



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

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

(11)



1-0036948

(51)^{2015.01} A61K 36/8962; A61K 35/64; A61P 3/10; (13) B
A61K 36/70; A61K 35/63; A61K 36/185

(21) 1-2018-03980

(22) 11/09/2018

(30) 10-2018-0061788 30/05/2018 KR

(45) 25/09/2023 426

(43) 25/12/2019 381A

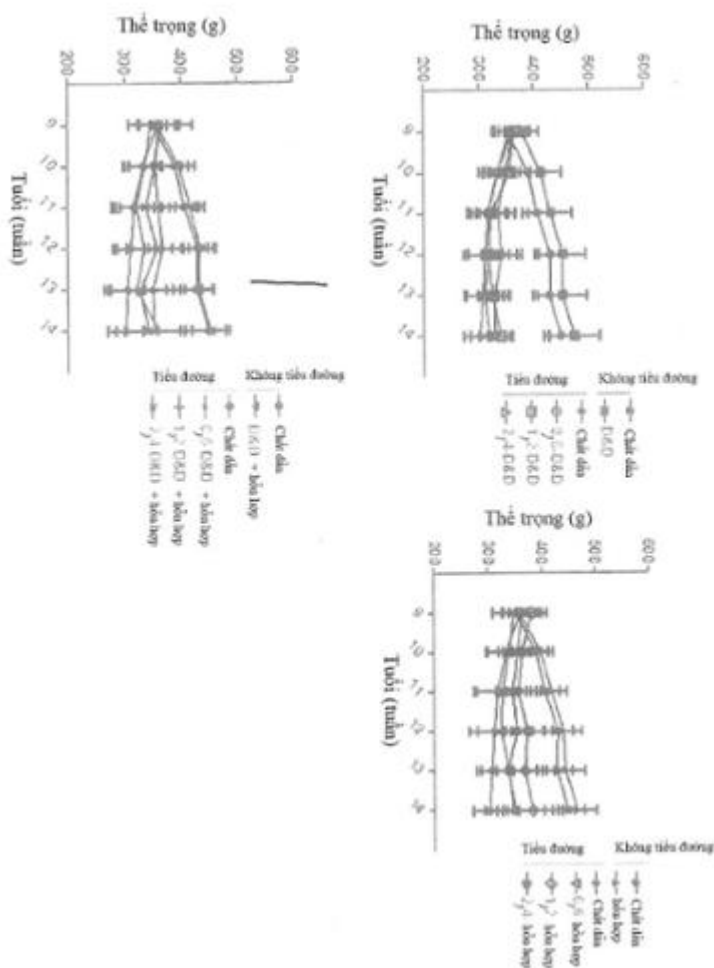
(76) LEE, Sam Goo (KR)

105-204, 22, Taepyeong 2-gil, Wansan-gu, Jeonju-si, Jeollabuk-do, 54997, Republic of Korea

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) CHẾ PHẨM ĐIỀU TRỊ BỆNH TIỂU ĐƯỜNG

(57) Sáng chế đề xuất chế phẩm điều trị bệnh tiểu đường, được dùng làm nguồn thay thế bữa ăn cho bệnh nhân mắc bệnh tiểu đường. Chế phẩm này chứa hỗn hợp bột thực vật và/hoặc bột dẻ.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm điều trị bệnh tiểu đường, có khả năng cải thiện một cách đáng kể đường huyết ở bệnh tiểu đường typ 1, là bệnh tiểu đường phụ thuộc insulin, cũng như bệnh tiểu đường typ 2 là bệnh tiểu đường không phụ thuộc insulin.

Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến chế phẩm điều trị bệnh tiểu đường, có khả năng cải thiện một cách đáng kể đường huyết trong thời gian ngắn khoảng 4 tuần khi người sử dụng dùng nguồn thay thế bữa ăn dinh dưỡng vào một bữa trong một ngày mà không cần dùng insulin.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Tiểu đường là một loại bệnh về chuyển hoá mà thiếu hụt việc tiết insulin ở tuyến tụy hoặc chức năng hoạt động không bình thường. Bệnh này được đặc trưng bởi hàm lượng đường huyết cao. Bệnh tiểu đường được chia thành bệnh tiểu đường typ 1 và bệnh tiểu đường typ 2.

Bệnh tiểu đường typ 1, còn được gọi là 'bệnh tiểu đường trẻ em', là do insulin không được tạo ra vì tế bào beta trong tuyến tụy bị phá huỷ. Sở dĩ như vậy là do sự phá huỷ bẩm sinh hoặc mắc phải của tế bào beta ở tuyến tụy, là nơi vẫn được dùng để sản xuất insulin cần thiết. Bệnh tiểu đường typ 1 là một bệnh nguy hiểm làm cho bệnh nhân sống dựa vào việc tiêm insulin và bơm insulin.

Bệnh tiểu đường typ 2 là bệnh do insulin được tạo ra từ tế bào beta ở tuyến tụy tương đối không đủ hoặc vì tế bào không đốt cháy được glucoza một cách hữu hiệu do tính kháng insulin mặc dù đủ lượng insulin.

Trong số chúng, bệnh tiểu đường typ 2 chủ yếu được tạo ra do các yếu tố môi trường, như chế độ ăn nhiều calo, nhiều chất béo, và nhiều protein do việc Âu hoá thói quen ăn, uống, lười tập thể dục, hoặc stress. Thêm vào đó, cũng đã biết rõ rằng bệnh tiểu đường typ 2 có thể được tạo ra do khiếm khuyết gen và có thể do phẫu thuật tuyến tụy, bệnh truyền nhiễm, hoặc dùng thuốc.

Một triệu chứng của bệnh tiểu đường, khi mức đường huyết cao, người bệnh cảm thấy khát và tiêu thụ nhiều nước, thể tích nước tiểu tăng lên. Do đó, bệnh nhân thường xuyên phải đi vào nhà tắm, và trọng lượng của bệnh nhân bị giảm. Nếu mức đường huyết cao được duy trì trong thời gian từ 10-20 năm do bệnh tiểu đường, một

số biến chứng sẽ xuất hiện trong cơ thể của bệnh nhân. Điển hình là, nguy cơ mắc bệnh võng mạc, rối loạn chức năng thận, bệnh thần kinh, rối loạn chức năng tim, đột quỵ, rối loạn hệ thần kinh ngoại biên, hoặc bệnh tim mạch gia tăng một cách đáng kể.

Mặc dù có nguy cơ mắc phải các bệnh lý nghiêm trọng, chỉ có một cách duy nhất là dùng insulin để điều trị bệnh nhân tiểu đường, đặc biệt, bệnh nhân mắc bệnh tiểu đường typ 1 mà không cần điều trị cơ bản. Cho đến nay, chưa có phương pháp nào khác cách dùng insulin trong các phác đồ hiện đại. Do đó, đã nhanh chóng tiến hành nhiều nghiên cứu kỹ lưỡng về việc tái tạo hoặc cứu sống tế bào beta trong tuyến tụy của bệnh nhân mắc bệnh tiểu đường được xem là một vấn đề khó trong thế giới y học hiện đại.

Mặc dù nhiều loại thuốc dùng cho bệnh nhân tiểu đường đã được nghiên cứu và cung cấp, các bệnh nhân chỉ được làm giảm mức độ tiểu đường bằng cách dùng thuốc chứ không phải điều trị bệnh tiểu đường.

Cũng có rất nhiều phương pháp chữa bệnh cổ truyền.

Nói cách khác, họ cho rằng phần lớn thực phẩm chúng ta ăn đều tốt cho bệnh tiểu đường. Ví dụ, cây ngải rất tốt cho bệnh tiểu đường. Tuy nhiên, các bác sĩ lại cho rằng các bệnh nhân cần thận trọng khi ăn cây ngải do cây ngải chứa rất nhiều đường.

Cũng đã biết được rằng vỏ cây du chứa nhiều saponin và có tác dụng làm giảm đường huyết và mỡ máu, vì vậy, vỏ cây du là hữu ích để kiểm soát bệnh tiểu đường. Thêm vào đó, cũng đã biết rõ rằng củ cải đường là tốt cho người mắc bệnh tiểu đường. Củ cải đường còn được gọi là củ cải đỏ do màu đỏ đặc trưng của nó. Đặc biệt, do hành củ đã được biết là tốt cho người mắc bệnh tiểu đường, nhiều người uống nước ép hành củ hằng ngày. Thêm vào đó, các kết quả nghiên cứu đã thông báo rằng kiều mạch, khoai tây vàng, và hồng sâm là tốt cho người mắc bệnh tiểu đường. Thêm vào đó, nhiều nguyên liệu thực phẩm cũng đã được biết là phương thuốc cổ truyền tốt cho người mắc bệnh tiểu đường. Tuy nhiên, khi một lượng lớn thực phẩm được cho là tốt cho bệnh tiểu đường như vậy được ăn liên tục, không chỉ có thể xuất hiện các tác dụng phụ, mà việc ăn liên tục cũng rất khó. Cụ thể, do các kết quả khác nhau được tạo ra phụ thuộc vào thể trạng của bệnh nhân, rất khó để có thể tổng kết

rằng các thực phẩm nêu trên là hữu hiệu với bệnh tiểu đường. Nói chung, do bệnh nhân tiểu đường phải kiểm soát hàm lượng đường huyết trong khi thuốc dùng thuốc bệnh viện phát và thực hiện liệu pháp ăn uống. Do đó, có nhu cầu cấp bách về việc tìm ra chất trị liệu mới hữu hiệu không có tác dụng phụ.

Do đó, các tác giả sáng chế đã tìm ra nguyên liệu để cải thiện bệnh tiểu đường và đã bất ngờ phát hiện ra rằng bệnh tiểu đường typ 1 cũng như bệnh tiểu đường typ 2 có thể được cải thiện một cách đáng kể mà không cần dùng insulin. Nói cách khác, đã phát hiện ra rằng chế phẩm điều trị bệnh tiểu đường theo sáng chế là hữu hiệu trong việc tái sinh hoặc cứu sống hoặc phục hồi tế bào beta ở tuyến tụy của động vật mắc bệnh tiểu đường typ 1, mà gây ra bởi streptozotocin, và hữu hiệu trong việc cải thiện lượng tiết insulin đến mức bằng hoặc lớn hơn 60-70%, chỉ sau bốn tuần từ khi ăn chế phẩm này.

Tài liệu viện dẫn 1 đề xuất chế phẩm bao gồm chất hoạt hoá glucokinaza để điều trị bệnh tiểu đường. Tài liệu viện dẫn 1 đề xuất chế phẩm hoá học chứa chất hoạt hoá glucokinaza và một hoặc nhiều chất chống bệnh tiểu đường.

Tài liệu viện dẫn 2 đề xuất peptit để điều trị bệnh tiểu đường typ 2 và các biến chứng của bệnh tiểu đường typ 2, và đề xuất chất tương tự exenatit để điều trị và phòng ngừa các biến chứng của bệnh tiểu đường typ 2, như bệnh thần kinh do tiểu đường, chứng loạn dưỡng cơ, và sừng hoá màng trong.

Tài liệu viện dẫn 3 đề xuất chất ức chế SGLT2 để điều trị bệnh tiểu đường typ 1, bệnh tiểu đường typ 2, suy giảm mức độ dung nạp glucoza, hoặc đường huyết cao và bệnh loạn dưỡng cơ chứa chất ức chế SGLT2.

Tài liệu viện dẫn từ 1 đến 3 đều đề xuất chất trị liệu hoá học. Như đã mô tả trên đây, chất trị liệu hoá học gây ra các tác dụng phụ nguy hiểm và chỉ có ít ưu điểm. Do đó, độ hữu hiệu của chất trị liệu hoá học có thể bị suy giảm.

Danh sách các tài liệu viện dẫn

Các tài liệu sáng chế

Tài liệu viện dẫn 1: Công bố sáng chế chưa được xét nghiệm Hàn Quốc số 10-2015-0013838.

Tài liệu viện dẫn 2: Công bố sáng chế chưa được xét nghiệm Hàn Quốc số 10-

2017-0041914.

Tài liệu viện dẫn 3: Công bố sáng chế chưa được xét nghiệm Hàn Quốc số 10-2011-0118668.

Tài liệu viện dẫn 4: Bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-1200419.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm điều trị bệnh tiểu đường, có khả năng cải thiện một cách đáng kể bệnh tiểu đường typ 1 và bệnh tiểu đường typ 2 khi được sử dụng làm nguồn thay thế bữa ăn.

Theo sáng chế, bệnh tiểu đường có thể được cải thiện bằng hỗn hợp bột thực vật gồm bột hành, bột kiều mạch, và bột ngò cacao, và/hoặc bột dẻ.

Tốt hơn nữa, theo sáng chế, hỗn hợp bột thực vật được bào chế bằng cách trộn bột kiều mạch, bột hành, và bột ngò cacao với tỷ lệ khối lượng là 50:25:25.

Tốt hơn nữa, theo sáng chế, bột dẻ được trộn với hỗn hợp bột thực vật với tỷ lệ khối lượng là 1:1.

Hơn thế nữa, bệnh tiểu đường bao gồm bệnh tiểu đường typ 1 và bệnh tiểu đường typ 2.

Như đã mô tả trên đây, theo sáng chế, bệnh tiểu đường có thể được cải thiện một cách đáng kể bằng hỗn hợp bột thực vật chứa bột kiều mạch, bột hành, và bột ngò cacao, và/hoặc bột dẻ. Hơn thế nữa, có thể tạo ra tác dụng tái sinh tế bào beta ở tuyến tụy bị rối loạn tiết insulin.

