dị vòng; R² đại diện cho -H, -OH, -OR', -SH, -SR', -NH₂, -NHR', -N(R')(R''), NH₂CH₂-, NHR'-CH₂-, NR'R''-CH₂-, -COOH, -COOR', HO-CH₂-, R'CO-NHCH₂-, R'CO-NR'CH₂-, R'SO₂NHCH₂-, R'SO₂-NR''CH₂-, R'-NH-CO-NH-CH₂-, R'-NH-CS-NH-CH₂-, R'-O-CO-NH-CH₂-, -SO₃H, -CN, -CONH₂, -CONHR', hoặc -CONR'R'', trong đó R' và R'' có thể là giống hoặc khác nhau và mỗi phần tử này có cùng một nghĩa với nghĩa của R¹; và khi R³ là -CH₂OH và R² là nguyên tử hydro hoặc -OH, khi R³ là nguyên tử hydro và R² là nguyên tử hydro, -OH, -SO₃H, -CN, hoặc -CH₂-NH₂, hoặc khi R³ là -CH₂-NH₂ và R² là -OH, thì R¹ không phải là nguyên tử hydro (-H)), chất này được mô tả trong, ví dụ, US 4,639,436 A.

Các ví dụ về nhóm hydrocarbon béo không no hoặc no, mạch thẳng, phân nhánh hoặc vòng được tùy ý thế trong R¹ và R³ của công thức tổng quát (IV) bao gồm, nhóm alkyl, nhóm alkenyl, và nhóm alkynyl. R¹, R' và R'' có thể là giống hoặc khác nhau, và các ví dụ được ưu tiên của chúng chứa nhóm alkyl được tùy ý thế có 1 đến 30 (càng tốt hơn, nếu có 1 đến 18, và ngoài ra, càng tốt hơn, nếu có 1 đến 10) nguyên tử cacbon, nhóm alkenyl được tùy ý thế có 2 đến 18 nguyên tử cacbon, nguyên tử cacbon, và hydrocarbon béo một vòng, hai vòng hoặc ba vòng được tùy ý thế, vòng thơm, hoặc dị vòng. Bên cạnh những loại khác, nhóm alkyl được tùy ý thế có 1 đến 10 nguyên tử cacbon thì được ưu tiên. Tốt hơn, nếu phần tử thế là nhóm hydroxyl v.v. Tốt hơn, nếu

R^3 là nguyên tử hydro, $-CH_3$, $-CH_2OH$, $-CH_2-NH_2$, $NHR'-CH_2-$, $NR'R''CH_2-$, $R'CONH-CH_2-$, $R'CO-NR''CH_2-$, $X-CH_2-$ (trong đó X đại diện cho nguyên tử halogen), $R'O-CH_2-$, $R'COOCH_2-$, $R'SO_2O-CH_2-$, $R'SO_2NHCH_2-$, $R'SO_2-NR''CH_2-$, $R'NH-CO-NH-CH_2-$, $R'NHCS-NH-CH_2-$, $R'O-CO-NH-CH_2-$, $-CN$, $-COOH$, $-COOR'$, $-CONH_2$, $-CONHR'$, hoặc $-CONR'R''$ (trong đó R' và R'' có thể là giống hoặc khác nhau, và mỗi có cùng một nghĩa với nghĩa của R^1 , như trên đây).

Ví dụ được đặc biệt ưu tiên của 3,4,5-trihydroxypiperidin được trình bày bằng công thức tổng quát (IV) là hợp chất mà trong đó R^1 là $-CH_2-CH_2-OH$, R^2 là nguyên tử hydro, và R^3 là $-CH_2-OH$ (tên chung: miglitol, tên hóa học: $(-)-(2R,3R,4R,5S)-1-(2-hydroxymethyl)piperidin-3,4,5-triol$).

Các ví dụ khác về 3,4,5-trihydroxypiperidin có thể sử dụng được chứa trestatin (J. Antibiotics, quyển 36, 1157-1175 (1983) và quyển 37, 182-186 (1984); và JP 54-163511 A), adiposin (J. Antibiotics, quyển 35, 1234-1236 (1982); J. Jap. Soc. Starch Sci., quyển 26, 134-144 (1979) và quyển 27, 107-113 (1980); JP 54-106402 A; JP 54-106403 A; JP 55-64509 A; JP 56-123986 A; và JP 56-125398 A), amylostatin (Agric. Biol. Chem., quyển 46, 1941-1945 (1982); JP 50-123891 A; JP 55-71494 A; và JP 55-157595 A), oligostatin (SF-1130X) (JP 53-26398 A; JP 56-43294 A; J. Antibiotics, quyển 34, 1424-1433 (1981)), và các hợp chất đường amin (JP 54-92909 A). Ngoài ra, các chất ức chế α -glucosidaza có nguồn gốc vi sinh vật, trong đó có các hợp chất được đề cập trên đây, thì được báo cáo trong tài liệu chuyên khảo của E. Truscheit et al. (Angewandte Chemie, quyển 93, 738-755 (1981)). Cũng có thể sử dụng các hợp chất này làm chất ức chế α -glucosidaza theo sáng chế.

Các ví dụ khác về hợp chất mà có thể được sử dụng làm chất ức chế α -glucosidaza theo sáng chế chứa methyl 4-[(1S,6S)-(4,6/5)-4,5,6-trihydroxy-3-hydroxymethyl-2-cyclohexen-1-yl]amino-4,6-dideoxy- α -D-glucopyranosit (Tài liệu tóm tắt của Hội nghị Quốc gia lần thứ 182 của American Chemical Society (ACS), MEDI 69, tháng 8, 1981 tại New York; J. Antibiotics, quyển 34, 1429-1433 (1981); và JP 57-24397 A) có thể thu được nhờ hiện tượng metanol phân acarboza và oligostatin C, 1-deoxynojirimycin (Naturwissenschaften, quyển 66, 584-585 (1979), và các dẫn xuất được thể N của chúng, ví dụ, BAYo1248 (J. Clin. Invest., quyển 14 (2-II), 47 (1984); và Diabetologia, quyển 27 (2), 288A, 346A, 323A (1984)).

Trong vai trò là chất ức chế α -glucosidaza theo sáng chế, được đặc biệt ưu tiên là vogliboza (tên chung), acarboza (tên chung), hoặc miglitol (tên chung), và được ưu tiên nhất là vogliboza hoặc acarboza.

Ngoài ra, bên cạnh các hợp chất được đề cập trên đây, các chất mà có hoạt tính ức chế α -glucosidaza và thường được dùng cho thực phẩm và đồ uống thì cũng được ưu tiên trong vai trò là chất ức chế α -glucosidaza theo sáng chế. Trong vai trò là một chất như vậy, thì tốt hơn nếu ít nhất là một loại được chọn từ, ví dụ, chất chiết mạch nha, cây salacia, chất chiết lá dâu tằm và chất chiết hạt chè có thể được dùng đến.

Chất chiết mạch nha, đây là chất chiết thực vật, ức chế hoạt tính α -glucosidaza và nâng cao mức bài tiết carbohydrat ra khỏi cơ thể. Salacia là cây dây leo thuộc họ Dây Gỏi và mọc dại ở Sri Lanka. Chè rế của nó được cho là đã được sử dụng cho mục đích làm thức ăn chữa bệnh ở Ấn Độ trong khoảng 5000 năm, và hợp phần salacinol của nó được cho là hữu ích đối với việc đối phó với bệnh đái tháo đường. Chất chiết hạt chè (TS), đây là một trong số các thành phần chè, ức chế hoạt tính glucosidaza cần thiết cho quá trình hấp thụ đường trong ống tiêu hóa và nhờ đó, ức chế mạnh mẽ quá trình hấp thụ đường (glucoza). Hoạt tính này có chức năng làm giảm năng lượng thu được từ carbohydrat và lượng calo thu vào cân bằng và mức tiêu thụ calo. Chất chiết hạt chè được ưu tiên là, ví dụ, Tea Seed Extract (chất chiết hạt chè) (tên thương mại, do Tanglewood sản xuất).

Vi khuẩn được sử dụng trong sáng chế là ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric, và các ví dụ cụ thể về chúng bao gồm:

các vi khuẩn bifido, như *Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. adolescentis*, *B. infantis*, *B. pseudolongum*, và *B. thermophilum*;

các vi khuẩn axit lactic, như *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. gasseri*, *L. plantarum*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. johnsonii*, *L. paracasei subsp. paracasei*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. salivarius* và *L. brevis*;

các khuẩn cầu axit lactic, như *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus (Enterococcus) faecalis*, *Streptococcus (Enterococcus) faecium*, *Streptococcus (Enterococcus) hirae*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, *L. cremoris*,

Tetragenococcus halophilus, *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus* và *Oenococcus oeni*;

các vi khuẩn đường hóa, như *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus* và *Bacillus polyformenicus*;

các vi khuẩn axit lactic tạo nha bào, như *Bacillus coagulans*;

các vi khuẩn axit butyric, như *Bacillus toyoi*, *B. licheniformis* và *Clostridium butyricum*; và

các vi khuẩn hữu ích khác.

Những tế bào vi khuẩn này thì dễ tìm từ các tổ chức, như ATCC và IFO, hoặc các cơ sở, như Japan Bifidus Foundation. Theo cách khác, có thể sử dụng các sản phẩm thương mại một cách thích hợp.

Tốt hơn, nếu vi khuẩn được sử dụng trong sáng chế là ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric; càng tốt hơn, nếu là ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic và vi khuẩn đường hóa; và ngoài ra, càng tốt hơn, nếu là vi khuẩn axit lactic và/hoặc vi khuẩn bifido. Bên cạnh những loại khác, được ưu tiên hơn là vi khuẩn bifido; được ưu tiên hơn nữa là *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, và *Bifidobacterium breve*; và được đặc biệt ưu tiên là *Bifidobacterium bifidum* và *Bifidobacterium longum*. Trong trường hợp có từ hai loại vi khuẩn trở lên được sử dụng ở dạng kết hợp, thì dạng kết hợp được ưu tiên là: vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic và vi khuẩn đường hóa; vi khuẩn bifido và vi khuẩn axit lactic; vi khuẩn bifido và vi khuẩn đường hóa; hoặc vi khuẩn axit lactic và vi khuẩn đường hóa. Cụ thể, được ưu tiên là dạng kết hợp của hai loại trở lên được chọn từ (i) *Bifidobacterium bifidum*, (ii) *Lactobacillus acidophilus*, (iii) *Lactobacillus gasseri*, (iv) *Streptococcus (Enterococcus) faecalis*, (v) *Streptococcus (Enterococcus) faecium*, (vi) *Bacillus subtilis*, và (vii) *Bacillus mesentericus*. Bên cạnh những loại khác, được ưu tiên hơn là dạng kết hợp của hai loại trở lên được chọn từ (i) *Bifidobacterium bifidum* G9-1, (ii) *Lactobacillus acidophilus* KS-13, (iii) *Lactobacillus gasseri*, (iv) *Streptococcus (Enterococcus) faecalis* 129 BIO 3B, (v) *Streptococcus (Enterococcus) faecium*, (vi) *Bacillus subtilis* 129 BIO H(α), và (vii) *Bacillus mesentericus*. Về vi khuẩn được sử dụng trong sáng chế, được ưu tiên hơn là một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm chứa *Bifidobacterium bifidum* G9-1,

Lactobacillus acidophilus KS-13, *Streptococcus (Enterococcus) faecalis* 129 BIO 3B, và *Bacillus subtilis* 129 BIO H(α); và được đặc biệt ưu tiên là một hoặc nhiều loại được chọn từ nhóm chứa *Bifidobacterium bifidum* G9-1, *Streptococcus (Enterococcus) faecalis* 129 BIO 3B, và *Bacillus subtilis* 129 BIO H(α). Trong trường hợp có hai loại trở lên trong số vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric được sử dụng ở dạng kết hợp, tỷ lệ trộn không bị giới hạn gì cụ thể.