Thêm vào đó, theo sáng chế, người sử dụng không những chỉ được cải thiện về đường huyết, mà còn được ăn protein chất lượng cao chứa axit amin qua bột dẻ. Thêm vào đó, người sử dụng có thể ăn các khoáng chất như magie và kẽm, là các chất có tác dụng chống tiểu đường, và axit béo không bão hòa omega-3 và polyphenol. Hơn thế nữa, do người sử dụng ăn hỗn hợp bột thực vật, người sử dụng có thể được cung cấp carbohydrat, và một số vitamin và các khoáng chất.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG. 1 là đồ thị về sự thay đổi trọng lượng của chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường typ 1 sau khi dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật cho chuột thử nghiệm với hàm lượng thấp (0,6), hàm lượng trung

binh (1,2), và hàm lượng cao (2,4) theo sáng chế.

FIG. 2 là đồ thị về sự thay đổi mức độ hấp thu thức ăn của chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường typ 1 sau khi dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật cho chuột thử nghiệm với hàm lượng thấp (0,6), hàm lượng trung bình (1,2), và hàm lượng cao (2,4) theo sáng chế.

FIG. 3 là đồ thị về sự thay đổi mức độ hấp thu nước của chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường typ 1 sau khi dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật cho chuột thử nghiệm với hàm lượng thấp (0,6), hàm lượng trung bình (1,2), và hàm lượng cao (2,4) theo sáng chế.

FIG. 4 là đồ thị thể hiện trị số số học thu được bằng cách đo C-peptit và insulin sử dụng kit ELISA của chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường typ 1 sau khi dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật cho chuột thử nghiệm với hàm lượng thấp (0,6), hàm lượng trung bình (1,2), và hàm lượng cao (2,4) theo sáng chế.

FIG. 5 là đồ thị thể hiện kết quả đo sự thay đổi trị số hemoglobin glycat hoá của chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường typ 1 sau khi dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật cho chuột thử nghiệm với hàm lượng thấp (0,6), hàm lượng trung bình (1,2), và hàm lượng cao (2,4) theo sáng chế.

FIG. 6 là đồ thị thể hiện kết quả đo sự thay đổi nồng độ đường huyết lúc đói của chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường typ 1 sau khi dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật cho chuột thử nghiệm với hàm lượng thấp (0,6), hàm lượng trung bình (1,2), và hàm lượng cao (2,4) theo sáng chế.

Các Fig. 7 và 8 là ảnh chụp thể hiện kết quả phân tích tế bào xác nhận sự ảnh hưởng đối với các nội quan của chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường typ 1 sau khi dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật cho chuột thử nghiệm với hàm lượng thấp (0,6; L), hàm lượng trung bình (1,2; M), và hàm lượng cao (2,4; H) theo sáng chế.

FIG. 9 là ảnh chụp thể hiện tế bào beta tuyến tụy được nhuộm Hematoxylin/Eosin để xác định chức năng của tế bào beta tuyến tụy của chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường typ 1 sau khi dùng D&D, hỗn hợp bột thực

vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật cho chuột thử nghiệm với hàm lượng thấp (0,6; L), hàm lượng trung bình (1,2; M), và hàm lượng cao (2,4; H) theo sáng chế.

FIG. 10 là ảnh chụp được sử dụng để đánh giá mức độ biểu hiện của insulin ở tế bào được nhuộm của FIG. 9 qua phản ứng nhuộm miễn dịch sử dụng kháng thể đặc hiệu insulin.

FIG. 11 là đồ thị thể hiện kết quả đo sự thay đổi vùng tiểu đảo ở tuyến tụy của chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường typ 1 sau khi dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật cho chuột thử nghiệm với hàm lượng thấp (0,6; L), hàm lượng trung bình (1,2; M), và hàm lượng cao (2,4; H) theo sáng chế.

FIG. 12 là đồ thị thể hiện kết quả đo sự thay đổi của Bcl-2 (chống gây chết tế bào theo chương trình), Bax (tiền gây chết tế bào theo chương trình), và caspaza-3 đã tách của nhóm đối chứng và nhóm được dùng D&D, STZ, và STZ + D&D tùy theo hàm lượng.

FIG. 13 là đồ thị thể hiện kết quả đo của cơ chế AKT/mTOR bằng thử nghiệm thấm Tây ở nhóm đối chứng và nhóm được dùng D&D, STZ, và STZ + D&D tùy theo hàm lượng.

FIG. 14 là đồ thị thể hiện kết quả đo sự thay đổi trong thử nghiệm mức độ dung nạp glucoza IP (IPGTT) của nhóm thử nghiệm bao gồm chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường typ 1 sau khi dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật cho chuột thử nghiệm với hàm lượng thấp (0,6; L), hàm lượng trung bình (1,2; M), và hàm lượng cao (2,4; H) theo sáng chế.

FIG. 15 là đồ thị thể hiện kết quả đo mức độ dung nạp insulin được cải thiện dựa trên sự thay đổi thử nghiệm dung nạp insulin (ITT) của nhóm thử nghiệm bao gồm chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường typ 1 sau khi dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật cho chuột thử nghiệm với hàm lượng thấp (0,6; L), hàm lượng trung bình (1,2; M), và hàm lượng cao (2,4; H) theo sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Dưới đây, các mục đích và dấu hiệu khác sẽ được giải thích rõ hơn bằng phần

mô tả các phương án thực hiện sau có dựa vào các hình vẽ sau.

Thêm vào đó, trừ khi có quy định khác, toàn bộ các thuật ngữ được sử dụng trong bản mô tả này, bao gồm các thuật ngữ khoa học hoặc kỹ thuật, đều có nghĩa giống nhau như đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực liên quan đến sáng chế này biết đến.

Các thuật ngữ này là như các thuật ngữ được định nghĩa trong các từ điển thường được sử dụng được hiểu có nghĩa tương đương với nghĩa theo ngữ cảnh ở lĩnh vực kỹ thuật liên quan, và không được hiểu là có nghĩa lý tưởng hoặc quá hình thức trừ khi được chỉ rõ có nghĩa như vậy trong sáng chế.

Phương án 1: Bào chế bột dế

Loài dế được sử dụng theo sáng chế là loài *Gryllus bimaculatus*. Các con dế, *Gryllus bimaculatus*, được cho sấy khô bằng không khí nóng hoặc làm đông khô nhanh và được nghiền (cỡ sàng 100-300) bằng máy nghiền (nghiền bi hoặc nghiền búa). Tốt hơn nếu việc làm đông khô nhanh được tiến hành do việc làm đông khô nhanh ngăn ngừa các chất dinh dưỡng, như vitamin, bị phá hủy. Bột dế được sử dụng trong thử nghiệm theo sáng chế được bào chế bởi 239 BIO Ltd., và trong phần dưới đây của bản mô tả này, được gọi là “D&D” (là thương hiệu của bột dế).

Phương án 2: Bào chế hỗn hợp bột thực vật

Hỗn hợp bột thực vật được bào chế bằng cách trộn bột kiều mạch, bột hành, và bột ngò cacao với tỷ lệ khối lượng là 50: 25: 25. Tốt hơn nếu hỗn hợp bột thực vật được cung cấp ở dạng bột để làm đông khô nhanh và nghiền do dạng bột này ngăn ngừa các chất dinh dưỡng, như vitamin, bị phá hủy.

Kiều mạch có hàm lượng protein cao hơn và giàu vitamin B1 và B2, axit nicotinic, và các khoáng chất, vì vậy, kiều mạch xem là thực phẩm lành mạnh. Đặc biệt, kiều mạch có hàm lượng rutin cao hơn là hữu hiệu trong việc ngăn chặn bệnh huyết áp, vì vậy kiều mạch đã được sử dụng làm liệu pháp ăn uống cho bệnh nhân mắc bệnh huyết áp cao.

Chất dinh dưỡng gồm 100 g kiều mạch chứa 71,50 g carbohydrat, 13,25 g

protein, 3,40 g tổng lượng chất béo, 10 g chất xơ thực phẩm, và không hề có một chút cholesterol nào. Trong số các chất dinh dưỡng có mặt trong kiều mạch, vitamin bao gồm 30 µg axit folic, 7,020 mg niacin, 1,233 mg axit pantothenic, 0,425 mg riboflavin, và 0,101 mg thiamine; chất điện giải bao gồm 1 mg natri và 460 mg kali; các khoáng chất bao gồm 18 mg canxi, 1,100 mg đồng, 2,20 mg sắt, 231 mg magie, 1,300 mg mangan, 374 mg photpho, 8,3 µg selen, 2,40 mg kẽm, và axit amin bao gồm 627 mg lysin, 172 mg methionin, và 192 mg tryptophan.

Thêm vào đó, kiều mạch còn chứa corin, là chất dinh dưỡng thuộc nhóm vitamin B, để ngăn ngừa chất béo bị tích tụ ở gan. Corin được dùng làm nguồn axetylcholin có tác dụng phân huỷ rượu trong cơ thể người. Do đó, kiều mạch là hữu ích trong việc trung hoà rượu và giải rượu. Hợp phần flavonoid thực vật của kiều mạch là hữu ích trong việc tái sinh tế bào. Kiều mạch là hữu hiệu trong việc chữa gan bị tổn thương do rượu hoặc stress. Thêm vào đó, cũng đã biết trong đông y rằng kiều mạch, được phân loại là có bản chất lạnh, là hữu hiệu trong việc giảm nhiệt của cơ thể người và giảm viêm và tạo ra tác dụng chống lão hoá do hoạt tính chống oxy hoá.

Do kiều mạch có lượng chất xơ thực phẩm dồi dào, kiều mạch có tác dụng phòng ngừa chứng táo bón. Thêm vào đó, do kiều mạch được kết hợp với toxin, là một chất độc, và sinh ung thư có mặt trong nội quan của cơ thể người, và được thải ra bên ngoài cơ thể, kiều mạch có tác dụng bảo vệ niêm mạc ruột kết.

Hơn thế nữa, kiều mạch có tác dụng làm giảm đường huyết và chức năng hoạt hoá của tuyến tụy. Sở dĩ như vậy là do kiều mạch có lượng chất xơ thực phẩm dồi dào và rutin, là chất có tác dụng làm chậm sự hấp thu glucoza và điều hoà sự thay đổi đường huyết. Thêm vào đó, do kiều mạch thải oxy hoạt động, kiều mạch có tác dụng ngăn ngừa sự tổn thương tế bào. Hơn thế nữa, do kiều mạch tạo ra tác dụng lợi tiểu cho phép người sử dụng dễ đi ngoài, và củng cố mao mạch máu. Do đó, kiều mạch là hữu hiệu trong việc phòng ngừa các bệnh ở người trưởng thành. Kiều mạch có lượng selen dồi dào để ngăn ngừa máu trong mạch máu bị vón cục, mà có tác dụng trong các bệnh tim mạch như nhồi máu cơ tim, chứng đau thắt ngực, và đột quỵ não.

Hành củ chứa thành phần là propyl disulfua. Disulfua là hữu hiệu trong việc làm giảm độ nhớt của máu và làm sạch máu bằng cách hoà tan chất béo không cần thiết và cholesterol trong cơ thể và do đó, hữu hiệu để điều trị lipit huyết cao. Thêm vào đó, propyl disulfua là hữu hiệu trong việc phòng ngừa máu bị vón cục và phân huỷ cục máu. Do đó, propyl disulfua có tác dụng phòng ngừa chứng xơ vữa động mạch và lipit huyết cao và làm giảm huyết áp. Thêm vào đó, propyl disulfua thúc đẩy sự chuyển hoá, và ngăn ngừa chất béo của cơ thể bị tích tụ để trước hết ngăn ngừa bệnh béo phì, nhờ đó, phòng ngừa bệnh tiểu đường do bệnh béo phì. Propyl disulfua có mặt với lượng lớn trong hành củ thô. Do đó, theo sáng chế, tốt hơn là hành củ được sử dụng là không được gia nhiệt.

Thêm vào đó, hành củ còn chứa lượng lớn crom. Crom là vi khoáng chất để duy trì tính nội cân bằng của sự chuyển hoá glucoza. Do crom thúc đẩy sự hoạt động của insulin, crom là hữu ích trong việc điều chỉnh đường huyết.

Ngò cacao thu được bằng cách ủ lên men hạt cacao thu được từ quả cacao, sấy khô và rang hạt cacao đã lên men, bóc hạt cacao, và nghiền nhỏ hạt cacao. Ngò cacao chứa một lượng lớn chất xơ giúp cho việc tiêu hoá và cải thiện lượng đường và cholesterol trong máu. Ngò cacao còn chứa bột magie và iron. Ngò cacao giàu các thành phần chống oxy hoá để chống lại sự đột biến tế bào do ứng suất oxy gây ra, để chống lại sự lão hoá, để ngăn ngừa chứng viêm, và làm tăng sự miễn dịch. Do đó, ngò cacao có thể làm giảm huyết áp. Thêm vào đó, do ngò cacao giàu axit stearic và axit oleic, ngò cacao cải thiện một cách hữu hiệu cholesterol huyết.

Thực tế, ngò cacao được quan tâm trên khắp thế giới do đã biết rằng tỷ lệ mắc bệnh tim của người Ấn Độ ăn ngò cacao được giảm xuống.

Trong khi đó, do kiêu mạch được phân loại là có bản chất lạnh theo đông y, nó không được khuyến dùng cho người có sự chuyển hoá kém ăn một lượng lớn kiêu mạch. Nói cách khác, cũng đã biết rằng tốt hơn là cần giảm việc dùng kiêu mạch cho người bị đau dạ dày và đường ruột kém khi ăn thực phẩm lạnh. Khi người sử dụng ăn một lượng lớn kiêu mạch hằng ngày, người sử dụng sẽ có vấn đề với việc tiêu hoá và vấn đề nghiêm trọng trong ruột.

Do đó, theo sáng chế, tỷ phần của kiêu mạch có thể được giảm xuống 30%

dựa trên thể trạng của bệnh nhân cần dùng.

Trong khi đó, mặc dù đường huyết có thể được kiểm soát bằng cách chỉ ăn hành củ, sẽ khó cho bệnh nhân có thể ăn hành củ liên tục. Nói cách khác, bệnh nhân phải ăn đều đặn một lượng lớn hành củ hằng ngày để kiểm soát đường huyết bằng cách ăn hành củ. Tuy nhiên, bệnh nhân có thể có thể bị đau dạ dày nghiêm trọng và có cảm giác nóng ở dạ dày do ăn hành củ. Thêm vào đó, bệnh nhân có thể không dễ dàng ăn hành củ do mùi và vị đặc trưng của hành củ. Do đó, theo sáng chế tốt hơn nếu cung cấp 25% hành củ để dùng. Hành củ có bản chất ẩm là đối lập với bản chất của kiêu mạch. Do đó, khi tỷ phần của kiêu mạch được giảm xuống 30% để dùng, tỷ phần của hành củ có thể tăng lên 45% để dùng. Trong trường hợp này, tốt hơn nếu tỷ lệ hỗn hợp giữa kiêu mạch và hành củ không vượt quá 90%. Tốt hơn nữa nếu tỷ lệ hỗn hợp giữa kiêu mạch và hành củ trong khoảng 75%.

Nếu tỷ lệ hỗn hợp giữa kiêu mạch và hành củ vượt quá 90%, do một trong số các bản chất lạnh của kiêu mạch và bản chất ẩm của hành củ vượt trội quá mức so với bản chất còn lại, hỗn hợp bột thực vật có thể không dùng được cho người có sự chuyển hoá chậm hoặc sự chuyển hoá nhanh. Thêm vào đó, nếu tỷ lệ hỗn hợp giữa kiêu mạch và hành củ nhỏ hơn 90%, tác dụng phòng ngừa hoặc điều trị bệnh tiểu đường có thể được tạo ra không đáng kể.

Thêm vào đó, mặc dù ngòi cacao có tác dụng làm giảm triglycerit trong máu và cải thiện dòng máu, do vị đắng đặc trưng của ngòi cacao mạnh, tốt hơn nếu tỷ phần của ngòi cacao không vượt quá tỷ phần tối đa là 25%.

Tốt hơn nếu, hỗn hợp bột thực vật được bào chế bằng cách trộn 30-50% bột kiêu mạch, 25-40% bột hành, và 10-25% bột ngòi cacao.

Trong khi đó, theo sáng chế, tốt hơn nếu hỗn hợp bột thực vật được bào chế bằng cách nghiền các thành phần nêu trên và tiếp theo, trộn các thành phần này.

Phương án 3

Phương án 3 sử dụng hỗn hợp bột thực vật thu được bằng cách trộn bột để thu được theo Phương án 1 và hỗn hợp bột thực vật được bào chế theo Phương án 2 với tỷ lệ khối lượng 1:1.

Đã quan sát thấy rằng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và hỗn hợp (trong phần dưới đây của bản mô tả này, được gọi là “D&D + hỗn hợp bột thực vật”) gồm D&D và hỗn hợp bột thực vật, được bào chế theo Phương án 1 đến Phương án 3 là hữu hiệu đối với bệnh tiểu đường typ 1. Thử nghiệm sau được tiến hành để xác nhận việc tái tạo tế bào beta tuyến tụy đã bị phá huỷ hoàn toàn.

Thử nghiệm sau được thừa nhận bởi Bản thừa nhận số cuh-IACUC-170316-6 vào ngày 08/11/2017 bởi Trung tâm đánh giá phi lâm sàng của Viện nghiên cứu y sinh tại Trường đại học tổng hợp quốc gia Chonbuk (Non-Clinical Evaluation Center of Biomedical Research Institute at Chonbuk National University), là Hiệp hội đánh giá và xác nhận quốc tế về chăm sóc động vật phòng thí nghiệm (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International-AAALAC International).

Trong ví dụ thử nghiệm sau, mỗi trong số các D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật được dùng cho chuột thử nghiệm với liều 1,2 g hai lần trong một ngày. Đường dùng là dùng qua đường miệng.

Thêm vào đó, mỗi trong số các D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật được dùng với hàm lượng thấp (L), hàm lượng trung bình (M), và hàm lượng cao (H). Về hàm lượng, khi 40 g/60 kg hoặc lớn hơn là tối đa dựa trên người, 6,5 g/kg được đặt là trị số gốc trong trường hợp của tỷ lệ thử nghiệm, trong đó 6,5 g/kg thu được bằng cách làm tròn trị số sau dấu thập phân của 6,45 g là kết quả chia của 40 g/60 kg cho 6,2. Trị số của hàm lượng trung bình được đặt là 3,25 g/kg là 1/2 của 6,25 g, và trị số của hàm lượng thấp được đặt là 1,63 g/kg là 1/2 của 3,25 g/kg.

Khi trị số trên đây được đổi sang hàm lượng để dùng qua đường miệng cho chuột thử nghiệm, hàm lượng thấp, hàm lượng trung bình, và hàm lượng cao được đặt lần lượt là 0,6 g, 1,2 g, và 2,4 g, nhờ đó, xác định lượng dùng trong một ngày.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ thử nghiệm 1: Tạo ra mô hình mắc bệnh tiểu đường

Về bột để được bào chế theo Phương án 1, sau khi bỏ đói các động vật thử nghiệm 9 tuần tuổi (chuột) trong 12 giờ, Streptozotocin (STZ, S0130, Sigma-

Aldrich, USA), là chất có tác dụng đặc hiệu với tế bào beta ở tuyến tụy và không ảnh hưởng đến các cơ quan khác, được hoà tan trong dung dịch đệm xitrat 0,1 M (pH=4,5), và kết quả được tạo ra có hàm lượng 65 mg/kg và được tiêm vào các động vật thử nghiệm bằng cách tiêm trong màng bụng (IP) sao cho gây ra bệnh tiểu đường cho các động vật thử nghiệm này.

Về việc xác định việc gây ra bệnh tiểu đường, sau bảy ngày (10 tuần tuổi) từ lúc tiêm STZ, lấy máu tĩnh mạch đuôi của chuột thử nghiệm và đo bằng máy đo đường huyết. Trong trường hợp này, chuột thử nghiệm có đường huyết là 300 mg/dl được coi là mắc bệnh tiểu đường. Toàn bộ các nhóm thử nghiệm được phân loại thành nhóm bình thường, nhóm đối chứng tiểu đường, và nhóm thử nghiệm tiểu đường và nuôi sao cho các nhóm thử nghiệm có trọng lượng trung bình xấp xỉ nhau. Nhóm thử nghiệm được nuôi trong bốn tuần (hoặc từ 11 tuần đến 14 tuần) trong khi được dùng các mẫu thử nghiệm của D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật sau khi xác định đã mắc bệnh tiểu đường. Đồng thời, sự thay đổi về đường huyết của nhóm thử nghiệm được đánh giá bằng cách đo trọng lượng, sự tiêu thụ thức ăn, lượng nước, đường huyết, tế bào beta hemoglobin glycat hoá, và việc tiết insulin cách nhau một tuần.

Ví dụ thử nghiệm 2: Đo hiệu quả ăn kiêng

Việc tăng trọng lượng và mức độ hấp thu thức ăn được đo cách nhau một tuần từ ngày bắt đầu thử nghiệm trong khi cung cấp đủ lượng cỏ khô và nước cho các nhóm thử nghiệm. Mức độ hấp thu thức ăn được tính bằng cách trừ lượng cỏ khô còn lại từ lượng cỏ khô cung cấp ban đầu. Tỷ lệ hiệu quả thức ăn (food efficiency ratio-FER) được tính bằng cách chia mức tăng trọng lượng trong thời gian thử nghiệm cho mức độ hấp thu thức ăn trong thời gian đó.

Về sự thay đổi trọng lượng, sau thời gian thử nghiệm 7 ngày (hoặc 10 tuần) như được thể hiện trên FIG. 1, mặc dù trọng lượng của tỷ lệ thử nghiệm ở nhóm bình thường tiếp tục tăng, trọng lượng của tỷ lệ thử nghiệm ở nhóm đối chứng mắc tiểu đường bị giảm. Trên FIG. 1, thuật ngữ “chất dẫn” là nhóm được dùng cỏ khô bình thường.

FIG. 1 không thể hiện kết quả có ý nghĩa ngoại trừ trọng lượng tăng nhiều hoặc ít về tỷ lệ thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường và ở các nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật. Kết quả này được cho rằng được thể hiện vì lý do sau. Do việc sử dụng glucoza của tế bào bị giảm đi ở tình trạng tiểu đường và do đó, dấu hiệu chuyển hoá được thể hiện như ở trạng thái đói, vì vậy sự hao hụt trọng lượng được thể hiện ở thử nghiệm theo sáng chế. Tuy nhiên, trong trường hợp của nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao, axit amin có hàm lượng cao hơn được dùng và đưa vào cơ xương để làm tăng việc tổng hợp protein synthesis vì vậy, thể trọng tăng lên.

Trong khi đó, mức độ hấp thu thức ăn trong một ngày vào các ngày trong tuần được thể hiện trên FIG. 2 và mức độ hấp thu nước trong một ngày vào các ngày trong tuần được thể hiện trên FIG. 3 tăng lên ở nhóm đối chứng mắc tiểu đường khi so sánh với nhóm bình thường và giảm đi một cách đáng kể ở nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao.

Ví dụ thử nghiệm 3: Kỹ thuật phân tích hoá sinh trong máu

1) C-peptit

① Tổng quan phân tích

C-peptit là chất được tạo ra trong quá trình phân huỷ proinsulin, là chất phản ánh việc tiết insulin.

② Cách thức thử nghiệm

Sau khi huyết tương được tách ra khỏi mẫu máu để đo, huyết tương được phân tích bằng cách sử dụng bộ kit ELISA C-peptit. Việc đo để phân tích được tiến hành theo hướng dẫn của kit.

2) HbA1c

① Tổng quan phân tích

Hemoglobin glycat hoá là chất đánh dấu sinh học để đo sự thay đổi đường huyết trong thời gian dài.

② Cách thức thử nghiệm

Để đo, hemoglobin glycat hoá được phân tích qua các mẫu máu gom được trong phòng thí nghiệm lâm sàng của bệnh viện. Việc đo để phân tích được tiến hành theo hướng dẫn của kit.

3) Insulin

① Cách thức thử nghiệm

Sau khi huyết tương được tách ra khỏi mẫu máu để đo, huyết tương được phân tích bằng cách sử dụng bộ kit ELISA Insulin.

Đầu tiên, kết quả đo của chuột thử nghiệm sử dụng kit ELISA C-peptit và insulin được thể hiện trên FIG. 4.

C-peptit được tạo ra với cùng tỷ phần như tỷ phần của insulin trong quá trình phân huỷ proinsulin. Tuy nhiên, C-peptit tồn tại mà không cần được sử dụng trong gan hoặc mô ngoại biên khác, là khác với insulin. Thêm vào đó, C-peptit có thời gian bán huỷ dài hơn thời gian bán huỷ của insulin và do đó, có thể đo được dễ dàng. Trị số đo được của C-peptit thể hiện mức độ tiết của insulin.

Máu động mạch và máu tĩnh mạch thể hiện hàm lượng insulin trong huyết tương lúc đói khác nhau tương hỗ, và hàm lượng insulin trong huyết tương lúc đói ở khoảng bình thường từ 13-39 mU/l trong trường hợp máu tĩnh mạch.

Như được minh họa trên FIG. 4, đã khẳng định được rằng hàm lượng C-peptit trong máu tăng một cách đáng kể ở nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao. Nói chung, khi STZ được dùng, tế bào beta ở tuyến tụy bị phá huỷ, việc sản xuất insulin không đủ gây ra rối loạn chuyển hoá, và hàm lượng đường huyết tăng lên. Do đó, D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao (2,4; H), được sử dụng trong ví dụ thử nghiệm theo sáng chế, có thể phục hồi chức năng của tế bào beta ở tuyến tụy để thúc đẩy việc tiết insulin.

Tiếp theo, về hemoglobin glycat hoá, HbA1c, là một phần của hemoglobin trong tế bào máu màu đỏ, gắn kết từ từ với glucoza phi enzym để bị đường hoá trong quá trình sống sót của tế bào máu màu đỏ. Do đó, mức độ đường hoá của HbA1c

được sử dụng để ước tính hàm lượng đường huyết trong quá trình sống sót của tế bào máu màu đỏ.

Do đó, hemoglobin glycat hoá đã được sử dụng một cách rộng rãi làm chỉ số cơ bản nhất thể hiện việc kiểm soát glucoza. Hàm lượng đường huyết trung bình trong ba tháng cuối cùng được phân tích dựa trên các trị số hemoglobin glycat hoá.

Bảng 1

	HbA1c
Nhóm đối chứng	4,0
D&D	3,99
Hỗn hợp bột thực vật	3,93
D&D + hỗn hợp bột thực vật	3,83
Nhóm tiểu đường - nhóm đối chứng	11,11
Nhóm tiểu đường -0,6D&D	11,66
Nhóm tiểu đường -1,2D&D	11,31
Nhóm tiểu đường -2,4D&D	10,47
Nhóm tiểu đường -0,6Hỗn hợp	10,81
Nhóm tiểu đường -1,2Hỗn hợp	9,54
Nhóm tiểu đường -2,4Hỗn hợp	10,08
Nhóm tiểu đường -0,6+Hỗn hợp	9,87
Nhóm tiểu đường -1,2+Hỗn hợp	9,88
Nhóm tiểu đường -2,4+Hỗn hợp	9,65

Như được thể hiện trong Bảng 1 và FIG. 5, đã khẳng định được rằng có xu hướng hemoglobin glycat hoá giảm xuống ở nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao (2,4; H) khi phân tích hemoglobin glycat hoá. Đặc biệt, có một kết quả thú vị là trị số hemoglobin glycat hoá giảm còn khoảng 1-2 mà không cần dùng thuốc hoặc insulin trong bốn tuần là

thời gian rất ngắn. Trị số hemoglobin glycat hoá thấp nhất thu được trong trường hợp của 1,2 g hỗn hợp bột thực vật, thu được do sai số của một vài dữ liệu khi kiểm tra dữ liệu số.