Có thể thu được các tế bào vi khuẩn được đề cập trên đây bằng việc nuôi cấy trong các điều kiện đã biết rộng rãi hoặc các điều kiện tương tự. Ví dụ, trong trường hợp vi khuẩn bifido hoặc vi khuẩn axit lactic, thường là một hoặc nhiều loại trong số vi khuẩn bifido hoặc vi khuẩn axit lactic được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy dạng lỏng chứa glucoza, chất chiết nấm men, pepton, v.v. trong điều kiện ưa khí hoặc kỵ khí ở 25 đến 45°C trong 4 đến 72 giờ. Bằng việc thu gom tế bào từ dịch nuôi cấy và việc rửa kế tiếp, thì thu được các tế bào vi khuẩn ướt. Trong trường hợp vi khuẩn đường hóa, thường là một hoặc nhiều loại trong số vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường agar nuôi cấy chứa dịch chiết thịt, pepton từ casein, natri clorua, v.v. trong điều kiện ưa khí ở 25 đến 45°C trong 4 đến 72 giờ. Bằng việc thu gom tế bào từ môi trường nuôi cấy và việc rửa kế tiếp, thì thu được các tế bào vi khuẩn ướt.

Tốt hơn, nếu ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric để sử dụng trong sáng chế là vi khuẩn có thể sống được, nhưng cũng có thể sử dụng các tế bào vi khuẩn đã được xử lý. “Các tế bào vi khuẩn đã được xử lý” có nghĩa là ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric được xử lý theo cách thức nào đó, và việc xử lý thì không bị giới hạn gì cụ thể. Các ví dụ cụ thể về tế bào vi khuẩn đã được xử lý chứa các sản phẩm phân giải tế bào thu được bằng siêu âm v.v., các dịch nuôi cấy hoặc các dịch nổi ở trên của môi trường nuôi cấy, và chất lỏng rắn của chúng thu được bằng phương tiện tách rắn-lỏng, như lọc và ly tâm. Các ví dụ còn chứa các dịch đã được xử lý mà vách tế bào đã được loại ra từ đó bằng phương tiện enzym hoặc phương tiện cơ học, và các phức hợp protein (protein, lipoprotein, glycoprotein, v.v.) hoặc các phức hợp peptit (peptit, glycopeptit, v.v.) có thể thu được bằng cách xử lý với axit tricloaxetic hoặc bằng phương pháp kết tủa bằng muối. Ngoài ra, các sản phẩm cô, các dung dịch pha loãng, và các chất khô của chúng thì cũng nằm trong các tế bào vi khuẩn đã được xử

lý. Ngoài ra, các tế bào vi khuẩn đã được xử lý theo sáng chế còn chứa tế bào có thể thu được bằng cách xử lý thêm các sản phẩm phân giải tế bào được đề cập trên đây, các dịch nuôi cấy hoặc các dịch nổi ở trên của môi trường nuôi cấy bằng, ví dụ, các loại sắc ký khác nhau. Các tế bào vi khuẩn đã bị tiêu diệt của ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric thì cũng nằm trong các tế bào vi khuẩn đã được xử lý theo sáng chế. Có thể thu được các tế bào vi khuẩn đã bị tiêu diệt bằng phương pháp, ví dụ, xử lý bằng enzym, xử lý nhiệt ở 100°C, xử lý bằng các loại thuốc, như chất kháng sinh, xử lý bằng các hóa chất, như formalin, xử lý bằng bức xạ, như tia γ , v.v.

Vi khuẩn được sử dụng trong sáng chế có thể là sản phẩm đã được làm khô (sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô), và tốt hơn, nếu sản phẩm tế bào vi khuẩn có kích cỡ micro đơn đã được làm khô. Sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô thường có nghĩa là từng tế bào vi khuẩn đã được làm khô riêng biệt hoặc một kết tập của các tế bào vi khuẩn đã được làm khô. “Micron đơn” có nghĩa là kích cỡ từ 1 đến 10 μ M bằng cách làm tròn đến số nguyên gần nhất. Khi sản phẩm tế bào vi khuẩn có kích cỡ micro đơn đã được làm khô được sử dụng làm ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric được sử dụng cho sáng chế, thì tỷ lệ tế bào sống được trong chế phẩm này được tăng lên. Kết quả là, hoạt tính hạ đường huyết được nâng cao, và hiệu quả phòng ngừa và cải thiện các bệnh liên quan đến cách sống, như bệnh đái tháo đường và béo phì, cũng được nâng cao.

Sau đây, phương pháp điều chế được ưa chuộng hơn đối với sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô sẽ được mô tả. Các tế bào vi khuẩn được đề cập trên đây được phân tán trong dung môi để điều chế dịch tế bào vi khuẩn. Dung môi này có thể là dung môi bất kỳ đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này, nhưng được ưu tiên là nước. Nếu muốn, thì có thể bổ sung etanol vào. Trong trường hợp etanol được bổ sung, vì etanol bay hơi trước và sau đó, nước bay hơi, việc làm khô từng bước là có thể. Dịch tế bào vi khuẩn có thể là huyền phù. Dung môi có thể là giống với loại được trình bày trên đây. Trong quá trình điều chế huyền phù, có thể dùng đến chất tạo huyền phù, ví dụ, natri alginat v.v.

Dịch tế bào vi khuẩn có thể được bổ sung chất phụ gia thường được sử dụng trong lĩnh vực này, như tác nhân bảo vệ, tá dược, chất kết dính, chất gây rã, hoặc chất chống tĩnh điện, theo tỷ lệ trộn thông thường.

Dịch tế bào vi khuẩn được đề cập trên đây được đưa vào quy trình làm khô bằng cách sử dụng máy sấy phun dùng cho việc điều chế sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô. Tốt hơn, nếu thiết bị được sử dụng là máy sấy phun được trang bị bộ phận phun có khả năng tạo các giọt phun ra có kích cỡ micron đơn. Các giọt phun ra có đường kính hạt rất nhỏ có diện tích bề mặt lớn cho mỗi khối lượng đơn vị, và do đó tiếp xúc một cách hiệu quả với không khí làm khô nóng, đem lại sự cải thiện về năng suất.

“Các giọt phun ra có kích cỡ micron đơn” có nghĩa là các giọt phun ra có đường kính hạt là từ 1 đến 10 μ M bằng cách làm tròn đến số nguyên gần nhất.

Các ví dụ về máy sấy phun chứa máy sấy phun mà bộ phận phun của nó là, ví dụ, bộ phận phun quay (đĩa quay), vòi phun áp lực cao, hoặc vòi phun 2 chất lỏng hoặc vòi phun 4 chất lỏng có sử dụng lực của khí nén.

Máy sấy phun có thể thuộc loại bất kỳ trong số những loại máy sấy phun được đề cập trên đây miễn là các giọt phun ra có kích cỡ micron đơn có thể được tạo ra, nhưng được ưu tiên là máy sấy phun có vòi phun 4 chất lỏng.

Về cấu trúc của vòi phun 4 chất lỏng của máy sấy phun có vòi phun 4 chất lỏng, thì hai hệ thống mà mỗi hệ thống chứa kênh chất khí và kênh chất lỏng được sắp xếp đối xứng ở mép vòi phun, mép vòi phun này có bề mặt trong nghiêng mà các chất lỏng chảy dọc theo đó.

Được ưu tiên là máy sấy phun thuộc loại trộn bên ngoài, trong đó khí nén và chất lỏng được tập trung từ cả hai phía trên điểm tập trung va chạm ở đầu mút của mép vòi phun. Loại này giúp cho việc phun được lâu hơn mà không gây ra hiện tượng tắc nghẽn vòi phun.

Máy sấy phun có vòi phun 4 kênh sẽ được mô tả chi tiết hơn liên quan đến Fig.4. Ở mép vòi phun của vòi phun 4 kênh, dịch tế bào vi khuẩn đi ra khỏi kênh chất lỏng 3 hoặc 4 được bung thừa ra dọc theo bề mặt dòng chất lỏng 5 bằng dòng khí vận tốc cao đi ra khỏi kênh chất khí 1 hoặc 2 và sau đó, được phun bằng sóng xung kích được tạo ra tại điểm tập trung va chạm 6 ở đầu mút của mép vòi phun, tạo thành các giọt phun ra có kích cỡ micron đơn 7.

Về khí nén, thì có thể sử dụng, ví dụ, không khí, khí cacbon dioxit, các khí trơ, như khí nitơ hoặc khí argon, v.v. Cụ thể, trong các trường hợp sấy phun một chất dễ bị ảnh hưởng bởi quá trình oxy hóa, thì tốt hơn, nếu khí được sử dụng là khí cacbon dioxit hoặc một khí trơ, như khí nitơ hoặc khí argon.

Áp suất của khí nén thường là từ 1 đến 15 kgw/cm², và tốt hơn, nếu là từ 3 đến 8 kgw/cm².

Thể tích dòng chảy của khí trong vòi phun cho mỗi 1mm mép vòi phun thường là từ 1 đến 100l/phút, và tốt hơn, nếu là từ 10 đến 20l/phút.

Trong các trường hợp bình thường, thì kế tiếp, các giọt phun ra được làm cho tiếp xúc với không khí làm khô nóng trong buồng làm khô, tại đây nước được làm bay hơi và nhờ đó, thu được sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô.

Nhiệt độ đầu vào của buồng làm khô thường là từ 2 đến 400°C, tốt hơn, nếu là từ 5 đến 250°C, và càng tốt hơn, nếu là từ 5 đến 150°C. Thậm chí khi nhiệt độ đầu vào là cao đến 200 đến 400°C, thì nhiệt độ trong buồng làm khô không trở nên cao như thế do sự hấp thụ nhiệt bởi hiện tượng bay hơi nước. Bằng cách cắt ngắn thời gian lưu lại trong buồng làm khô, có thể khống chế hiện tượng chết hoặc hiện tượng thiệt hại xảy ra cho các tế bào sống được đến một mức độ nào đó.

Nhiệt độ đầu ra thường là từ 0 đến 120°C, tốt hơn, nếu là từ 5 đến 90°C, và càng tốt hơn, nếu là từ 5 đến 70°C.

Trong máy sấy phun có vòi phun 4 kênh, trong đó tồn tại hai kênh chất lỏng, hai loại khác nhau của các dịch tế bào vi khuẩn, hoặc dịch tế bào vi khuẩn và dung dịch hoặc huyền phù khác có thể được phun một cách đồng thời để thu được sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô ở dạng hỗn hợp của chúng.

Ví dụ, bằng cách phun một cách đồng thời hai loại khác nhau của các dịch tế bào vi khuẩn, thì có thể thu được sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô chứa hai loại trong số các tế bào vi khuẩn này.

Như được mô tả trên đây, sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô có đường kính hạt rất nhỏ có ưu điểm là tỷ lệ tế bào sống được được tăng lên và do đó, có thể đem lại chế phẩm có tỷ lệ tế bào sống được cao hơn.