Ví dụ thực nghiệm 4: Đo đường huyết

Đường huyết được đo sử dụng máy đo đường huyết bằng cách lấy máu tĩnh mạch đuôi vào cùng thời điểm mỗi tuần sau khi bỏ đói chuột thử nghiệm trong 12 giờ trong khi chuột thử nghiệm được cho uống nước theo nhu cầu.

Glucosa huyết tương lúc đói được đo từ máu tĩnh mạch sau khi bỏ đói chuột thử nghiệm trong ít nhất 8 giờ và hàm lượng của glucosa huyết tương lúc đói được thể hiện theo mmol/L hoặc mg/dl.

Hàm lượng của glucosa huyết tương lúc đói bình thường được tăng lên 6,1 mmol/L (110 mg/dl) hoặc nhỏ hơn, và hàm lượng đường huyết hai giờ sau khi ăn được giới hạn đến 7,8 mmol/L (140 mg/dl).

Bảng 2

	9 tuần	10 tuần	11 tuần	12 tuần	13 tuần	14 tuần
Nhóm đối chứng	107,38	118,75	110,25	115,50	103,00	91,88
D&D	105,63	117,13	110,00	108,63	101,50	97,75
Nhóm tiểu đường – Nhóm đối chứng	102,90	584,20	588,40	592,00	547,10	545,00
Nhóm tiểu đường - 0,6D&D	105,43	590,14	577,86	531,86	510,86	478,00
Nhóm tiểu đường - 1,2D&D	103,88	591,88	567,00	519,63	491,88	452,14
Nhóm tiểu đường - 2,4D&D	103,20	585,00	537,80	475,80	454,80	411,10

Bảng 3

	9 tuần	10 tuần	11 tuần	12 tuần	13 tuần	14 tuần
Nhóm đối chứng	107,38	118,75	110,25	115,50	103,00	91,88
Hỗn hợp bột thực vật	112,86	115,71	113,57	109,86	97,57	96,43
Nhóm tiểu đường – Nhóm đối chứng	102,90	584,20	588,40	592,00	547,10	545,00
Nhóm tiểu đường -0,6Hỗn hợp	101,13	552,13	548,50	482,50	442,43	419,29
Nhóm tiểu đường -1,2Hỗn hợp	102,25	540,88	520,63	478,38	447,25	419,63
Nhóm tiểu đường -2,4Hỗn hợp	98,50	538,50	492,10	397,60	370,80	367,20

Bảng 4

	9 tuần	10 tuần	11 tuần	12 tuần	13 tuần	14 tuần
Nhóm đối chứng	107,38	118,75	110,25	115,50	103,00	91,88
Thêm hỗn hợp bột thực vật	106,00	115,00	112,14	111,71	103,14	94,86
Nhóm tiểu đường – Nhóm đối chứng	102,90	584,20	588,40	592,00	547,10	545,00
Nhóm tiểu đường -0,6+Hỗn hợp	100,43	544,43	531,43	476,86	425,00	401,71
Nhóm tiểu đường -1,2+Hỗn hợp	104,63	535,25	540,00	456,25	426,50	398,13
Nhóm tiểu đường -2,4+Hỗn hợp	104,56	516,00	495,22	412,22	371,00	350,11

Sự thay đổi glucoza huyết tương lúc đói, như được thể hiện trên FIG. 6 (xem Bảng 2 đến Bảng 4), tăng lên một cách đáng kể ở nhóm đối chứng mắc tiểu đường khi so sánh với nhóm bình thường và giảm một cách đáng kể ở nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao. Kết quả này cho thấy rằng đường huyết của mô hình tiểu đường có đường huyết cao được cải thiện khi D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao được dùng cho mô hình tiểu đường.

Ví dụ thử nghiệm 5: Ảnh hưởng đến các cơ quan

Thử nghiệm độ độc được tiến hành bằng cách sử dụng khả năng gây tổn thương gan hoặc thận của chuột thử nghiệm khi tiếp tục dùng D&D và/hoặc hỗn hợp bột thực vật cho chuột thử nghiệm. Các Fig. 7 và 8 thể hiện kết quả thu được bằng cách đánh giá sự ảnh hưởng được tạo ra với gan hoặc thận trong quá trình chiến

thắng bệnh tiểu đường theo sáng chế. Như được thể hiện trên ảnh của các FIG. 7 và 8, đã quan sát thấy rằng sáng chế không gây ra sự thay đổi có ý nghĩa ở gan hoặc thận. Do đó, sáng chế không được cho là tạo ra tác dụng bất lợi cho gan hoặc thận.

Ví dụ thử nghiệm 6: Đo chức năng tế bào beta ở tuyến tụy

1) Nhuộm mô tuyến tụy

Tuyến tụy của chuột bạch được lấy, cố định vào 3,7 formalin, và tiếp theo, khử nước bằng cách sử dụng thiết bị xử lý mô tự động. Khối parafin được chuẩn bị bằng cách sử dụng máy nhúng parafin. Khối parafin được cắt bằng thiết bị vi phẫu để tạo ra lát 4 μm . Các lát được chuẩn bị được khử parafin hoá và khử nước bằng cách sử dụng xylen và rượu và được nhuộm bằng hematoxylin & eosin (H&E). Tiếp theo, các lát đã được chuẩn bị được hydrat hoá và tiếp theo, quan sát bằng cách sử dụng kính hiển vi quang học.

Về việc đo insulin có mặt trong tế bào beta của mô tuyến tụy, insulin được dùng làm chỉ số đo chức năng của tế bào beta được phân tích bằng phương pháp hoá mô miễn dịch để thể hiện sự so sánh tương đối giữa các nhóm thử nghiệm. Theo kết quả việc nhuộm hoá mô miễn dịch của insulin của cơ quan, sự biểu hiện của insulin ở tế bào beta tiểu đảo tuyến tụy của mô hình bệnh tiểu đường typ 1 giảm xuống. Trái lại, nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao (2,4) biểu hiện insulin ở tế bào beta tiểu đảo tuyến tụy được tăng một cách đáng kể ít nhất 60% trong bốn tuần. Điều này khẳng định chắc chắn rằng việc tiết insulin được thúc đẩy do chức năng của tế bào beta được phục hồi.

Insulin là hormon quan trọng nhất trong việc kiểm soát đường huyết của cơ thể người và được tạo ra bởi tế bào beta ở tuyến tụy. Cũng đã biết rõ rằng, khi STZ được dùng cho chuột thử nghiệm, tế bào beta tuyến tụy của chuột thử nghiệm bị phá huỷ, nhờ đó, làm cho tế bào beta tuyến tụy trở nên bất thường.

Theo thử nghiệm của sáng chế, khi gây ra việc tăng hàm lượng insulin trong máu của nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao, đã tiến hành kiểm tra tác dụng tiết insulin của tế bào beta tuyến tụy trong từng nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn

hợp bột thực vật.

Nói cách khác, D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật được dùng cho mô hình bệnh tiểu đường typ 1, được mắc bệnh tiểu đường bởi STZ, trong bốn tuần và tiếp theo, thu hoạch lát tuyến tụy và nhuộm hematoxylin/eosin để xác định tế bào beta (xem FIG. 9). Để xác định tế bào beta sản xuất insulin ở tuyến tụy, mức độ biểu hiện của insulin được đánh giá bằng kỹ thuật nhuộm miễn dịch mô sử dụng kháng thể đặc hiệu insulin (xem FIG. 10).

Tế bào beta sản xuất insulin trong tuyến tụy bị tổn thương một cách đáng kể ở nhóm đối chứng mắc tiểu đường. Khi D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao được dùng, vùng tiểu đảo ở tuyến tụy tăng một cách đáng kể chỉ trong bốn tuần và số tế bào beta tăng một cách đáng kể (xem FIG. 11).

Cụ thể, do tế bào beta dương tính tăng ở nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao, xác nhận được tác dụng phụ thuộc hàm lượng. Theo ví dụ thử nghiệm này, đã xác định được rằng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có liên quan mật thiết với việc tái sinh hoặc phục hồi tế bào beta, là kết quả quan trọng để phát hiện ra cơ chế hoạt động của tác dụng làm giảm đường huyết.

Dưới đây, sẽ mô tả cơ chế mà D&D cho phép tế bào beta sống sót và điều hoà việc phục hồi chức năng liên quan đến mô hình tiểu đường do STZ. Để chứng minh tác dụng của D&D với protein typ (BCL2) lympho tế bào B 2 ở tuyến tụy, sự biểu hiện của protein typ (BCL2) lympho tế bào B 2 and BCL-2 protein được đo bằng thử nghiệm thấm Tây.

Như được minh họa trên FIG. 12, nhóm được dùng D & D bị giảm sự biểu hiện Bax và caspaza-3 tách, nhưng tăng sự biểu hiện Bcl-2. Kết quả này cho thấy rằng việc làm chết tế bào beta theo chương trình được tiêu diệt bằng bột đề.

Trong khi đó, tác dụng của bột đề với sự biểu hiện AKT và mTOR ở tuyến tụy của chuột thử nghiệm mắc bệnh tiểu đường typ 1 được tạo ra như sau.

Theo các nghiên cứu trên đây, đã có thông báo rằng chuột thử nghiệm được dùng rapamycin, là chất có tác dụng ức chế đích động vật có vú của hoạt tính phức

rapamycin 1 (mTORC1), làm giảm khối tế bào beta và mức độ dung nạp glucoza. Do đó, ở ví dụ thử nghiệm theo sáng chế, sự ảnh hưởng bằng cách hoạt hoá mTOR được cho là do D&D là chất giàu axit amin. Cơ chế AKT/mTOR được chứng minh bằng thử nghiệm thấm Tây.

Theo kết quả thử nghiệm, đã nhận thấy rằng bột để làm tăng việc phosphoryl hoá và sự biểu hiện insulin của AKT như được thể hiện trên FIG. 13. Thêm vào đó, bột để làm tăng việc phosphoryl hoá của mTOR, p70S6K và 4EBP1 ở chuột mắc bệnh tiểu đường được gây ra bởi STZ.

Ví dụ thử nghiệm 7: Đo IPGTT và ITT

Để xác định tác dụng dung nạp glucoza khi dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật cho chuột thử nghiệm mắc bệnh tiểu đường, mức độ dung nạp glucoza và tính kháng insulin của chuột thử nghiệm được đo sau bốn tuần thử nghiệm.

Trong thử nghiệm dung nạp Glucoza trong màng bụng (IP Glucose Tolerance Test-IPGTT), chuột thử nghiệm được cho nhịn đói 12 giờ trong hai ngày trước khi kết thúc thử nghiệm và cho tiêm IP (trong màng bụng) 1g/kg dung dịch glucoza. Tiếp theo, máu được lấy từ tĩnh mạch đuôi chuột sau 15, 30, 45, 60, 90, và 120 phút từ khi tiêm IP và đo đường huyết. Trong thử nghiệm dung nạp insulin (Insulin Tolerance Test-ITT), chuột thử nghiệm được cho nhịn đói 5 giờ trong tuần cuối cùng trước khi kết thúc thử nghiệm và cho tiêm IP (trong màng bụng) 0,75U/kg dung dịch insulin (sigma-Aldrich, USA). Tiếp theo, máu được lấy từ tĩnh mạch đuôi chuột sau 0, 15, 30, 45, 60, 90, và 120 phút từ khi tiêm IP và đo đường huyết.

Bảng 5

	0 phút	15 phút	30 phút	45 phút	60 phút	90 phút	120 phút
Nhóm đối chứng	94,125	193,125	159,125	143,375	130,125	113,250	102,750
D&D	96,625	207,125	175,500	147,125	129,000	113,125	110,625
Nhóm tiểu đường - nhóm đối chứng	544,000	601,000	590,400	585,200	577,900	573,700	573,400
Nhóm tiểu đường -0,6 D&D	472,000	558,143	544,286	536,571	528,143	519,000	503,000
Nhóm tiểu đường -1,2 D&D	444,000	546,571	537,143	529,714	518,286	507,286	493,571
Nhóm tiểu đường -2,4 D&D	405,100	542,300	534,200	525,200	512,000	495,000	478,200

Bảng 6

	0 phút	15 phút	30 phút	45 phút	60 phút	90 phút	120 phút
Nhóm đối chứng	94,125	193,125	159,125	143,375	130,125	113,250	102,750
Hỗn hợp bột thực vật	96,571	205,571	180,857	155,429	138,286	117,429	107,714
Nhóm tiêu đường - nhóm đối chứng	544,000	601,000	590,400	585,200	577,900	573,700	573,400
Nhóm tiêu đường -0,6 Hỗn hợp	441,714	538,000	525,571	512,286	495,286	479,286	476,571
Nhóm tiêu đường -1,2 Hỗn hợp	412,875	524,375	508,625	501,500	493,000	483,750	468,000
Nhóm tiêu đường -2,4 Hỗn hợp	368,600	507,600	498,100	485,100	470,000	452,900	419,300

Bảng 7

	0 phút	15 phút	30 phút	45 phút	60 phút	90 phút	120 phút
Nhóm đối chứng	94,125	193,125	159,125	143,375	130,125	113,250	102,750
Thêm hỗn hợp bột thực vật	94,571	174,286	153,429	141,857	132,143	108,286	106,857
Nhóm tiểu đường - nhóm đối chứng	544,000	601,000	590,400	585,200	577,900	573,700	573,400
Nhóm tiểu đường - 0,6+Hỗn hợp	398,857	493,429	490,143	481,714	473,714	459,571	449,571
Nhóm tiểu đường - 1,2+Hỗn hợp	398,125	491,500	487,750	471,875	466,125	451,000	440,500
Nhóm tiểu đường - 2,4+Hỗn hợp	347,778	487,000	477,444	464,000	448,333	412,000	395,111

Như được minh họa trên FIG. 14, chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường thể hiện mức độ dung nạp glucoza bị suy giảm, trong khi nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao thể hiện được cải thiện mức độ dung nạp glucoza (xem Bảng 5 đến Bảng 7).