Đó là, để thu được sản phẩm tế bào vi khuẩn có kích cỡ micro đơn đã được làm khô, được ưu tiên là phun các giọt có kích cỡ micron đơn. Các giọt phun ra có đường kính hạt nhỏ hơn có diện tích bề mặt lớn hơn cho mỗi khối lượng đơn vị, và do đó tiếp

xúc một cách hiệu quả với không khí làm khô nóng. Do đó, có thể giảm thiểu hiện tượng chết hoặc hiện tượng thiệt hại xảy ra cho các tế bào sống được do nhiệt của không khí làm khô nóng gây ra. Kết quả là, tỷ lệ tế bào sống được tăng lên và có thể thu được sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô có nhiều tế bào sống được.

Dạng kết hợp của ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric, với chất ức chế α -glucosidaza thì không bị giới hạn gì cụ thể theo sáng chế. Khi chất ức chế α -glucosidaza là hợp chất được trình bày bằng công thức tổng quát (I) trên đây, thì tốt hơn, nếu là vogliboza (tên chung), tốt hơn, nếu vi khuẩn được sử dụng là ít nhất một loại được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic và vi khuẩn đường hóa. Bên cạnh những loại khác, được đặc biệt ưu tiên là việc sử dụng vi khuẩn bifido, và cũng được ưu tiên là việc sử dụng vi khuẩn axit lactic và/hoặc vi khuẩn đường hóa, với vi khuẩn bifido. Khi chất ức chế α -glucosidaza là hợp chất được trình bày bằng công thức tổng quát (II) trên đây, thì tốt hơn, nếu là acarboza (tên chung), tốt hơn, nếu vi khuẩn được sử dụng là ít nhất một loại được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn bifido. Bên cạnh những loại khác, được ưu tiên hơn là việc sử dụng vi khuẩn axit lactic và/hoặc vi khuẩn đường hóa, và được đặc biệt ưu tiên là vi khuẩn axit lactic và vi khuẩn đường hóa. Có thể sử dụng vi khuẩn bifido với vi khuẩn axit lactic và vi khuẩn đường hóa. Việc sử dụng chất ức chế α -glucosidaza và vi khuẩn trong dạng kết hợp như vậy có thể nâng cao một cách đáng kể hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza và/hoặc vi khuẩn.

Các phương án được ưu tiên theo sáng chế chứa chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết chứa vi khuẩn bifido dùng cho việc nâng cao hoạt tính của vogliboza, chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết chứa vi khuẩn axit lactic dùng cho việc nâng cao hoạt tính của acarboza, chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết chứa vogliboza dùng cho việc nâng cao hoạt tính của vi khuẩn bifido, và chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết chứa acarboza dùng cho việc nâng cao hoạt tính của vi khuẩn axit lactic.

Chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết 1 theo sáng chế thì được điều chế một cách dễ dàng bằng cách trộn ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric, và các thành phần khác. Chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết 2 theo sáng chế thì được điều chế một cách dễ dàng bằng cách trộn chất ức chế α -glucosidaza được đề cập trên

đây và các thành phần khác. Các thành phần khác thì không bị giới hạn gì cụ thể miễn là sử dụng được hiệu quả của sáng chế. Chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng thuốc, chất gần như là thuốc, thực phẩm hoặc đồ uống, thức ăn, hoặc các chất tương tự. Thuốc như vậy chứa chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế thì cũng nằm trong phạm vi theo sáng chế.

Trong sáng chế này, phương pháp cung cấp chất ức chế α -glucosidaza kết hợp với ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric thì không bị giới hạn gì cụ thể miễn là sử dụng được hiệu quả của sáng chế. Các ví dụ về phương pháp này chứa phương pháp mà trong đó chế phẩm (thành phần) chứa chất ức chế α -glucosidaza và chế phẩm (thành phần) chứa ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric được điều chế một cách tách biệt và được cho dùng ở cùng một thời điểm hoặc ở các thời điểm khác nhau; và phương pháp mà trong đó chế phẩm (thành phần) chứa cả chất ức chế α -glucosidaza và ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric được cung cấp. Được ưu tiên là phương pháp mà trong đó chế phẩm chứa cả hai thành phần được điều chế và cho dùng.

Dạng liều dùng của chế phẩm chứa một mình chất ức chế α -glucosidaza, của chế phẩm chứa một mình ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric, và của chế phẩm chứa cả hai cần phải được quyết định, trên cơ sở xem xét các thuộc tính lý hóa, các thuộc tính sinh học, v.v. của mỗi thành phần sao cho dạng đó là thích hợp cho phương thức dùng thuốc. Về các loại thuốc, được ưu tiên là thuốc dùng bên trong thích hợp cho phương thức dùng qua đường miệng. Các ví dụ về dạng liều dùng của thuốc dùng bên trong chứa viên nén, viên kết, hạt mịn, bột, hạt, viên tròn, viên nén nhai được, viên dẹt hình thoi, dung dịch và huyền phù. Bên cạnh những loại khác, viên nén hoặc bột thì được ưu tiên. Ngoài ra, mỗi chế phẩm có thể chứa, bên cạnh chất ức chế α -glucosidaza và/hoặc ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric, chất phụ gia đã biết rộng rãi được sử dụng trong lĩnh vực này, như tá dược (ví dụ, lactoza, tinh bột, xenluloza tinh thể, natri phosphat, hoặc các chất tương tự), chất kết dính (ví dụ, tinh

bột, gelatin, carmelloza natri, metylxenluloza, hydroxypropylmetylxenluloza, hydroxypropylxenluloza, polyvinyl pyrolidon, hoặc các chất tương tự), chất gây rã (ví dụ, tinh bột, carmelloza natri, hoặc các chất tương tự), chất làm trơn (ví dụ, bột talc, magie stearat, canxi stearat, macrogol, este axit béo của sucroza, hoặc các chất tương tự), chất làm ổn định (natri hydrosulfít, natri thiosulfat, natri edetat, natri xitrat, axit ascorbic, dibutyl hydroxytoluen, hoặc các chất tương tự), chất tạo màu, chất tạo hương vị, chất tăng độ sáng, v.v. Lượng của ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric trong chế phẩm cuối cùng thường có thể được xác định bằng cách chọn lựa một lượng thích hợp từ khoảng là từ 0,000001 đến 99% theo khối lượng. Lượng của chất ức chế α -glucosidaza trong chế phẩm cuối cùng thường có thể được xác định bằng cách chọn lựa một lượng thích hợp từ khoảng là từ 0,0001 đến 99% theo khối lượng.

Chế phẩm chứa chất ức chế α -glucosidaza và ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric có thể được điều chế bằng cách trộn các thành phần theo phương pháp điều chế thông thường, và tốt hơn, nếu tỷ lệ trộn giữa chất ức chế α -glucosidaza với ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric là từ 10^3 đến 10^{12} tế bào của vi khuẩn so với 0,05 đến 500mg chất ức chế α -glucosidaza, và đặc biệt tốt hơn, nếu là từ 10^5 đến 10^{11} tế bào của vi khuẩn so với 0,01 đến 300mg chất ức chế α -glucosidaza.

Thông thường, ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric là kỵ khí và có độ dung nạp thấp đối với không khí hoặc oxy trong điều kiện khô ráo và đối với nhiệt độ và độ ẩm cao. Do đó, tốt hơn, nếu việc bào chế chế phẩm như vậy được thực hiện với sự có mặt của khí trơ hoặc trong chân không ở nhiệt độ thấp.

Chế phẩm chứa chất ức chế α -glucosidaza và ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và butyric có thể được điều chế ở dạng chế phẩm rắn hoặc bằng phương pháp khô trong đó bột được trộn một cách đơn giản hoặc được nén thành hạt nhỏ hoặc viên nén, hoặc bằng phương pháp ướt trong đó, với việc sử dụng dung dịch của chất kết dính, thì việc nhào trộn và làm khô được thực hiện để thu được chế phẩm rắn mục tiêu, như hạt nhỏ

hoặc viên nén. Ngoài ra, bột hoặc hạt nhỏ thu được như trên đây có thể được đóng nang để thu được viên nang.

Ví dụ, để điều chế viên nén, thì tốt hơn, nếu sử dụng máy tạo viên nén đã biết rộng rãi. Các ví dụ về máy tạo viên nén chứa máy tạo viên nén dập đơn và máy tạo viên nén quay. Đồng thời, viên tròn, viên nén nhai được, hoặc viên dẹt hình thoi có thể được điều chế theo phương pháp đã biết rộng rãi, ví dụ, bằng phương tiện giống với phương tiện dùng cho phương pháp điều chế viên nén.

Để thu được hỗn hợp đồng đều bằng cách trộn một lượng nhỏ của thành phần có hoạt tính (chất ức chế α -glucosidaza và/hoặc ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric) với lượng lớn của bột khác, thì tốt hơn, nếu sử dụng phương pháp gọi là phương pháp trộn dần dần. Ví dụ, bằng cách trộn kỹ thành phần hoạt tính với bột khác gấp 100 đến 200 lần thể tích thành phần hoạt tính này và tiếp theo, trộn hỗn hợp bột đồng đều thu được với bột còn lại, thì có thể thu được một hỗn hợp bột đồng đều.

Để làm khô chất nước, thì phương pháp làm khô-L, đông-khô, sấy phun, hoặc các phương tiện khác có thể được dùng đến. Để thu được các tế bào vi khuẩn đã được làm khô của ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric, có thể huyền phù hóa vi khuẩn trong dung dịch đệm trung tính được bổ sung một chất làm ổn định thích hợp, như mononatri glutamat, adonitol, hoặc các chất tương tự và sau đó, làm khô huyền phù này bằng một phương pháp đã biết rộng rãi.

Trong sáng chế này, liều lượng của chất ức chế α -glucosidaza dùng cho người lớn thường là từ 0,001 đến 500 mg/lần, tốt hơn, nếu là từ 0,001 đến 100 mg/lần, càng tốt hơn, nếu là từ 0,002 đến 100 mg/lần, và tốt hơn, nếu lượng này được cho dùng qua đường miệng hai lần đến 4 lần mỗi ngày trong vòng 1 giờ trước bữa ăn đến 2 giờ sau bữa ăn. Cụ thể, khi chất ức chế α -glucosidaza là dẫn xuất valiolamin được trình bày bằng công thức tổng quát (I), thì hữu hiệu khi 0,001 đến 20 mg/lần (càng tốt hơn, nếu là từ 0,002 đến 20 mg/lần) hợp chất này được cung cấp qua đường miệng cho người lớn hai lần đến 4 lần mỗi ngày, tốt hơn, nếu ở thời điểm thích hợp trong vòng 1 giờ trước bữa ăn đến 2 giờ sau bữa ăn.

Khi các tế bào sống được sử dụng trong sáng chế, liều lượng hữu hiệu của ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic,

vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric dùng cho người lớn thường là, về các tế bào sống được, từ 10^3 đến 10^{12} tế bào/lần, tốt hơn, nếu là từ 10^5 đến 10^{10} tế bào/lần, càng tốt hơn, nếu là từ 10^6 đến 10^{10} tế bào/lần, và lượng này được cho dùng qua đường miệng hai lần đến 4 lần mỗi ngày, tốt hơn, nếu trong vòng từ 1 giờ trước bữa ăn đến 2 giờ sau bữa ăn. Ở đây, phương pháp đo tổng số tế bào sống được trong chế phẩm sẽ khác đi tùy thuộc vào các tế bào vi khuẩn, nhưng phép đo như vậy có thể được thực hiện một cách dễ dàng theo, ví dụ, phương pháp xác định định lượng dùng cho vi khuẩn tương ứng được mô tả trong Japanese Pharmaceutical Codex.

Tốt hơn, nếu chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế có thể được áp dụng cho cá thể (động vật) mắc các bệnh liên quan đến cách sống, như bệnh đái tháo đường, huyết áp cao, lipit-huyết cao, bệnh tim mạch, và bệnh tim hoặc cá thể có các nguy cơ tiềm tàng của chúng. Các cá thể mắc bệnh béo phì hoặc béo phì tiềm tàng cần đến việc giảm cân cũng là những đối tượng được ưu tiên. Ngoài ra, các cá thể mắc bệnh béo phì và bệnh đái tháo đường gây biến chứng, lipit-huyết cao, v.v. (hội chứng chuyển hóa) hoặc cá thể có các nguy cơ tiềm tàng của chúng thì được ưu tiên hơn. Bên cạnh những nhóm khác, các cá thể mắc bệnh béo phì và/hoặc bệnh đái tháo đường gây biến chứng hoặc cá thể có các nguy cơ tiềm tàng của chúng thì được ưu tiên hơn, các cá thể mắc bệnh béo phì và/hoặc bệnh đái tháo đường gây biến chứng thì được ưu tiên hơn nữa, và các cá thể with bệnh đái tháo đường thì được đặc biệt ưu tiên, cá thể được ưu tiên là động vật có vú, như người, chuột nhắt, chuột cống, thỏ, chó, mèo, bò, ngựa, lợn, và khi không đuôi, và được đặc biệt ưu tiên là người.

Chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế thậm chí ở lượng ít hơn, do việc sử dụng đồng thời chất ức chế α -glucosidaza và ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric, có tác dụng nâng cao bằng tác dụng hiệp trợ hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza và/hoặc vi khuẩn, và do đó là hữu hiệu trong phòng ngừa hoặc điều trị bệnh đái tháo đường hoặc béo phì, để cho sử dụng, và hầu như không có các tác dụng phụ.

Các chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết 1 và 2 theo sáng chế có thể được sử dụng không chỉ ở dạng thuốc được đề cập trên đây mà còn ở dạng thực phẩm hoặc sản phẩm uống như thực phẩm chức năng, thực phẩm dùng cho mục đích y tế đã được chỉ định, hoặc một chế phẩm uống được. Chế phẩm ăn hoặc chế phẩm uống dùng cho việc

nâng cao hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza, chế phẩm này chứa chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết 1 theo sáng chế, thì cũng nằm trong phạm vi theo sáng chế. Chế phẩm ăn hoặc chế phẩm uống dùng cho việc nâng cao hoạt tính hạ đường huyết của vi khuẩn axit lactic, chế phẩm này chứa chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết 2 theo sáng chế, thì cũng nằm trong phạm vi theo sáng chế. Việc cung cấp chế phẩm ăn hoặc chế phẩm uống theo sáng chế cho động vật có vú, trong đó có con người mắc các bệnh liên quan đến cách sống, như bệnh đái tháo đường và béo phì, hoặc có các nguy cơ tiềm tàng của chúng có thể phòng ngừa hoặc cải thiện các bệnh liên quan đến cách sống. Lượng của ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric trong chế phẩm ăn cuối cùng hoặc chế phẩm uống cuối cùng thường có thể được xác định bằng cách chọn lựa một lượng thích hợp từ khoảng là từ 0,000001 đến 99% theo khối lượng. Lượng của chất ức chế α -glucosidaza trong chế phẩm ăn cuối cùng hoặc chế phẩm uống cuối cùng thường có thể được xác định bằng cách chọn lựa một lượng thích hợp từ khoảng là từ 0,0001 đến 99% theo khối lượng.

Trong sáng chế này, phương pháp cho ăn chất ức chế α -glucosidaza kết hợp với ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric thì không bị giới hạn gì cụ thể miễn là sử dụng được hiệu quả của sáng chế. Các ví dụ về phương pháp này chứa phương pháp mà trong đó chế phẩm chứa chất ức chế α -glucosidaza và chế phẩm chứa ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric được điều chế một cách tách biệt và được cho ăn ở cùng một thời điểm hoặc ở các thời điểm khác nhau; và phương pháp mà trong đó chế phẩm chứa cả chất ức chế α -glucosidaza và ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric được cho ăn. Được ưu tiên là phương pháp mà trong đó chế phẩm chứa cả hai thành phần được điều chế và được cho ăn.

Trong trường hợp mà chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế được sử dụng làm chế phẩm ăn hoặc chế phẩm uống, dạng này thì không bị giới hạn gì cụ thể. Chế phẩm ăn hoặc chế phẩm uống cũng có thể ở dạng đã được chế biến, như thức ăn lỏng tự nhiên, thức ăn có hàm lượng bã thấp, thức ăn có những chất cơ bản, hoặc một chế phẩm uống được. Chế phẩm ăn hoặc chế phẩm uống theo sáng chế cũng

có thể là chế phẩm tan được một cách dễ dàng để bổ sung vào đồ uống có cồn hoặc nước khoáng vào thời điểm sử dụng. Cụ thể hơn, chế phẩm ăn hoặc chế phẩm uống theo sáng chế có thể ở dạng, ví dụ, bánh kẹo, như bánh qui, bánh quy dẹt, bánh, kẹo, sôcôla, kẹo cao su, và bánh kẹo kiểu Nhật Bản; bánh mỳ, miến, gạo, hoặc các sản phẩm đã chế biến của chúng; thực phẩm đã được lên men, như rượu sakê và thức uống dạng thuốc; các sản phẩm từ động vật, như sữa chua, giăm bông, thịt lợn muối hun khói, xúc xích, và xốt ma-don-ne; các thức uống, như thức uống từ trái cây, thức uống nhẹ không cồn, thức uống trong thể thao, thức uống có cồn, và thức uống dạng chè; v.v.

Chế phẩm ăn hoặc chế phẩm uống theo sáng chế có thể được cho bệnh nhân dùng, ví dụ, ở dạng thức ăn được điều chế tại chỗ dưới sự giám sát của chuyên gia dinh dưỡng, trên cơ sở công thức chế biến thức ăn do bác sĩ kê toa, bằng cách bổ sung chế phẩm ăn hoặc chế phẩm uống theo sáng chế vào thức ăn bất kỳ trong quy trình điều chế thức ăn bệnh viện. Chế phẩm ăn hoặc chế phẩm uống theo sáng chế có thể ở dạng lỏng hoặc ở dạng rắn như bột và hạt.

Chế phẩm ăn hoặc chế phẩm uống theo sáng chế có thể chứa thành phần phụ trợ thường được sử dụng trong lĩnh vực thực phẩm. Các ví dụ về thành phần phụ trợ chứa lactoza, sucroza, đường lỏng, mật ong, magie stearat, oxypropylxenluloza, các vitamin khác nhau, nguyên tố vi lượng, axit xitric, axit malic, chất tạo hương vị, khoáng chất muối, v.v.

Lượng của chế phẩm ăn hoặc chế phẩm uống theo sáng chế sẽ được cung cấp cho động vật có vú thì thay đổi tùy thuộc vào tình trạng bệnh liên quan đến cách sống, độ tuổi, giới tính, v.v. của động vật có vú, nhưng được ưu tiên là chất ức chế α -glucosidaza và ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric thì mỗi loại được cho dùng theo lượng tương tự với lượng trong trường hợp thuốc được mô tả trên đây.

Sáng chế còn chứa chất thúc đẩy quá trình biểu hiện dùng cho hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza, chất thúc đẩy này chứa ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric. Việc sử dụng đồng thời chất ức chế α -glucosidaza và ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric đem lại tác dụng hạ đường huyết hữu

hiệu trong khoảng thời gian ngắn hơn thậm chí khi lượng của chất ức chế α -glucosidaza là nhỏ hơn lượng trong trường hợp chất ức chế được cung cấp một mình để có được tác dụng hạ đường huyết. Do đó, phương thức sử dụng đồng thời vi khuẩn trên đây và chất ức chế α -glucosidaza có thể tác động một cách hữu hiệu hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế trong khoảng thời gian ngắn hơn thậm chí khi lượng của chất ức chế α -glucosidaza bị giảm xuống.

Trong phương thức sử dụng đồng thời chất ức chế α -glucosidaza và ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric, ví dụ, khi 0,2 đến 100 mg/lần của chất ức chế α -glucosidaza được cho dùng qua đường miệng hai lần đến 4 lần mỗi ngày trước bữa ăn, hoạt tính cải thiện mức dung nạp glucoza hữu hiệu là có thể thu được ở thời điểm 4 đến 8 tuần sau thời điểm bắt đầu cho dùng thuốc. Lượng được ưu tiên của ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric được sử dụng trong sáng chế thì tương tự với lượng của chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết được mô tả trên đây. Chất thúc đẩy quá trình biểu hiện dùng cho hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza theo sáng chế và các phương án được ưu tiên của chúng thì giống như được mô tả liên quan đến chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết dùng cho việc nâng cao hoạt tính của chất ức chế α -glucosidaza được mô tả trên đây.

Sáng chế còn chứa ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric kết hợp với chất ức chế α -glucosidaza được dùng để nâng cao hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza.

Sáng chế còn chứa một chất ức chế α -glucosidaza kết hợp với vi khuẩn được dùng để nâng cao hoạt tính hạ đường huyết của ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric.

Sáng chế còn chứa ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric kết hợp với chất ức chế α -glucosidaza được dùng để thúc đẩy quá trình biểu hiện của hoạt tính hạ đường huyết của chất ức chế α -glucosidaza.

Các ví dụ được ưu tiên của động vật theo sáng chế bao gồm, như được mô tả trên đây, cá thể (động vật) mắc các bệnh liên quan đến cách sống, như bệnh đái tháo đường, huyết áp cao, lipid-huyết cao, bệnh tim mạch, và bệnh tim hoặc cá thể có các nguy cơ tiềm tàng của chúng; cá thể mắc bệnh béo phì hoặc béo phì tiềm tàng cần đến việc giảm cân; và cá thể mắc bệnh béo phì và bệnh đái tháo đường gây biến chứng, lipid-huyết cao, v.v. (hội chứng chuyển hóa) hoặc cá thể có các nguy cơ tiềm tàng của chúng. Phương pháp dùng thuốc và các lượng của ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, và vi khuẩn axit butyric và chất ức chế α -glucosidaza được sử dụng trong sáng chế thì tương tự với phương pháp và lượng của chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết được mô tả trên đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được minh họa chi tiết hơn bằng các ví dụ, nhưng sáng chế không bị giới hạn vào những ví dụ này. Như được sử dụng trong các ví dụ, % là biểu đạt % theo khối lượng trừ khi được chỉ ra khác.