Bảng 8

	0 phút	15 phút	30 phút	45 phút	60 phút	90 phút	120 phút
Nhóm đối chứng	111,375	105,250	100,500	95,125	88,250	91,375	90,375
D&D	116,500	110,625	96,125	95,125	92,000	93,125	94,125
Nhóm tiểu đường - nhóm đối chứng	558,500	556,100	544,700	540,900	539,700	537,000	530,700
Nhóm tiểu đường - 0,6D&D	557,429	550,286	533,429	526,143	516,286	506,714	498,429
Nhóm tiểu đường - 1,2D&D	502,857	497,714	485,143	478,714	464,286	453,286	459,333
Nhóm tiểu đường - 2,4D&D	421,900	417,100	412,200	398,000	394,500	382,700	371,900

Bảng 9

	0 phút	15 phút	30 phút	45 phút	60 phút	90 phút	120 phút
Nhóm đối chứng	111,375	105,250	100,500	95,125	88,250	91,375	90,375
Hỗn hợp bột thực vật	119,571	110,000	96,429	94,571	93,000	93,143	93,429
Nhóm tiểu đường - nhóm đối chứng	558,500	556,100	544,700	540,900	539,700	537,000	530,700
Nhóm tiểu đường - 0,6Hỗn hợp	508,286	505,857	492,429	480,286	469,429	452,714	445,857
Nhóm tiểu đường - 1,2Hỗn hợp	490,000	480,125	470,875	454,750	436,750	421,000	415,500
Nhóm tiểu đường - 2,4Hỗn hợp	412,000	394,000	380,500	371,800	366,100	354,100	350,000

Bảng 10

	0 phút	15 phút	30 phút	45 phút	60 phút	90 phút	120 phút
Nhóm đối chứng	111,375	105,250	100,500	95,125	88,250	91,375	90,375
D&D+ hỗn hợp bột thực vật	118,000	110,714	96,429	93,286	91,143	91,429	91,143
Nhóm tiểu đường - nhóm đối chứng	558,500	556,100	544,700	540,900	539,700	537,000	530,700
Nhóm tiểu đường - 0,6+Hỗn hợp	499,857	495,000	486,571	480,714	461,857	446,000	434,286
Nhóm tiểu đường - 1,2+Hỗn hợp	486,375	475,500	469,375	457,375	425,500	417,375	405,500
Nhóm tiểu đường - 2,4+Hỗn hợp	405,778	385,889	377,444	366,889	348,222	337,111	323,111

Thêm vào đó, như được thể hiện trên FIG. 15, chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường thể hiện tính kháng insulin khi được dùng insulin, trong khi nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao thể hiện được cải thiện tính kháng insulin (xem Bảng 8 đến Bảng 10).

Kết quả xác định của các ví dụ thử nghiệm từ 1 đến 7 sử dụng các phương án 1 đến 3 như sau.

Về sự thay đổi trọng lượng, chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường thể hiện việc giảm trọng lượng khi so sánh với nhóm bình thường, và nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao thể hiện việc tăng trọng lượng khi so sánh với chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường.

Trong khi đó, mức độ hấp thu thức ăn trong một ngày vào các ngày trong tuần tăng lên ở chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường khi so sánh với nhóm bình thường và bị giảm ở nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao. Mức độ hấp thu nước không thể hiện sự đáng kể ở nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao.

Hàm lượng đường huyết lúc đói tăng một cách đáng kể ở chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường khi so sánh với nhóm bình thường, nhưng nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao bị giảm đi một cách đáng kể.

Chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường thể hiện mức độ dung nạp glucoza bị suy giảm, trong khi nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao thể hiện mức độ dung nạp glucoza được cải thiện.

Thêm vào đó, chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường thể hiện tính kháng insulin, trong khi nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao thể hiện tính kháng insulin được cải thiện.

Hàm lượng C-peptit trong máu bị giảm ở chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường, nhưng tăng một cách đáng kể ở nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao.

Tế bào beta ở tuyến tụy bị tổn thương một cách đáng kể ở chuột thử nghiệm được làm mắc bệnh tiểu đường, nhưng vùng tiểu đảo của mô bệnh học tuyến tụy tăng lên ở nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực

vật có hàm lượng cao. Thêm vào đó, theo kết quả phân tích của insulin có mặt trong tế bào beta của tuyến tụy bằng hoá học mô miễn dịch, sự biểu hiện insulin của tiểu đảo bị giảm ở chuột được làm mắc bệnh tiểu đường, nhưng tăng một cách rõ ràng ở nhóm được dùng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao.

Theo phương án và ví dụ thử nghiệm, đã xác định được rằng D&D, hỗn hợp bột thực vật, và D&D + hỗn hợp bột thực vật có hàm lượng cao có liên quan mật thiết với việc tái sinh hoặc phục hồi tế bào beta của tuyến tụy, là kết quả quan trọng để phát hiện ra cơ chế hoạt động của tác dụng làm giảm đường huyết.

Trong khi đó, B-tế bào lympho 2 (Bcl-2) đã biết là protein chống gây chết tế bào theo chương trình để thúc đẩy tế bào sống sót, và protein X liên hợp Bcl-2 (Bax) đã biết là protein ủng hộ việc gây chết tế bào theo chương trình có liên quan đến việc chết của tế bào do hư tổn ADN, và tổn thương tái truyền dịch do thiếu máu cục bộ. Mặc dù protein Bax có mặt trong tế bào chất, nếu ứng suất nội bào, như hư tổn ADN, được tạo ra, protein Bax di chuyển đến màng ngoài ty thể và giải phóng cytochrom-C. Do đó, gây ra việc hoạt hoá của caspaza (caspaza-3 đã tách), vì vậy, làm chết tế bào. Bcl-2, là protein thúc đẩy tế bào sống sót, đã được biết là để ức chế sự hoạt động của protein Bax.

Theo kết quả của thử nghiệm sinh học phân tử theo sáng chế, khi D&D được dùng riêng rẽ cho chuột được làm mắc bệnh tiểu đường, sự biểu hiện phụ thuộc hàm lượng tăng lên ở tế bào B lympho 2 (Bcl-2), giảm sự biểu hiện của protein X liên hợp Bcl-2 (Bax), và giảm sự biểu hiện của protein caspaza-3 đã tách là các kết quả thể hiện tác dụng ức chế việc chết tế bào theo chương trình của tế bào beta ở tuyến tụy nhờ D&D. Khi bệnh tiểu đường được gây ra, D&D bảo vệ việc sống sót của tế bào beta ở tuyến tụy.

Thêm vào đó, đích động vật có vú của rapamycin (mTOR) đã biết là serin/threonin kinaza là các enzym điều hoà sự tăng trưởng, sự già đi của tế bào, và sự chuyển hoá tế bào. Cụ thể, 4EBP1 và p70S6K điều hoà quá trình tổng hợp protein và cơ chất đại diện của nó đã biết là AKT. Theo kết quả của nghiên cứu theo sáng chế, khi D&D được dùng riêng rẽ cho chuột được làm mắc bệnh tiểu đường, sự biểu

hiện của p-AKT và sự biểu hiện của insulin tăng phụ thuộc vào hàm lượng của D&D, và sự biểu hiện của p-mTOR, p-p70S6K, và p4EBP1 đều tăng. Do đó, kết quả này cho thấy rằng việc dùng D&D riêng rẽ có khả năng ức chế ứng suất oxy hoá và cải thiện tế bào của tiểu đảo tuyến tụy bị tổn thương do bệnh tiểu đường nhờ cơ chế truyền tín hiệu của AKT/mTOR, nhờ đó, cải thiện bệnh tiểu đường.

Như đã mô tả trên đây, mặc dù sáng chế được mô tả có dựa vào những vấn đề cụ thể như các yếu tố chi tiết, các phương án giới hạn, và hình vẽ kèm theo, người có kiến thức trung bình trong lĩnh vực có thể dễ dàng hiểu được chúng được đưa ra chỉ nhằm minh hoạ mục đích của sáng chế, nhưng sáng chế không bị giới hạn ở đó. Thêm vào đó, người có kiến thức trung bình trong lĩnh vực sẽ nhận thấy có thể thực hiện một số thay thế và biến đổi mà không vượt ra ngoài phạm vi và tinh thần của sáng chế.

Do đó, phạm vi kỹ thuật của bản mô tả không bị giới hạn ở phần mô tả chi tiết của bản mô tả, mà được xác định bởi các điểm yêu cầu bảo hộ trong phần dưới đây của bản mô tả này, các dạng tương đương, và các cải biến của các dạng tương đương này.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm điều trị bệnh tiểu đường typ 1, trong đó chế phẩm này chứa hỗn hợp bột thực vật được điều chế bằng cách trộn bột kiều mạch, bột hành, và bột ngò cacao, và/hoặc bột đê (*Gryllus bimaculatus*).
2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó tốt hơn nếu hỗn hợp bột thực vật được điều chế bằng cách trộn bột kiều mạch với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 30-50%, bột hành với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 25-40%, và bột ngò cacao với tỷ lệ nằm trong khoảng từ 10-25%.
3. Chế phẩm theo điểm 2, trong đó hỗn hợp bột thực vật và bột đê *Gryllus bimaculatus* được trộn với tỷ lệ 1:1.