Ví dụ 1

(Điều chế sản phẩm đã được làm khô của các tế bào vi khuẩn bifido, và đo tổng số tế bào sống được trong sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô)

1. Phương pháp điều chế vi khuẩn (BBG9-1: *Bifidobacterium bifidum* G9-1)

Điều chế sản phẩm đã được làm khô của các tế bào vi khuẩn BBG9-1 được thực hiện như sau. Chúng đã được trữ lạnh của BBG9-1 (được bảo quản bởi Biofermin Pharmaceutical Co., Ltd.) được nuôi cấy tĩnh ở 37°C trong 24 giờ. Sau đó, 1 phần (tỷ lệ thể tích) của dịch tế bào vi khuẩn đã được nuôi cấy được tiêm vào 100 phần môi trường lỏng (1) dùng cho thử nghiệm vi khuẩn bifido (được mô tả tại mục “Bifidobacteria” của Japanese Pharmaceutical Codex và được nuôi cấy tĩnh ở 37°C trong 18 giờ. Dịch nuôi cấy thu được được quay ly tâm và các tế bào vi khuẩn được rửa bằng nước 3 lần. Bổ sung một lượng thích hợp của nước vào dịch nuôi cấy. Sau đó, 1kg tế bào vi khuẩn ướt được bổ sung 0,1kg glutamat và 0,5kg dextrin. Bằng việc sử dụng máy sấy phun, ta thu được sản phẩm đã được làm khô của các tế bào vi khuẩn. Chúng vi khuẩn bifido BBG9-1 là thành phần được chứa trong thuốc theo toa, Biofermin tablets (tên thương mại, do Biofermin Pharmaceutical Co., Ltd. sản xuất)

v.v., và do đó là sẵn có từ dạng viên nén hoặc các dạng tương tự bằng phương pháp tinh chế thông thường.

Môi trường lỏng được đề cập trên đây (1) dùng cho thử nghiệm đối với vi khuẩn bifido được điều chế theo phương pháp được mô tả tại mục “Bifidobacteria” của Japanese Pharmaceutical Codex. Đó là, các thành phần dưới đây được trộn và được tiệt trùng bằng nhiệt ở 121°C trong 10 phút bằng việc sử dụng thiết bị tiệt trùng bằng hơi nước cao áp.

Chất chiết gan bò	1000ml
Pepton từ casein	10g
Glucoza	10g
Polysorbat 80	1g
L-xystin	0,5g

(Được hòa tan trong 2ml axit clohydric loãng trước khi bổ sung.)

Độ pH 7,0 đến 7,2

2. Đo tổng số tế bào sống được trong sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô

Tổng số tế bào sống được đo theo phương pháp xác định định lượng dùng cho vi khuẩn bifido được mô tả tại mục “Bifidobacteria” của Japanese Pharmaceutical Codex. Đó là, 5g được cân một cách chính xác của sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô được bổ sung vào 30ml chất pha loãng (2), và hỗn hợp này được lắc mạnh. Chất pha loãng (2) được bổ sung thêm vào cho đến khi tổng thể tích đạt đến đúng 50ml, và sau đó, hỗn hợp này được lắc kỹ lần nữa. Dịch pha loãng 10 lần, trong đó 1ml đã được đo một cách chính xác của dịch tế bào vi khuẩn được bổ sung vào 9ml được pha chế một cách chính xác của chất pha loãng (2), được lặp lại sao cho tổng số tế bào sống được giảm xuống 20 đến 200 tế bào/ml. Đĩa Petri có đặt 1ml dịch được pha loãng trên đó, được bổ sung 20ml môi trường agar dùng cho thử nghiệm đối với vi khuẩn bifido được giữ ở 50°C, và được trộn nhanh để có quá trình hóa rắn tốt hơn. Sau khi nuôi cấy kỵ khí ở 37°C trong 48 đến 72 giờ, thì đếm các khuẩn lạc xuất hiện. Tổng số tế bào sống được trong sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô là được tính trên cơ sở tổng số khuẩn lạc và tỷ lệ pha loãng. Tổng số tế bào sống được trong sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô thu được ở mục 1. trên đây là $3,4 \times 10^{11}$ CFU/g.

Phương pháp điều chế chất pha loãng (2) được sử dụng trong các ví dụ thì được thể hiện dưới đây.

Phương pháp điều chế chất pha loãng (2)

Chất pha loãng (2) được điều chế theo phương pháp được mô tả tại mục “Bifidobacteria” của Japanese Pharmaceutical Codex. Đó là, các thành phần dưới đây được trộn và được tiệt trùng bằng nhiệt ở 121°C trong 15 phút bằng việc sử dụng thiết bị tiệt trùng bằng hơi nước cao áp.

Dinatri hydro phosphat, khan	6,0g
Kali dihydro phosphat	4,5g
Polysorbat 80	0,5 g
L-xystein hydroclorua	0,5 g
Thạch agar	1,0 g
Nước tinh khiết	1000 ml
Độ pH	6,8 đến 7,0

Phương pháp điều chế môi trường agar dùng cho thử nghiệm đối với vi khuẩn bifido được sử dụng trong ví dụ này thì được thể hiện dưới đây.

Theo phương pháp được mô tả tại mục “Bifidobacteria” của Japanese Pharmaceutical Codex, các thành phần dưới đây được trộn và được tiệt trùng bằng nhiệt ở 121°C trong 15 phút bằng việc sử dụng thiết bị tiệt trùng bằng hơi nước cao áp và được sử dụng.

Chất chiết gan lợn	1000ml
Pepton từ casein	20g
Lactoza	20g
Glucoza	10g
Natri clorua	5g
Kali dihydrophosphat	4g
Mononatri L-glutamat	2g
L-xystin	2g

(Được hòa tan trong dung dịch natri hydroxit trước khi bổ sung.)

Thạch agar	15 g
Độ pH	6,7 đến 6,9

Ví dụ 2

(Nâng cao hoạt tính hạ đường huyết bằng phương thức sử dụng đồng thời vi khuẩn bifido và chất ức chế α -glucosidaza)

BBG9-1 thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 được sử dụng làm vi khuẩn axit lactic và vogliboza được sử dụng làm chất ức chế α -glucosidaza. Về vogliboza, BASEN tablets 2.0 (tên thương mại đã được đăng ký) (do Takeda Pharmaceutical Company Ltd. sản xuất) được nghiên ra và sử dụng.

Các con chuột KK-A^y cái (tên chủng KK-A^y/TaJcl) vào 8 tuần tuổi được mua (từ CLEA Japan, Inc.) và được nuôi sơ bộ trong các cũi tách biệt trong 2 tuần. Chuột KK-A^y là chuột mô hình đái tháo đường. Trong quá trình nuôi sơ bộ, cho tiếp cận tự do với thức ăn bột thương mại (tên thương mại: CE-2, do CLEA Japan, Inc. sản xuất) và cung cấp nước máy. Vào ngày thứ nhất của thí nghiệm, thử nghiệm dung nạp glucoza đường miệng (OGTT) được thực hiện. Đó là, cho các con chuột bị bỏ đói từ ngày trước đó dùng dung dịch glucoza ((2g trong 5ml)/kg) qua đường miệng. Trước khi và 15, 30, 60 và 120 phút sau khi cho dùng thuốc, làm cho máu rỉ ra từ tĩnh mạch đuôi, và nồng độ glucoza trong máu được đo bằng cách sử dụng dụng cụ đo glucoza trong máu thương mại dùng cho việc tự kiểm tra (tên thương mại: Accu-Check Aviva, do Roche Diagnostics sản xuất). Vùng dưới đường cong nồng độ máu-thời gian (AUC) được tính, và trên cơ sở AUC, các con chuột được chia thành 4 nhóm A đến D dưới đây (8 con chuột/nhóm). Các con chuột đã được chia nhóm được cho tiếp cận tự do với thức ăn thử nghiệm.

Nhóm A: nhóm được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin.

Nhóm B: nhóm được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}$ /g) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1.

Nhóm C: nhóm được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin và 0,0003% vogliboza.

Nhóm D: nhóm được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}$ /g) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 và 0,0003% vogliboza.

Mỗi nhóm được cho ăn thức ăn thử nghiệm trong 2 tuần như trên đây, bị bỏ đói qua đêm, và sau đó, được đo để biết mức glucoza khi đói bằng cách sử dụng Accu-Check Aviva. Sau khi cho ăn thức ăn thử nghiệm trong 4 tuần nữa (tổng cộng là 6 tuần), OGTT được thực hiện để đánh giá hoạt tính cải thiện mức dung nạp glucoza. Sự khác biệt đáng kể của mỗi nhóm với nhóm A được đánh giá bằng cách sử dụng kiểm nghiệm Dunnett, và sự khác biệt đáng kể giữa 2 nhóm được đánh giá bằng cách sử dụng kiểm định t-test.

Kết quả

Fig.1 biểu thị các mức glucoza trong máu lúc đói của các con chuột nhóm A đến D sau 2-tuần cho ăn thức ăn thử nghiệm. Fig.2 biểu thị các mức glucoza trong máu trong OGTT sau 6-tuần cho ăn, và Fig.3 biểu thị AUC trong những điều kiện tương tự. Như Fig.1 biểu thị rõ, trong khi một mình BBG9-1 hoặc một mình vogliboza đã không giảm được mức glucoza trong máu lúc đói, phương thức sử dụng đồng thời BBG9-1 và vogliboza đã làm giảm một cách đáng kể mức glucoza trong máu lúc đói. Như Fig.2 biểu thị rõ, mặc dầu một mình BBG9-1 hoặc một mình vogliboza đã không ức chế tình trạng tăng về mức glucoza trong máu, phương thức sử dụng đồng thời BBG9-1 và vogliboza nhờ tác dụng hiệp trợ đã giữ được mức glucoza trong máu sau khi chất thêm glucoza tương đối thấp. Ngoài ra, như Fig.3 biểu thị, phương thức sử dụng đồng thời BBG9-1 và vogliboza đã làm giảm một cách đáng kể AUC so với BBG9-1 một mình và vogliboza một mình. Đó là, phương thức sử dụng đồng thời BBG9-1 và vogliboza đã cải thiện mạnh mẽ hơn và mang tính hiệp trợ mức dung nạp glucoza của các con chuột KK-Ay so với BBG9-1 một mình và vogliboza một mình.

Việc sử dụng vi khuẩn bifido không phải là BBG9-1, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, hoặc vi khuẩn axit butyric trong ví dụ 2 đưa đến cùng một kết quả như trên đây.

Các hình vẽ từ Fig.1 đến Fig.3 sẽ được mô tả chi tiết.

Fig.1 biểu thị giá trị trung bình $\pm$ sai số tiêu chuẩn (SE) của 8 cá thể của mỗi nhóm. Cột màu trắng đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin (nhóm A). Cột màu xám đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 (nhóm B). Cột có bóng mờ đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 0,0003% vogliboza và 10% dextrin (nhóm C). Cột màu đen đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 và 0,0003% vogliboza (nhóm D). * và # lần lượt biểu thị sự khác biệt đáng kể với các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin (nhóm A) (**: $p < 0,01$) và sự khác biệt đáng kể với các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 (nhóm B) (#: $p < 0,05$).

Fig.2 biểu thị giá trị trung bình $\pm$ sai số tiêu chuẩn (SE) của 8 cá thể của mỗi nhóm. Các hình tròn màu trắng trong biểu đồ dạng đường đại diện cho các con chuột

được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin (nhóm A). Các hình vuông màu trắng đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 (nhóm B). Các hình tam giác màu trắng đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin và 0,0003% vogliboza (nhóm C). Các hình vuông màu đen đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 và 0,0003% vogliboza (nhóm D).

Fig.3 biểu thị AUC trung bình $\pm$ sai số tiêu chuẩn (SE) của 8 cá thể của mỗi nhóm. Cột màu trắng đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin (nhóm A). Cột màu xám đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 (nhóm B). Cột có bóng mờ đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 0,0003% vogliboza và 10% dextrin (nhóm C). Cột màu đen đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 và 0,0003% vogliboza (nhóm D). * và # lần lượt biểu thị sự khác biệt đáng kể với các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin (nhóm A) (**: $p < 0,01$) và sự khác biệt đáng kể với các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 (nhóm B) (#: $p < 0,05$).

Trong ví dụ 2, trong khi phương thức cung cấp theo chế độ ăn 6-tuần (0,0003%: 0,6 mg/kg/ngày) vogliboza cho các con chuột KK-A^y đã không cải thiện mức dung nạp glucoza, phương thức cung cấp 6-tuần thức ăn được bổ sung ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm chứa vi khuẩn bifido, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và vi khuẩn axit butyric đã cải thiện mức dung nạp glucoza. Theo “Development of BASEN Tablets (trade name) 3. Effects on insulin secretion and pancreatic islet lesions” của Takeda Pharmaceutical Company Ltd. (http://www2.takedamed.com/content/search/doc1/067/kaihatsu/kai067_4.html), phương thức cung cấp theo chế độ ăn 9-tuần (0,005%: 4,1 mg/kg/ngày) vogliboza, chất này là chất ức chế α -glucosidaza, cho các con chuột GK được đặc trưng bởi sự dung nạp glucoza bất thường đã cải thiện mức dung nạp glucoza. Các kết quả trong ví dụ 2 cho thấy rằng phương thức cung cấp đồng thời chất ức chế α -glucosidaza và vi khuẩn, như vi khuẩn bifido, thì hữu hiệu hơn, thậm chí khi lượng bị giảm xuống của

chất ức chế α -glucosidaza được cho dùng trong khoảng thời gian ngắn hơn, trong việc đạt được tác dụng hạ đường huyết hơn phương thức cung cấp một chất đơn lẻ của chất ức chế α -glucosidaza.

Ví dụ 3

(Điều chế sản phẩm đã được làm khô của các tế bào vi khuẩn axit lactic, và đo tổng số tế bào sống được trong sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô)

1. Phương pháp điều chế vi khuẩn (3B: *Streptococcus faecalis* 129 BIO 3B)

Việc điều chế sản phẩm đã được làm khô của các tế bào vi khuẩn 3B được thực hiện như sau. Chúng đã được trữ lạnh của 3B (được bảo quản bởi Biofermin Pharmaceutical Co., Ltd.) được nuôi cấy tĩnh ở 37°C trong 24 giờ. Sau đó, bổ sung 1 phần (tỷ lệ thể tích) của dịch tế bào vi khuẩn đã được nuôi cấy vào 100 phần môi trường lỏng (2) dùng cho thử nghiệm đối với lactomin (được mô tả tại mục “Lactomin” của Japanese Pharmaceutical Codex) và nuôi cấy tĩnh ở 37°C trong 18 giờ. Dịch nuôi cấy thu được được quay ly tâm và các tế bào vi khuẩn được rửa bằng nước 3 lần. Bổ sung một lượng thích hợp của nước vào dịch nuôi cấy. Sau đó, 1kg tế bào vi khuẩn ướt được bổ sung 0,1kg glutamat và 0,5kg dextrin. Bằng việc sử dụng máy sấy phun, ta thu được sản phẩm đã được làm khô của các tế bào vi khuẩn. Chúng 3B là thành phần được chứa trong thuốc theo toa, Biofermin (tên thương mại, do Biofermin Pharmaceutical Co., Ltd. sản xuất) v.v., và do đó là sẵn có từ dạng bột hoặc các dạng tương tự của Biofermin bằng phương pháp tinh chế thông thường.

Môi trường lỏng được đề cập trên đây (2) dùng cho thử nghiệm đối với lactomin được điều chế theo phương pháp được mô tả tại mục “Lactomin” của Japanese Pharmaceutical Codex. Đó là, các thành phần dưới đây được trộn và được tiệt trùng bằng nhiệt ở 121°C trong 15 phút bằng việc sử dụng thiết bị tiệt trùng bằng hơi nước cao áp.

Chất chiết nấm men	5g
Pepton từ casein	20g
Glucosa	20g
Dịch chiết thịt	15g
Nước cà chua*	200ml
Polysorbat 80	3g
L-xystein hydroclorua	1g

Nước tinh khiết	800ml
Độ pH	6,8±0,1

Nước cà chua* được điều chế bằng cách bổ sung lượng tương đương của nước tinh khiết vào nước cà chua, đun sôi trong khi thỉnh thoảng khuấy, điều chỉnh độ pH đến 6,8, và tinh chế tiếp đó.

2. Đo tổng số tế bào sống được trong sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô

Tổng số tế bào sống được đo theo phương pháp xác định định lượng dùng cho lactomin được mô tả tại mục “Lactomin” của Japanese Pharmaceutical Codex. Đó là, 5g được cân một cách chính xác của sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô được bổ sung vào 30ml chất pha loãng (2), và hỗn hợp này được lắc mạnh. Chất pha loãng (2) được bổ sung thêm vào cho đến khi tổng thể tích đạt đến đúng 50ml, và sau đó, hỗn hợp này được lắc kỹ lần nữa. Dịch pha loãng 10 lần, trong đó 1ml đã được đo một cách chính xác của dịch tế bào vi khuẩn được bổ sung vào 9ml được pha chế một cách chính xác của chất pha loãng (2), được lặp lại sao cho tổng số tế bào sống được giảm xuống 20 đến 200 tế bào/ml. Đĩa Petri mà đã được để 1ml dịch được pha loãng được bổ sung 20ml môi trường agar (2) dùng cho thử nghiệm đối với lactomin được giữ ở 50°C, và được trộn nhanh để có quá trình hóa rắn tốt hơn. Sau khi nuôi cấy ưa khí ở 37°C trong vòng 24 đến 72 giờ, thì đếm các khuẩn lạc xuất hiện. Tổng số tế bào sống được trong sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô là được tính trên cơ sở tổng số khuẩn lạc và tỷ lệ pha loãng. Tổng số tế bào sống được trong sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô thu được ở mục 1. trên đây là $7,0 \times 10^{11}$ CFU/g.

Môi trường agar (2) được đề cập trên đây dùng cho thử nghiệm đối với lactomin được điều chế theo phương pháp được mô tả tại mục “Lactomin” của Japanese Pharmaceutical Codex. Đó là, 15g agar được bổ sung vào môi trường lỏng (2) được mô tả trên đây dùng cho thử nghiệm đối với lactomin và hỗn hợp này được tiệt trùng bằng nhiệt ở 121°C trong 15 phút bằng việc sử dụng thiết bị tiệt trùng bằng hơi nước cao áp.

Ví dụ 4

(Điều chế sản phẩm đã được làm khô của các tế bào vi khuẩn đường hóa, và đo tổng số tế bào sống được trong sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô)

1. Phương pháp điều chế vi khuẩn (H(α)): *Bacillus subtilis* 129 BIO H(α))

Việc điều chế sản phẩm đã được làm khô của các tế bào vi khuẩn H(α) được thực hiện như sau. Chúng đã được bảo quản của H(α) (được bảo quản bởi Biofermin Pharmaceutical Co., Ltd.) được tạo huyền phù trong dung dịch muối sinh lý vô trùng. Sau đó, thêm 2 phần (tỷ lệ thể tích) huyền phù vi khuẩn vào 70 phần môi trường agar (2) dùng cho thử nghiệm đối với vi khuẩn đường hóa (được mô tả tại mục “Saccharifying bacteria” của Japanese Pharmaceutical Codex) và nuôi cấy tĩnh ở 37°C trong 72 giờ. Môi trường nuôi cấy được rửa bằng 18 phần (so với 70 phần môi trường (tỷ lệ thể tích)) của dung dịch muối sinh lý vô trùng, và huyền phù vi khuẩn đã thu được được rửa. 5kg tinh bột được trộn với 1l huyền phù vi khuẩn, và hỗn hợp được rửa. Thêm 5kg tinh bột được trộn với hỗn hợp này để thu được sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô. Chúng vi khuẩn đường hóa H(α) là thành phần được chứa trong thuốc theo toa, Biofermin (tên thương mại, do Biofermin Pharmaceutical Co., Ltd. sản xuất), và do đó là sẵn có từ dạng bột Biofermin bằng phương pháp tinh chế thông thường.

Môi trường agar (2) được đề cập trên đây dùng cho thử nghiệm đối với vi khuẩn đường hóa được điều chế theo phương pháp được mô tả tại mục “Saccharifying bacteria” của Japanese Pharmaceutical Codex. Đó là, các thành phần dưới đây được trộn và được tiệt trùng bằng nhiệt ở 121°C trong 20 phút bằng việc sử dụng thiết bị tiệt trùng bằng hơi nước cao áp.

Dịch chiết thịt	7,5g
Pepton từ casein	10g
Natri clorua	2,5g
Thạch agar	15g
Nước tinh khiết	1000ml
Độ pH	7,0 $\pm$ 0,1

2. Đo tổng số tế bào sống được trong sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô

Tổng số tế bào sống được đo theo phương pháp xác định định lượng dùng cho vi khuẩn đường hóa được mô tả tại mục “Saccharifying bacteria” của Japanese Pharmaceutical Codex. Đó là, 5g được cân một cách chính xác của sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô được bổ sung vào 30ml chất pha loãng, và hỗn hợp này được lắc mạnh. Chất pha loãng được bổ sung thêm vào cho đến khi tổng thể tích đạt đến đúng 50ml, và sau đó, hỗn hợp này được lắc kỹ lần nữa. Dịch pha loãng 10 lần, trong

đó 1ml đã được đo một cách chính xác của dịch tế bào vi khuẩn được bổ sung vào 9ml được pha chế một cách chính xác của chất pha loãng, được lặp lại sao cho tổng số tế bào sống được giảm xuống 30 đến 300 tế bào/ml. Đĩa Petri mà đã được để 1ml dịch được pha loãng, được bổ sung 20ml môi trường agar (2) dùng cho thử nghiệm đối với vi khuẩn đường hóa được giữ ở 50°C, và trộn nhanh để có quá trình hóa rắn tốt hơn. Sau khi nuôi cấy ưa khí ở 37°C trong 24 đến 48 giờ, thì đếm các khuẩn lạc xuất hiện. Tổng số tế bào sống được trong sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô là được tính trên cơ sở tổng số khuẩn lạc và tỷ lệ pha loãng. Tổng số tế bào sống được trong sản phẩm tế bào vi khuẩn đã được làm khô thu được ở mục 1. trên đây là $1,2 \times 10^8$ CFU/g.

Chất pha loãng được đề cập trên đây được điều chế theo phương pháp được mô tả tại mục “Saccharifying bacteria” của Japanese Pharmaceutical Codex. Đó là, các thành phần dưới đây được trộn và được tiệt trùng bằng nhiệt ở 121°C trong 20 phút bằng việc sử dụng thiết bị tiệt trùng bằng hơi nước cao áp.

Chất pha loãng

Pepton từ casein	1g
Natri clorua	5g
Nước tinh khiết	1000ml
Độ pH	7,0±0,1

Ví dụ 5

(Nâng cao hoạt tính hạ đường huyết bằng phương thức sử dụng đồng thời vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa và chất ức chế α -glucosidaza)

3B thu được bằng phương pháp của ví dụ 3 trong vai trò là vi khuẩn axit lactic, H(α) thu được bằng phương pháp của ví dụ 4 trong vai trò là vi khuẩn đường hóa, và acarboza trong vai trò là chất ức chế α -glucosidaza được sử dụng. Về acarboza, 100mg viên nén Glucobay (tên thương mại đã được đăng ký) (do Bayer Yakuhin, Ltd. sản xuất) được nghiền ra và sử dụng.