Fig 1

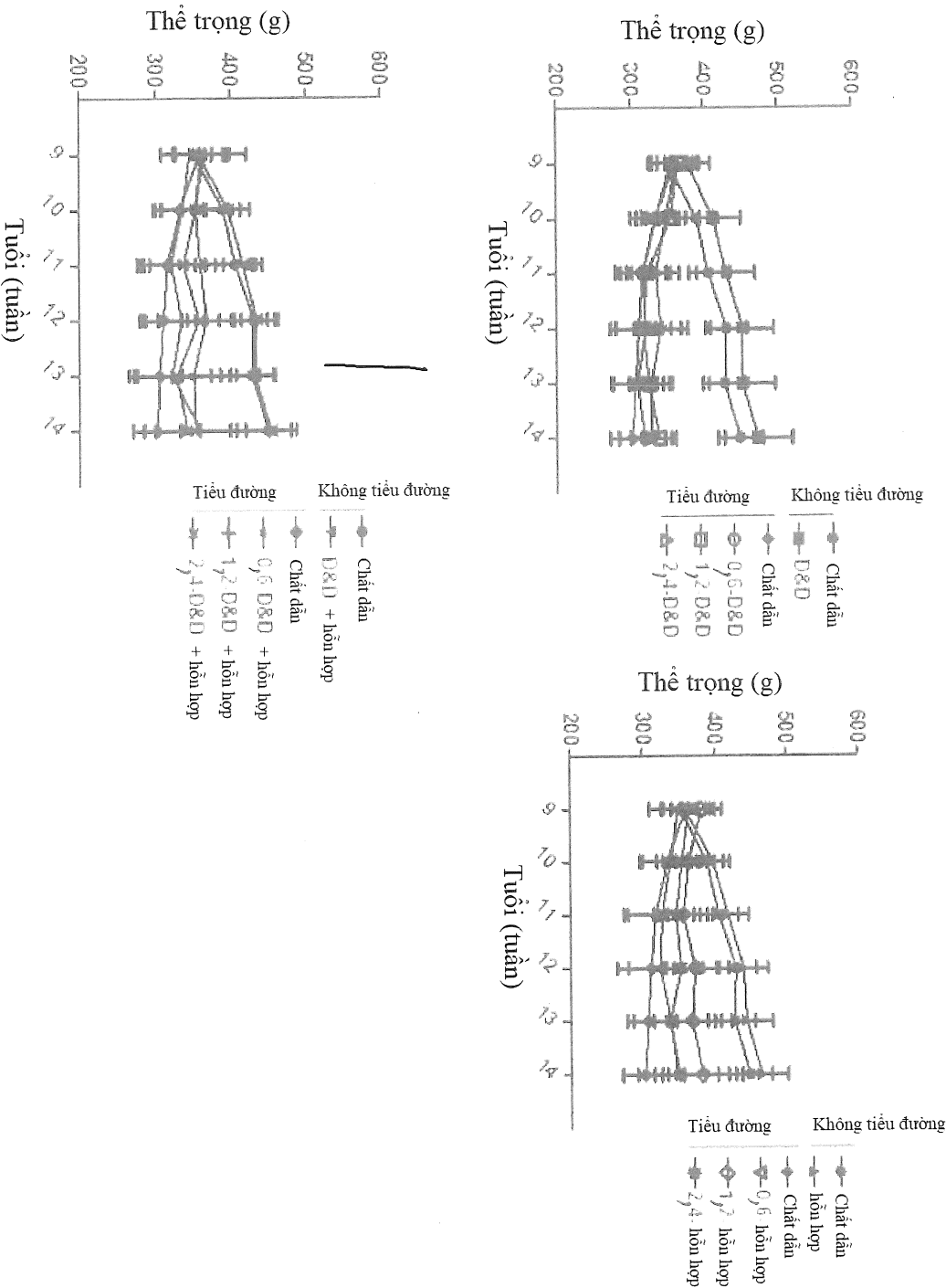


Fig 2

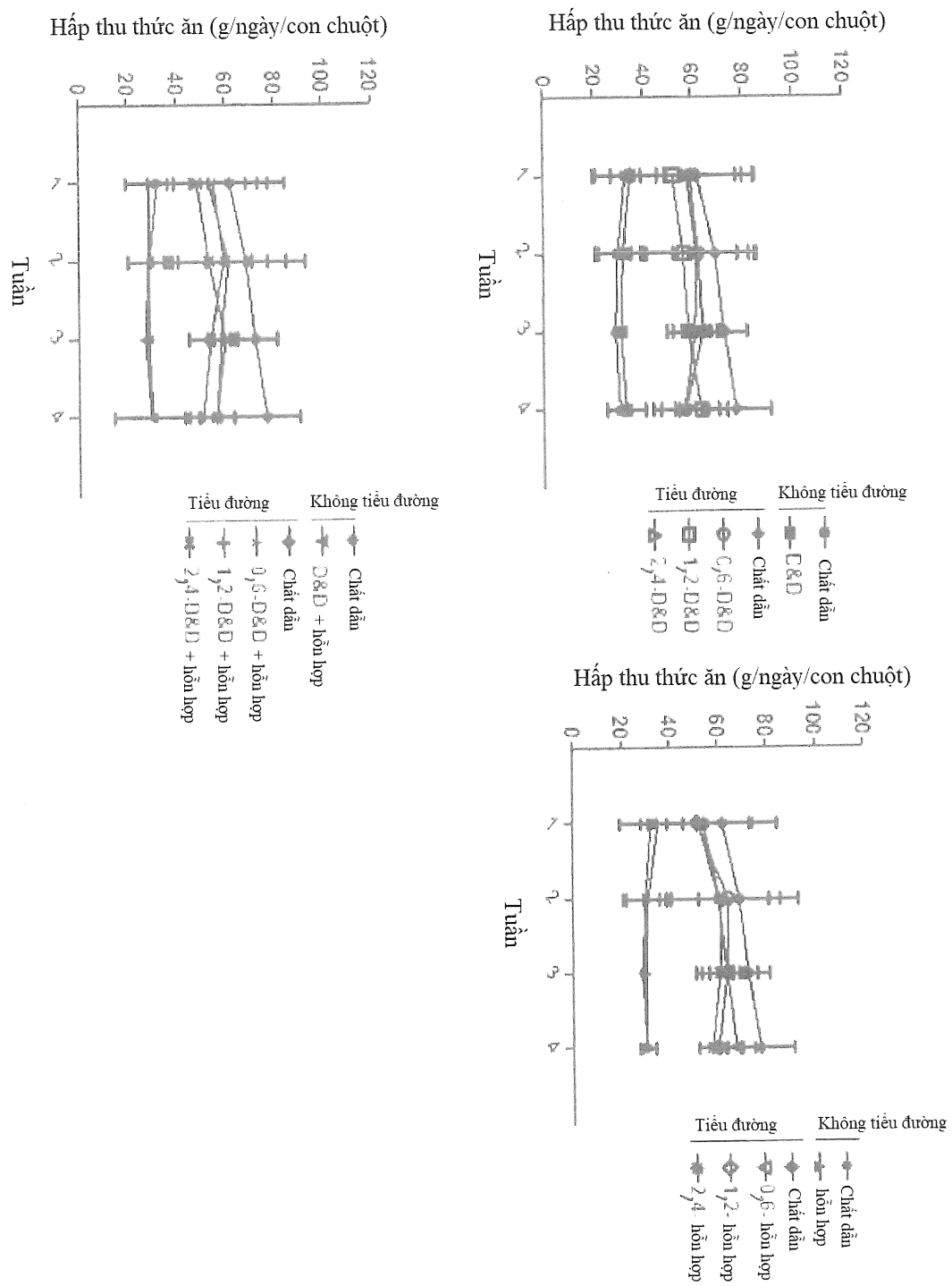


Fig 3

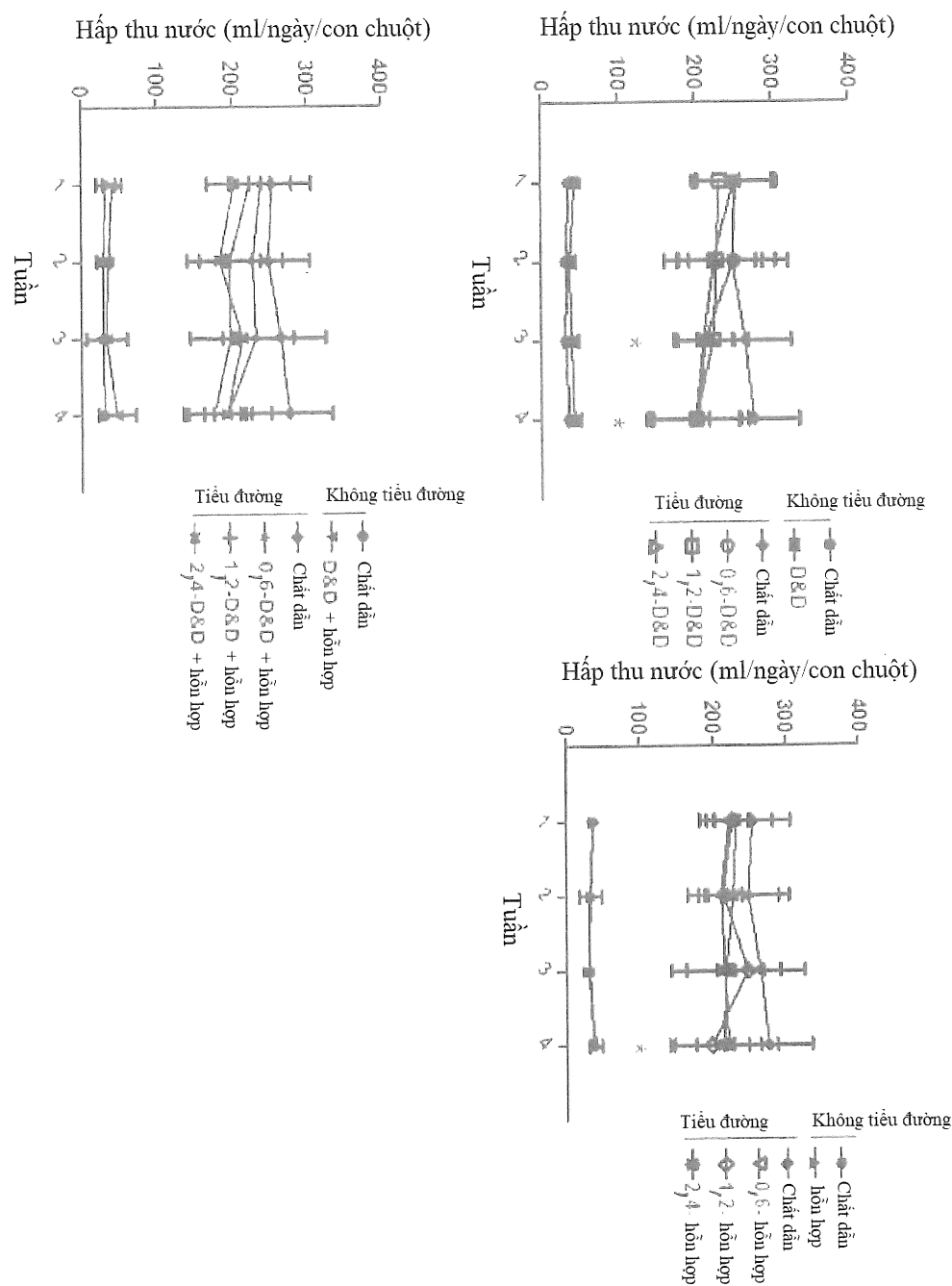


Fig 4

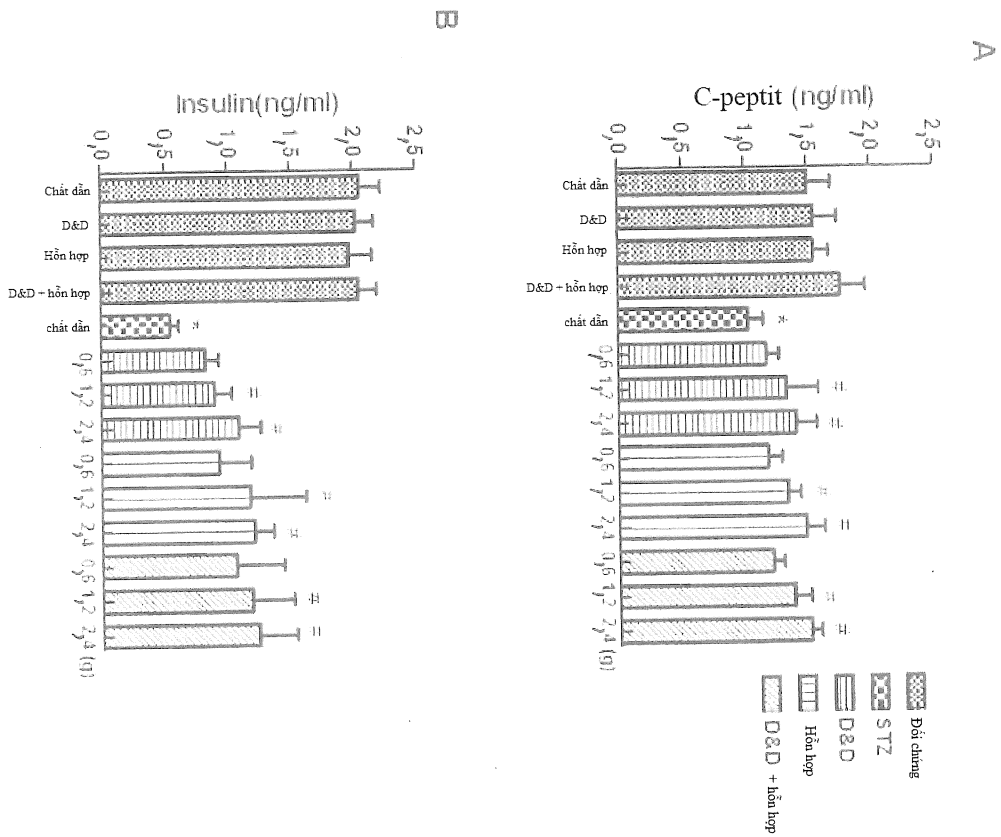


Fig 5