Các con chuột KK-A^y cái (tên chủng KK-A^y/TaJcl) vào 8 tuần tuổi được mua (từ CLEA Japan, Inc.) và được nuôi sơ bộ trong các cũi tách biệt trong 3 tuần. Trong quá trình nuôi sơ bộ, cho tiếp cận tự do với thức ăn bột thương mại (tên thương mại: CE-2, do CLEA Japan, Inc. sản xuất) và cung cấp nước máy. Vào ngày thứ nhất của thí nghiệm, thử nghiệm dung nạp glucoza đường miệng (OGTT) được thực hiện. Đó

là, cho các con chuột bị bỏ đói từ ngày trước đó dùng dung dịch glucoza ((2g trong 5ml)/kg) qua đường miệng. Trước khi và 15, 30, 60 và 120 phút sau khi cho dùng thuốc, làm cho máu rỉ ra từ tĩnh mạch đuôi, và nồng độ glucoza trong máu được đo bằng cách sử dụng dụng cụ đo glucoza trong máu thương mại dùng cho việc tự kiểm tra (tên thương mại: Accu-Check Aviva, do Roche Diagnostics sản xuất). Vùng dưới đường cong nồng độ máu-thời gian (AUC) được tính, và trên cơ sở AUC, các con chuột được chia thành 4 nhóm E đến H dưới đây (7 con chuột/nhóm). Các con chuột đã được chia nhóm được cho tiếp cận tự do với thức ăn thử nghiệm.

Nhóm E: nhóm được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin.

Nhóm F: nhóm được cho ăn CE-2 chứa 5% tế bào vi khuẩn được làm khô 3B ($7,0 \times 10^{11}$ /g) thu được bằng phương pháp của ví dụ 3 và 5% tế bào vi khuẩn được làm khô H(α) ($1,2 \times 10^8$ /g) thu được bằng phương pháp của ví dụ 4.

Nhóm G: nhóm được cho ăn CE-2 chứa 0,1% acarboza và 10% dextrin.

Nhóm H: nhóm được cho ăn CE-2 chứa 5% tế bào vi khuẩn được làm khô 3B ($7,0 \times 10^{11}$ /g) thu được bằng phương pháp của ví dụ 3, 5% tế bào vi khuẩn được làm khô H(α) ($1,2 \times 10^8$ /g) thu được bằng phương pháp của ví dụ 4, và 0,1% acarboza.

Sau khi cho mỗi nhóm ăn thức ăn thử nghiệm trong 4 tuần như trên đây, OGTT được thực hiện để đánh giá hoạt tính cải thiện mức dung nạp glucoza. Sự khác biệt đáng kể của mỗi nhóm với nhóm E được đánh giá bằng cách sử dụng kiểm nghiệm Dunnett, và sự khác biệt đáng kể giữa 2 nhóm được đánh giá bằng cách sử dụng kiểm định t-test.

Các kết quả

Fig.5 biểu thị các mức glucoza trong máu trong OGTT sau 4-tuần cho chuột nhóm E đến H ăn thức ăn thử nghiệm, và Fig.6 biểu thị AUC trong những điều kiện tương tự. Như Fig.5 biểu thị rõ, mặc dầu phương thức sử dụng đồng thời 3B và H(α) hoặc một mình acarboza đã không ức chế được tình trạng tăng về mức glucoza trong máu, phương thức sử dụng đồng thời 3B, H(α) và acarboza (nhóm H) nhờ tác dụng hiệp trợ đã giữ được mức glucoza trong máu sau khi chắt thêm glucoza tương đối thấp. Ngoài ra, như Fig.6 biểu thị, mặc dầu phương thức sử dụng đồng thời 3B và H(α) hoặc một mình acarboza đã không làm giảm một cách đáng kể AUC so với nhóm E, phương thức sử dụng đồng thời 3B, H(α) và acarboza (nhóm H) đã làm giảm một cách đáng kể AUC. Ngoài ra, phương thức sử dụng đồng thời 3B, H(α) và acarboza đã làm giảm

một cách đáng kể AUC so với phương thức sử dụng đồng thời 3B và H(α) và với acarboza một mình. Đó là, phương thức sử dụng đồng thời 3B, H(α) và acarboza đã cải thiện mạnh mẽ hơn và mang tính hiệp trợ mức dung nạp glucoza của các con chuột KK-A^y so với phương thức sử dụng đồng thời 3B và H(α) và với acarboza một mình. Việc sử dụng 3B và acarboza, hoặc H(α) và acarboza trong ví dụ 5 đưa đến cùng một kết quả như trong phương thức sử dụng đồng thời 3B, H(α) và acarboza (nhóm H). Việc sử dụng vi khuẩn axit lactic không phải 3B và sử dụng vi khuẩn đường hóa không phải H(α) đưa đến cùng một kết quả như trên đây.

Các hình vẽ Fig.5 và Fig.6 sẽ được mô tả chi tiết.

Fig.5 biểu thị giá trị trung bình $\pm$ sai số tiêu chuẩn (SE) của 7 cá thể của mỗi nhóm. Các hình tròn màu trắng trong biểu đồ dạng đường đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin (nhóm E). Các hình vuông màu trắng đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 5% tế bào vi khuẩn được làm khô 3B ($7,0 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 3 và 5% tế bào vi khuẩn được làm khô H(α) ($1,2 \times 10^8/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 4 (nhóm F). Các hình tam giác màu trắng đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 0,1% acarboza và 10% dextrin (nhóm G). Các hình vuông màu đen đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 5% tế bào vi khuẩn được làm khô 3B ($7,0 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 3, 5% tế bào vi khuẩn được làm khô H(α) ($1,2 \times 10^8/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 4, và 0,1% acarboza (nhóm H).

Fig.6 biểu thị AUC trung bình $\pm$ sai số tiêu chuẩn (SE) của 7 cá thể của mỗi nhóm. Cột màu trắng đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin (nhóm E). Cột màu xám đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 5% tế bào vi khuẩn được làm khô 3B ($7,0 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 3 và 5% tế bào vi khuẩn được làm khô H(α) ($1,2 \times 10^8/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 4 (nhóm F). Cột có bóng mờ đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 0,1% acarboza và 10% dextrin (nhóm G). Cột màu đen đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 5% tế bào vi khuẩn được làm khô 3B ($7,0 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 3, 5% tế bào vi khuẩn được làm khô H(α) ($1,2 \times 10^8/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 4, và 0,1% acarboza (nhóm H). *, #, và \$ lần lượt biểu thị sự khác biệt đáng kể với các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin (nhóm E)

(**): $p < 0,01$), sự khác biệt đáng kể với các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 5% tế bào vi khuẩn được làm khô 3B ($7,0 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 3 và 5% tế bào vi khuẩn được làm khô H(α) ($1,2 \times 10^8/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 4 (nhóm F) (#: $p < 0,05$), và sự khác biệt đáng kể với các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 0,1% acarboza và 10% dextrin (nhóm G) (\$: $p < 0,05$).

Ví dụ 6

(Nâng cao hoạt tính hạ đường huyết bằng phương thức sử dụng đồng thời vi khuẩn bifido và chất ức chế α -glucosidaza)

BBG9-1 thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 được sử dụng làm vi khuẩn bifido và acarboza được sử dụng làm chất ức chế α -glucosidaza. Về acarboza, 100mg viên nén Glucobay (tên thương mại đã được đăng ký) (do Bayer Yakuhin, Ltd. sản xuất) được nghiền ra và sử dụng.

Các con chuột KK-A^y cái (tên chủng KK-A^y/TaJcl) vào 8 tuần tuổi được mua (từ CLEA Japan, Inc.) và được nuôi sơ bộ trong các cũi tách biệt trong 2 tuần. Trong quá trình nuôi sơ bộ, cho tiếp cận tự do với thức ăn bột thương mại (tên thương mại: CE-2, do CLEA Japan, Inc. sản xuất) và cung cấp nước máy. Vào ngày thứ nhất của thí nghiệm, thử nghiệm dung nạp glucoza đường miệng (OGTT) được thực hiện. Đó là, cho các con chuột bị bỏ đói từ ngày trước đó dùng dung dịch glucoza ((2g trong 5ml)/kg) qua đường miệng. Trước khi và 15, 30, 60 và 120 phút sau khi cho dùng thuốc, làm cho máu rỉ ra từ tĩnh mạch đuôi, và nồng độ glucoza trong máu được đo bằng cách sử dụng dụng cụ đo glucoza trong máu thương mại dùng cho việc tự kiểm tra (tên thương mại: Accu-Check Aviva, do Roche Diagnostics sản xuất). Vùng dưới đường cong nồng độ máu-thời gian (AUC) được tính, và trên cơ sở AUC, các con chuột được chia thành 4 nhóm I đến L dưới đây (9 con chuột/nhóm). Các con chuột đã được chia nhóm được cho tiếp cận tự do với thức ăn thử nghiệm.

Nhóm I: nhóm được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin.

Nhóm J: nhóm được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1.

Nhóm K: nhóm được cho ăn CE-2 chứa 0,1% acarboza và 10% dextrin.

Nhóm L: nhóm được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 và 0,1% acarboza.

Sau khi cho mỗi nhóm ăn thức ăn thử nghiệm trong 4 tuần như trên đây, OGTT được thực hiện để đánh giá hoạt tính cải thiện mức dung nạp glucoza. Sự khác biệt đáng kể của mỗi nhóm với nhóm I được đánh giá bằng cách sử dụng kiểm nghiệm Dunnett, và sự khác biệt đáng kể giữa 2 nhóm được đánh giá bằng cách sử dụng kiểm định t-test.

Các ví dụ

Fig.7 biểu thị các mức glucoza trong máu trong OGTT sau 4-tuần cho chuột nhóm I đến L ăn thức ăn thử nghiệm, và Fig.8 biểu thị AUC trong những điều kiện tương tự. Như Fig.7 biểu thị rõ, mặc dầu một mình BBG9-1 hoặc một mình acarboza đã không ức chế được tình trạng tăng về mức glucoza trong máu, phương thức sử dụng đồng thời BBG9-1 và vogliboza nhờ tác dụng hiệp trợ đã giữ được mức glucoza trong máu sau khi chất thêm glucoza tương đối thấp. Ngoài ra, như Fig.8 biểu thị, mặc dầu một mình BBG9-1 hoặc một mình acarboza đã không làm giảm một cách đáng kể AUC so với nhóm I, phương thức sử dụng đồng thời BBG9-1 và acarboza đã làm giảm một cách đáng kể AUC. Ngoài ra, phương thức sử dụng đồng thời BBG9-1 và acarboza đã làm giảm một cách đáng kể AUC so với một mình BBG9-1. Đó là, phương thức sử dụng đồng thời BBG9-1 và acarboza đã cải thiện mạnh mẽ hơn và mang tính hiệp trợ mức dung nạp glucoza của các con chuột KK-A^y so với BBG9-1 một mình và với acarboza một mình. Việc sử dụng vi khuẩn bifido không phải là BBG9-1, vi khuẩn axit lactic, vi khuẩn đường hóa, hoặc vi khuẩn axit butyric trong ví dụ 6 đưa đến cùng một kết quả như trên đây.

Các Fig.7 và Fig.8 sẽ được mô tả chi tiết.

Fig.7 biểu thị giá trị trung bình $\pm$ sai số tiêu chuẩn (SE) của 9 cá thể của mỗi nhóm. Các hình tròn màu trắng trong biểu đồ dạng đường đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin (nhóm I). Các hình vuông màu trắng đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 (nhóm J). Các hình tam giác màu trắng đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 0,1% acarboza và 10% dextrin (nhóm K). Các hình vuông màu đen đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 và 0,1% acarboza (nhóm L).

Fig.8 biểu thị AUC trung bình $\pm$ sai số tiêu chuẩn (SE) của 9 cá thể của mỗi nhóm. Cột màu trắng đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin (nhóm I). Cột màu xám đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 (nhóm J). Cột có bóng mờ đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 0,1% acarboza và 10% dextrin (nhóm K). Cột màu đen đại diện cho các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 và 0,1% acarboza (nhóm L). * và # lần lượt biểu thị sự khác biệt đáng kể với các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% dextrin (nhóm I) (**: $p < 0,01$) và sự khác biệt đáng kể với các con chuột được cho ăn CE-2 chứa 10% tế bào vi khuẩn được làm khô BBG9-1 ($3,4 \times 10^{11}/g$) thu được bằng phương pháp của ví dụ 1 (nhóm J) (####: $p < 0,001$).

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

Chất nâng cao tác dụng hạ đường huyết theo sáng chế là hữu ích cho việc phòng ngừa hoặc cải thiện các bệnh liên quan đến cách sống, như bệnh đái tháo đường và béo phì.

Danh mục các dấu hiệu tham chiếu

- 1, 2 Kênh khí, nơi khí nén được cung cấp qua đó
- 3, 4 Kênh chất lỏng, nơi chất lỏng chứa một chất cần được làm khô được cung cấp qua đó
- 5 Bề mặt dòng chất lỏng
- 6 Điểm tập trung va chạm
- 7 Các giọt phun ra

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm chứa tổ hợp của *Streptococcus faecalis* và *Bacillus subtilis* với acarboza.
2. Chế phẩm chứa *Streptococcus faecalis*, *Bacillus subtilis* và acarboza.
3. Chế phẩm theo điểm 1 hoặc 2, trong đó *Streptococcus faecalis* là *Streptococcus faecalis* 129 BIO 3B.
4. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó *Bacillus subtilis* là *Bacillus subtilis* 129 BIO H(α).
5. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó lượng *Streptococcus faecalis* tương đối so với chế phẩm là nằm trong khoảng từ 0,000001 đến 99% theo khối lượng.
6. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó lượng *Bacillus subtilis* tương đối so với chế phẩm là nằm trong khoảng từ 0,000001 đến 99% theo khối lượng.
7. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó lượng acarboza tương đối so với chế phẩm là nằm trong khoảng từ 0,0001 đến 99% theo khối lượng.
8. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó tỷ lệ của *Streptococcus faecalis* so với acarboza là từ 10^3 đến 10^{12} tế bào *Streptococcus faecalis* so với từ 0,05 đến 500 mg acarboza.
9. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 8, trong đó tỷ lệ của *Bacillus subtilis* so với acarboza là từ 10^3 đến 10^{12} tế bào *Bacillus subtilis* so với từ 0,05 đến 500 mg acarboza.
10. Dược phẩm chứa chế phẩm được xác định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9.

Fig.1

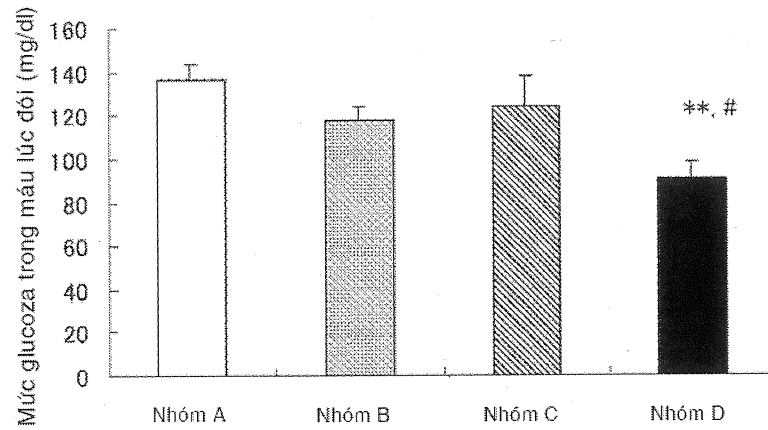


Fig.2

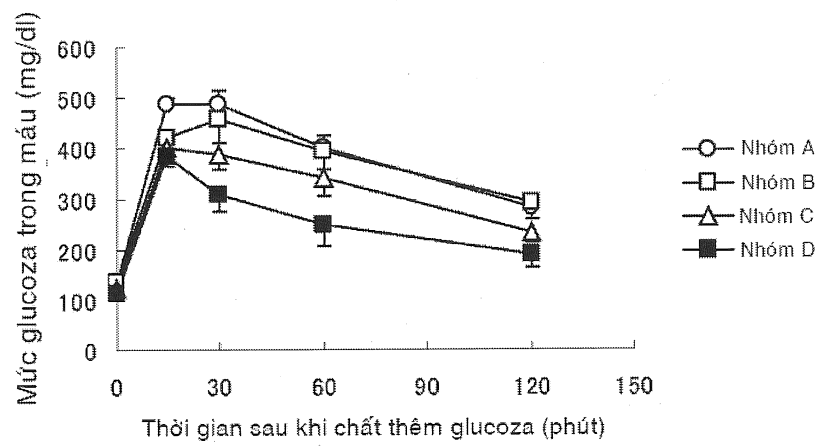


Fig.3

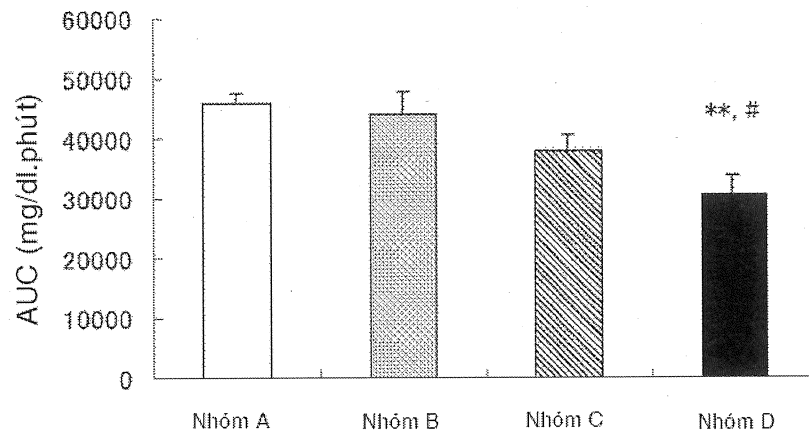


Fig.4

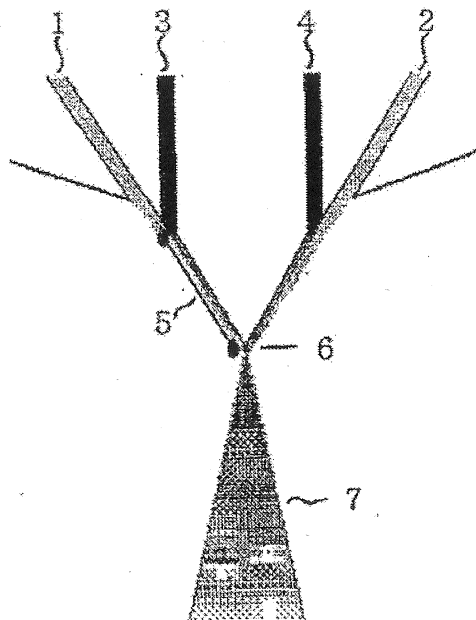


Fig.5

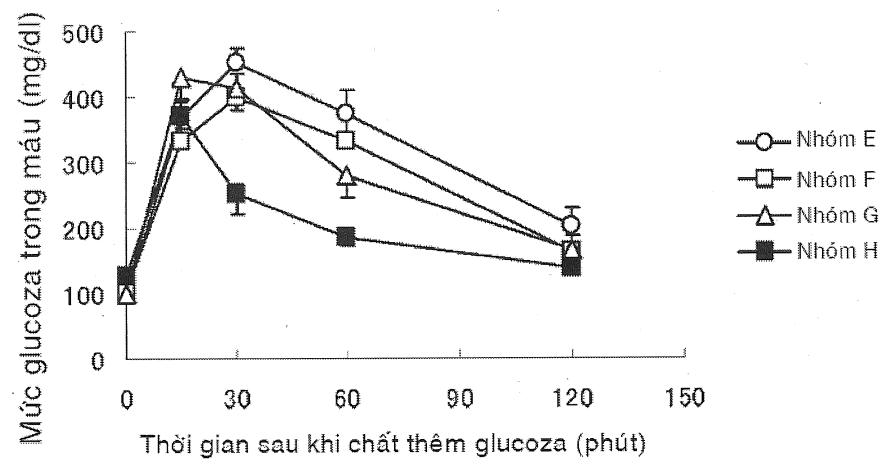


Fig.6

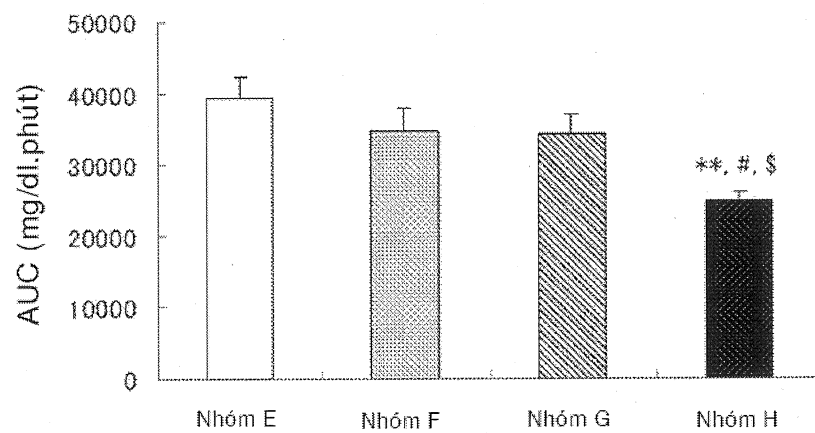


Fig.7

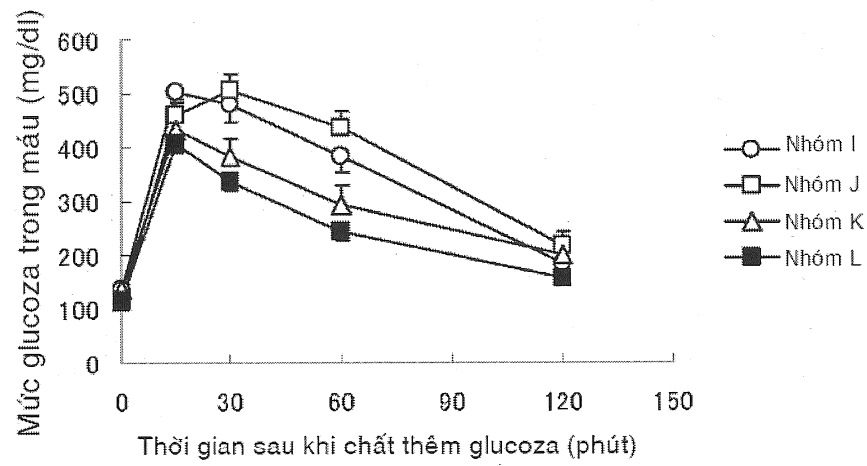


Fig.8