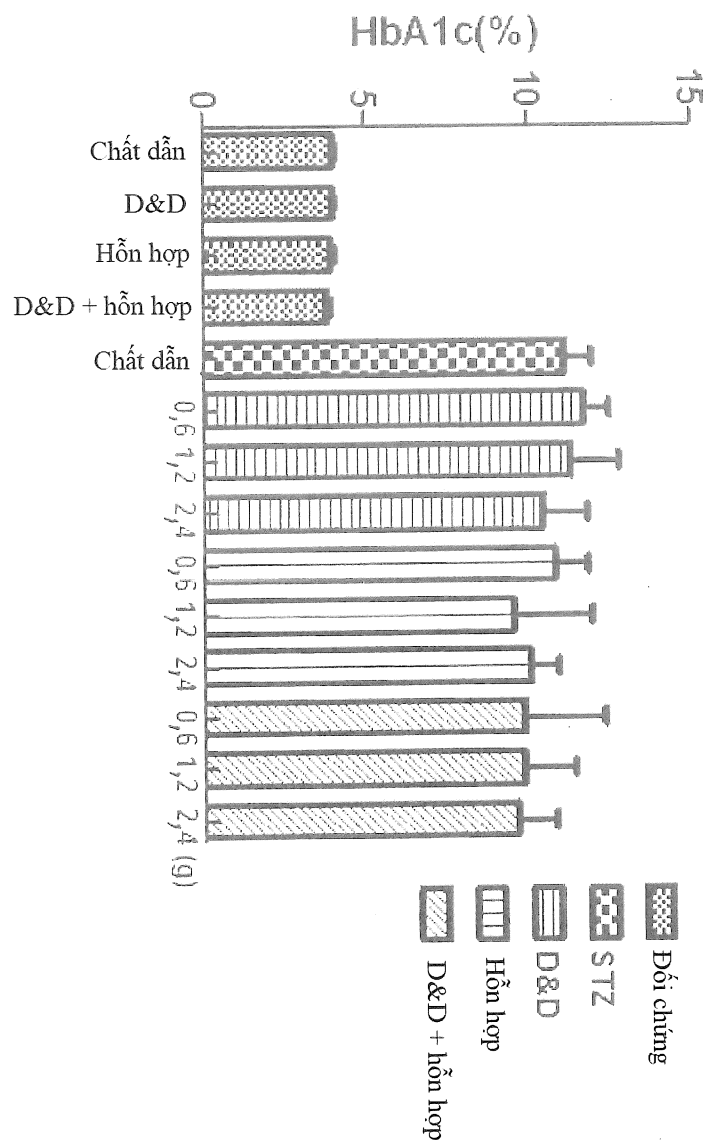


Fig 6

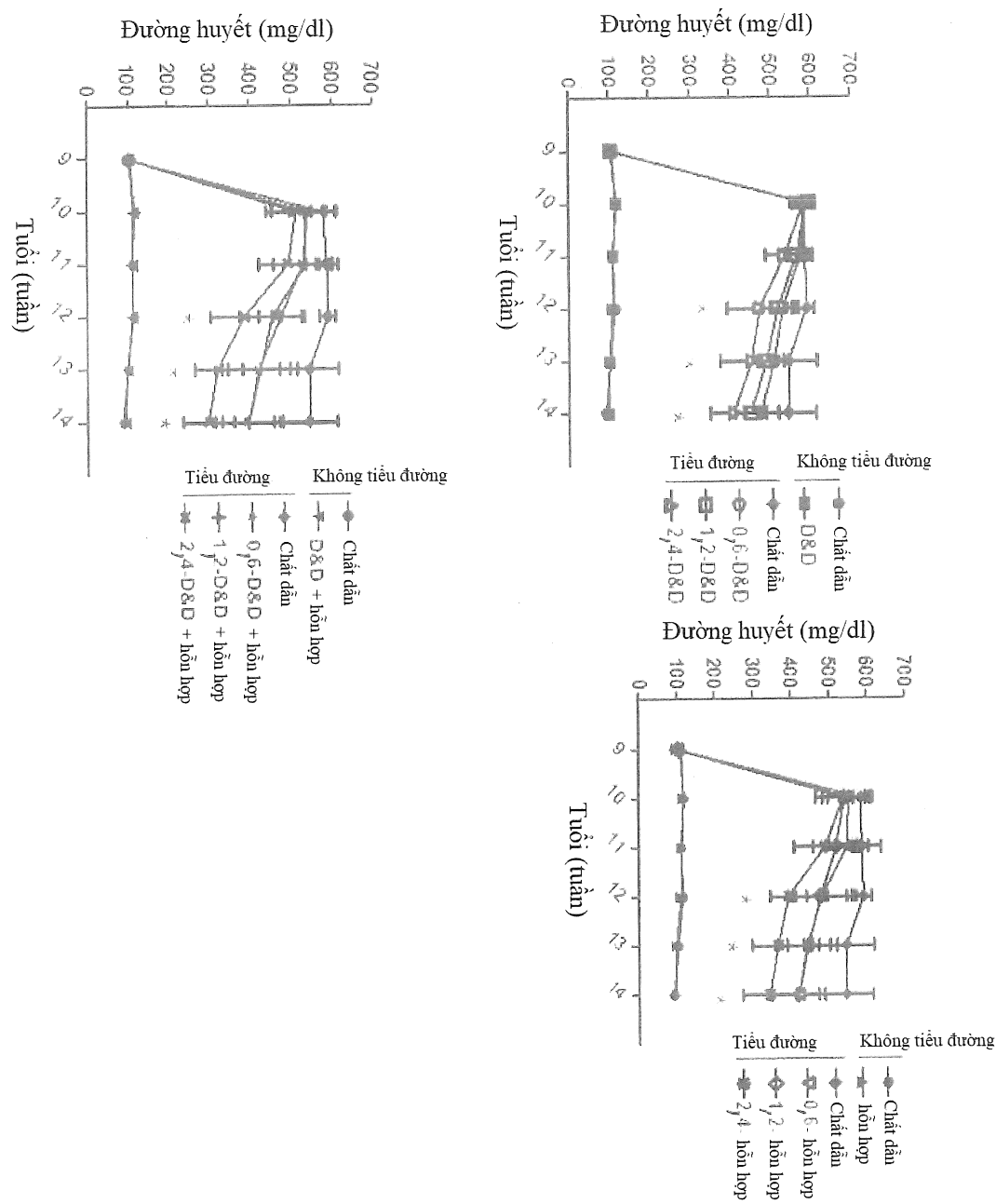


Fig 7

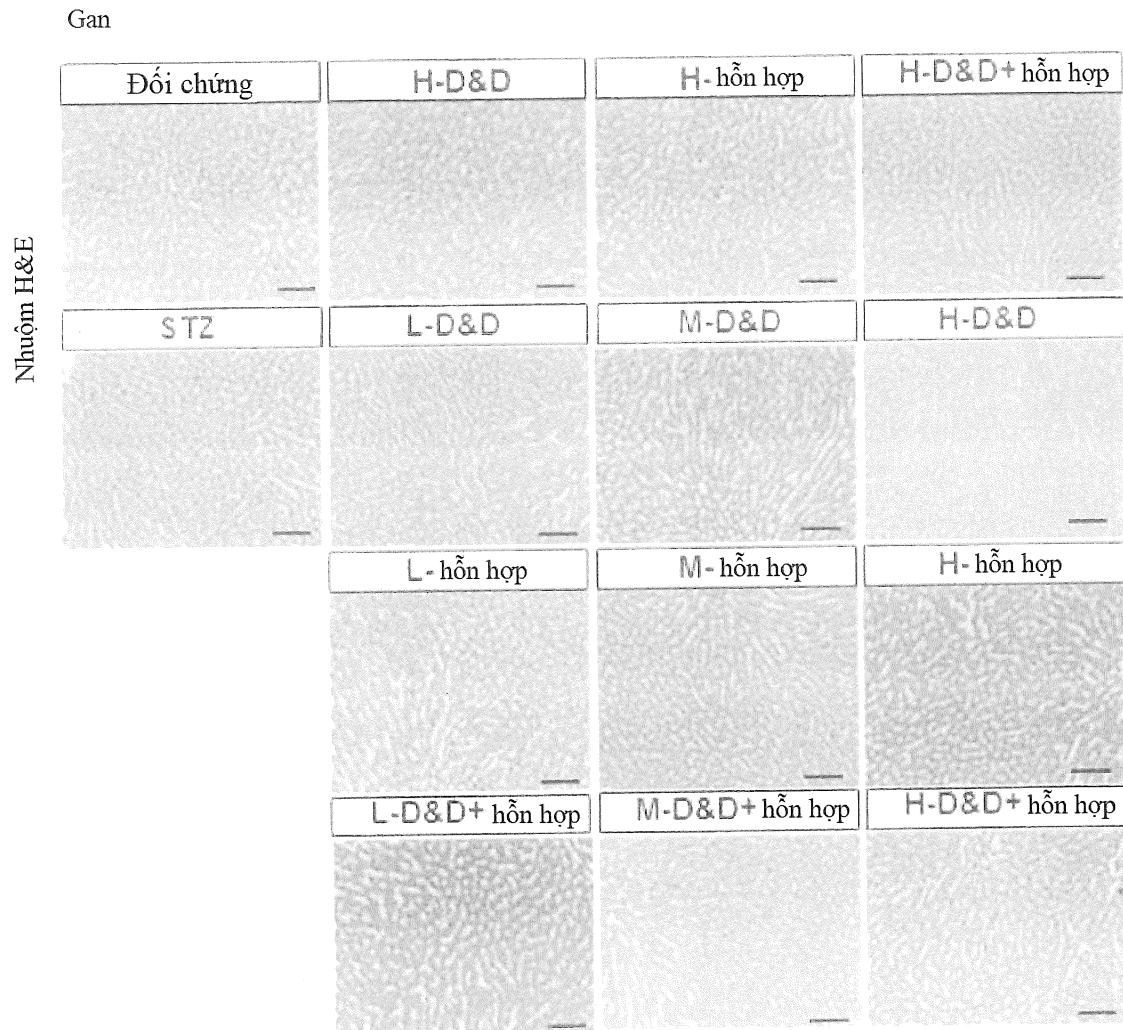


Fig 8

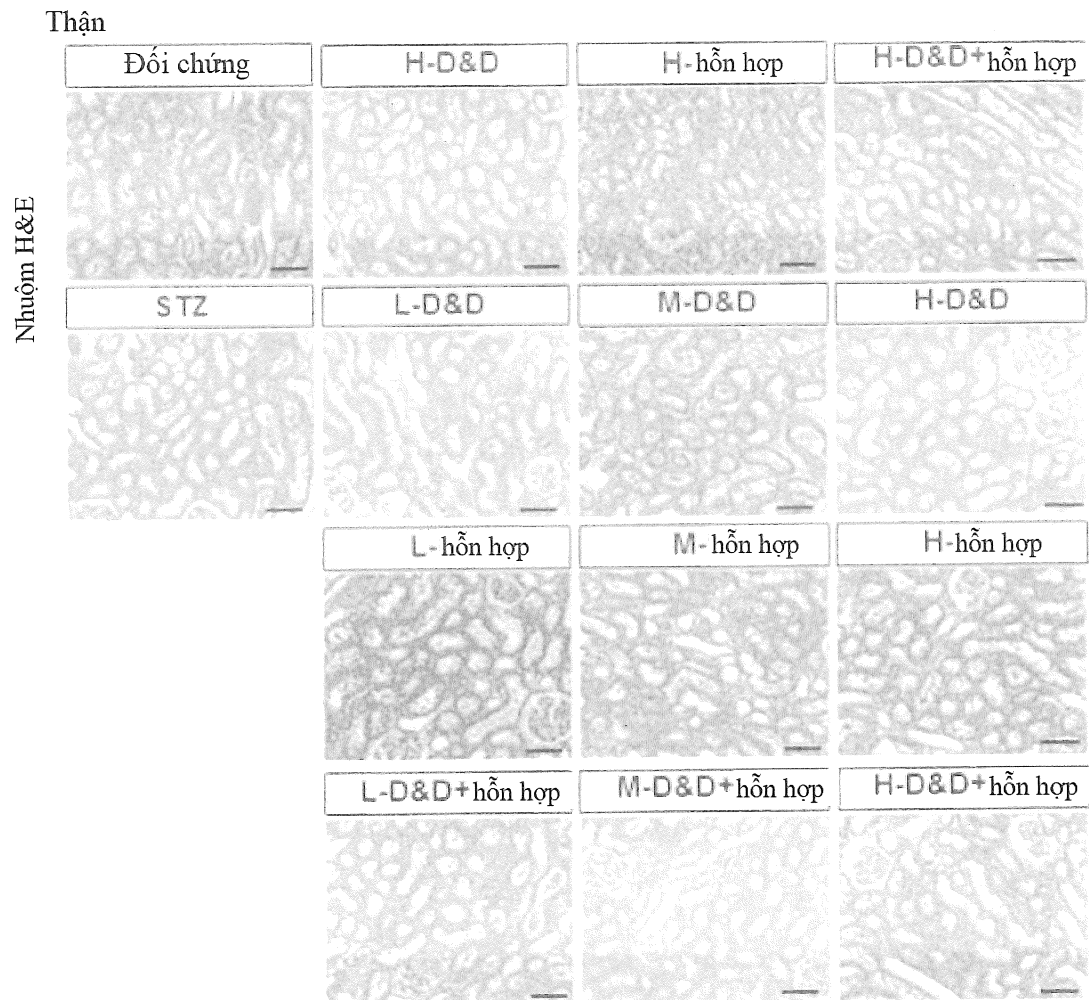


Fig 9

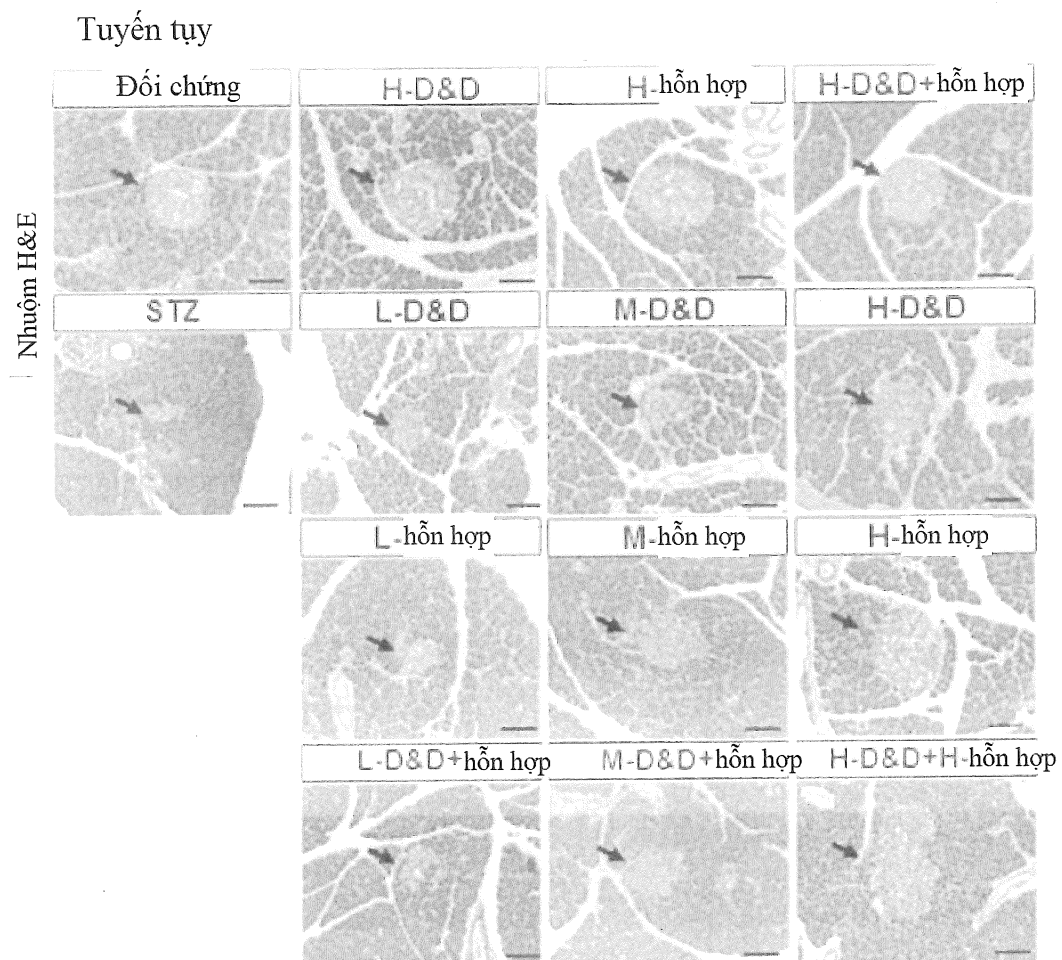


Fig 10

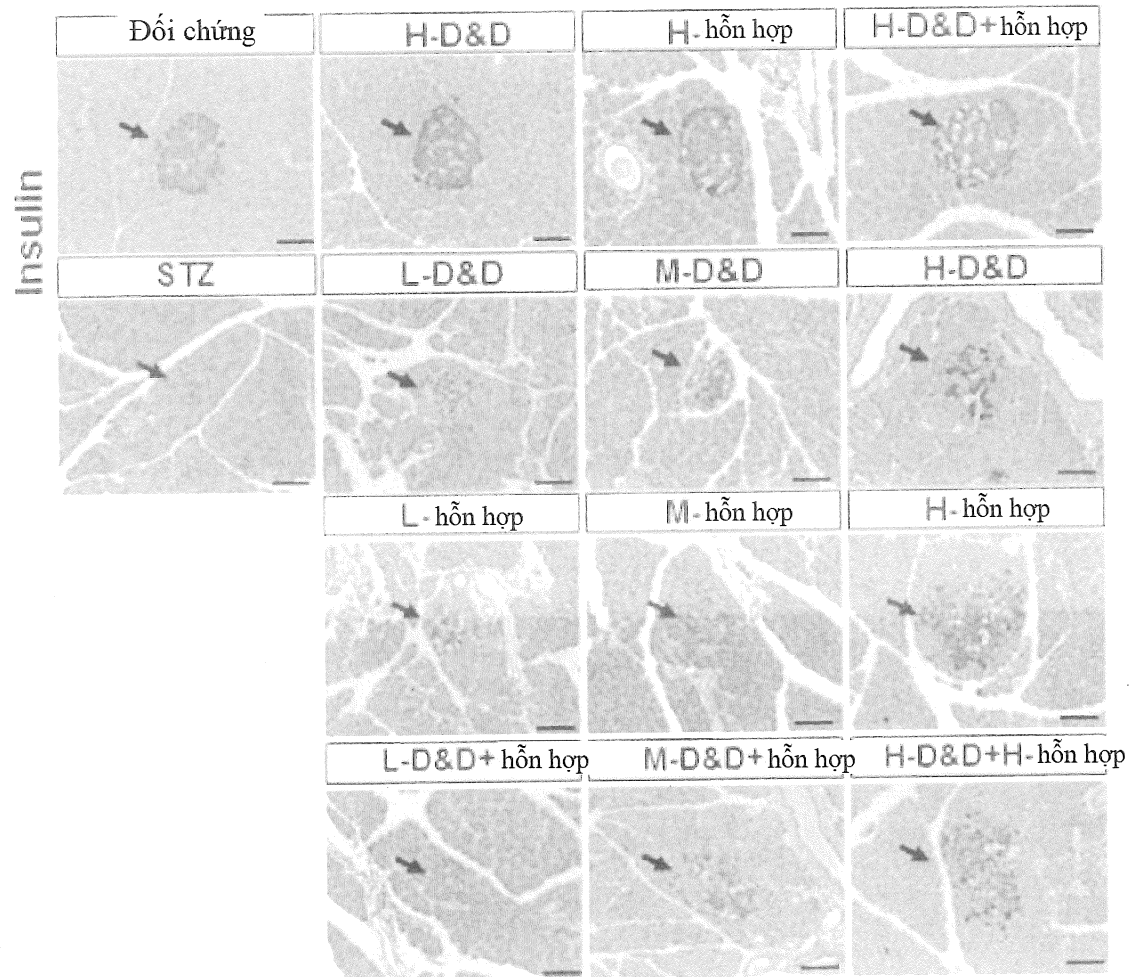


Fig 11

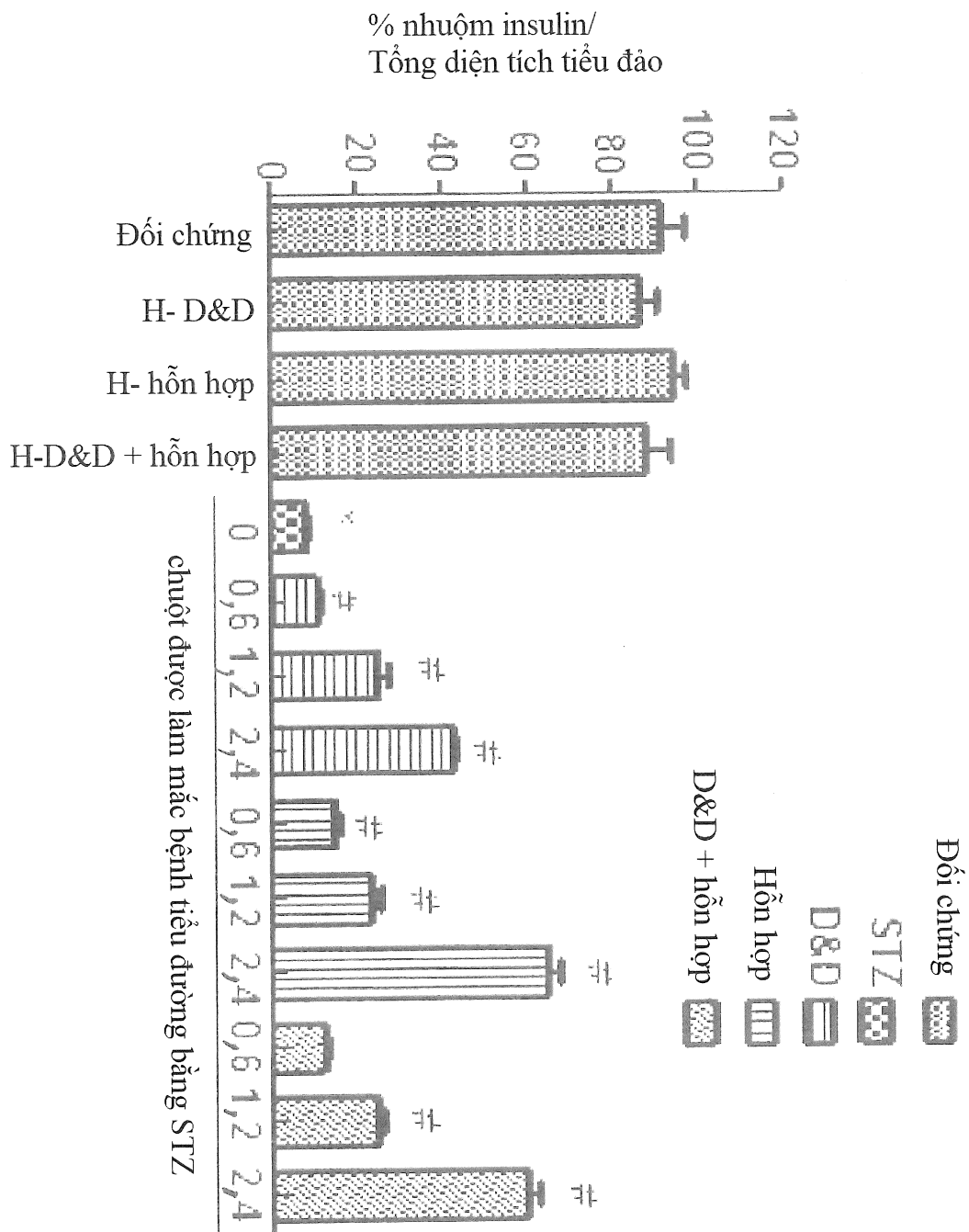


Fig 12

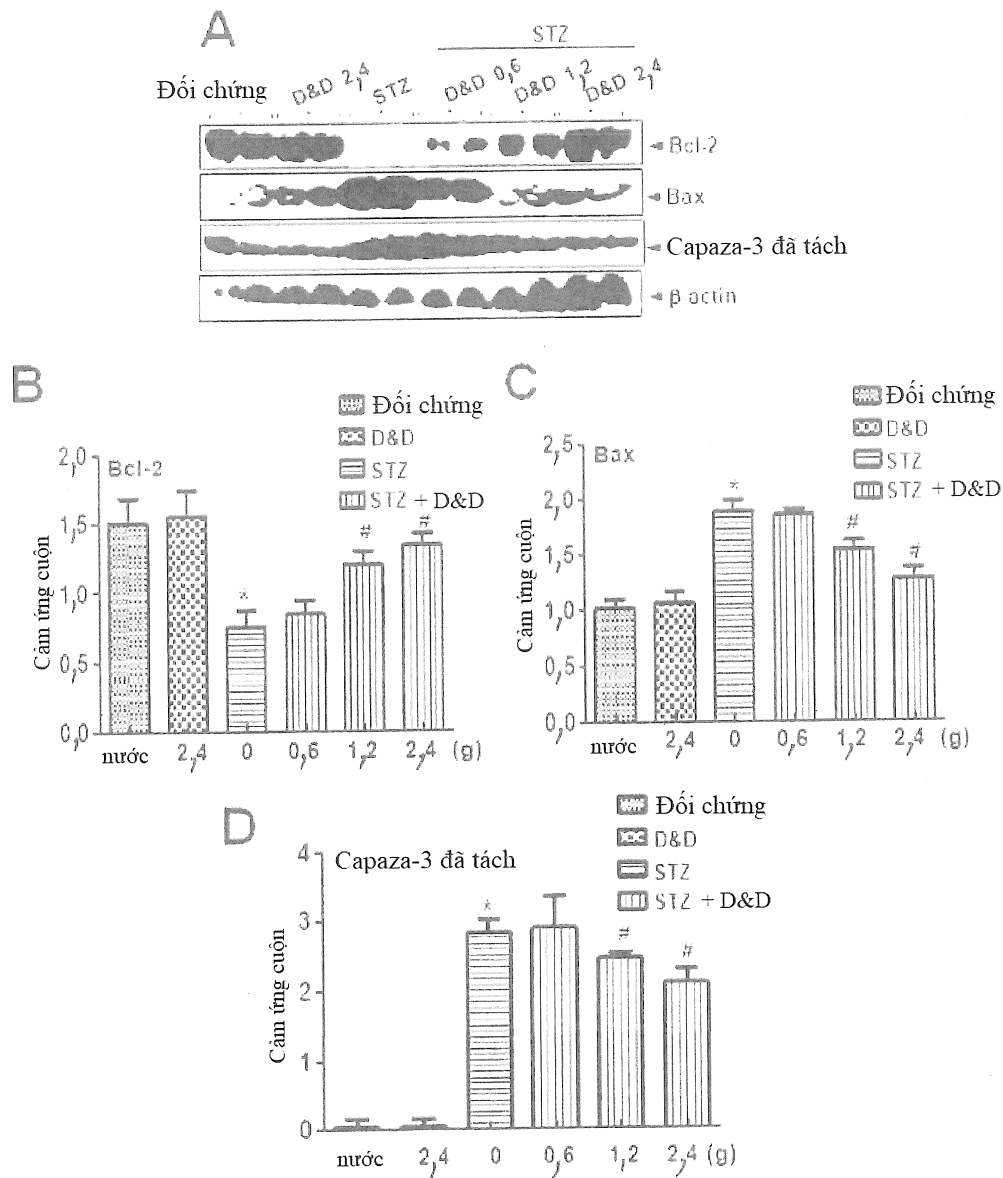


Fig 13

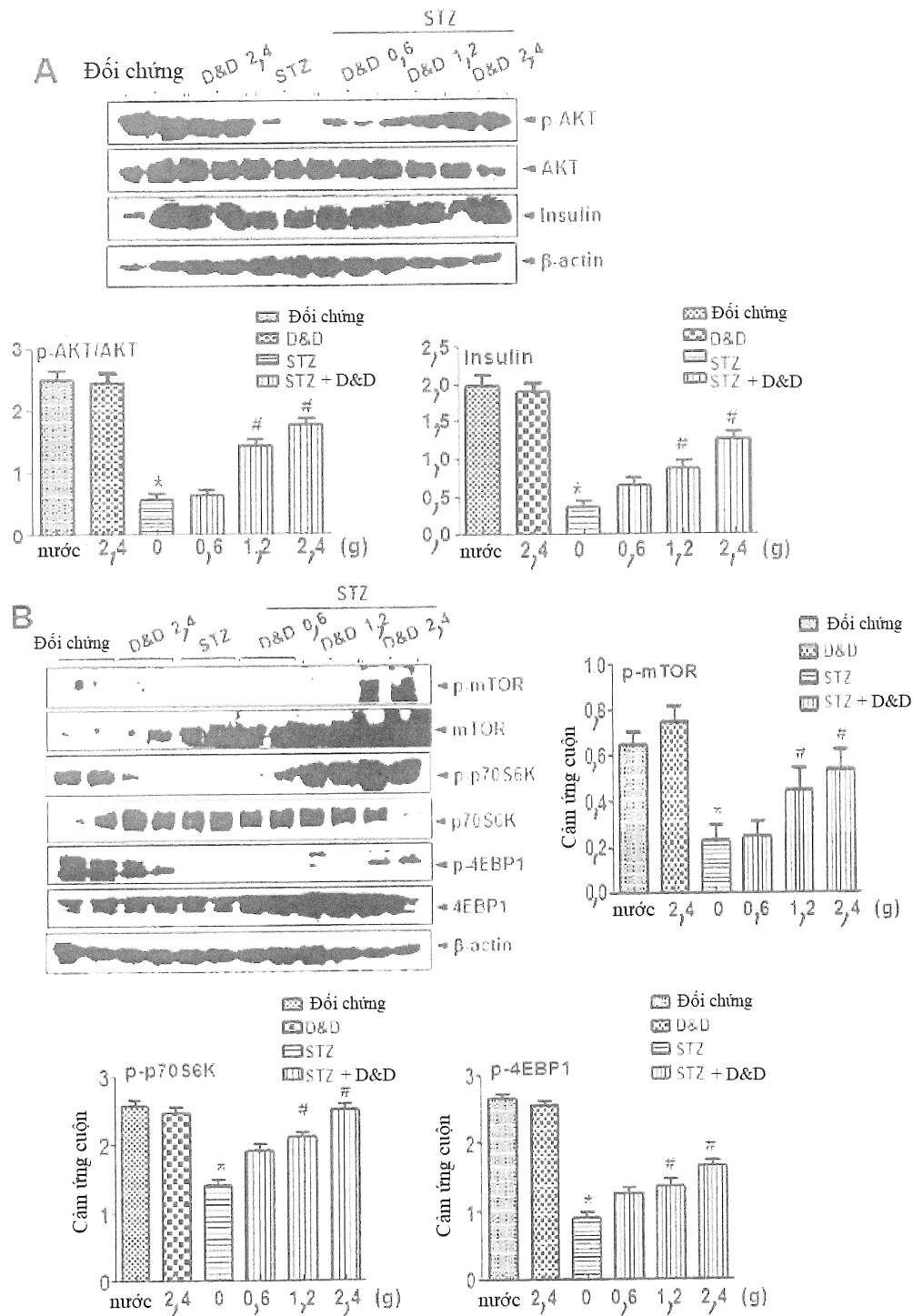


Fig 14

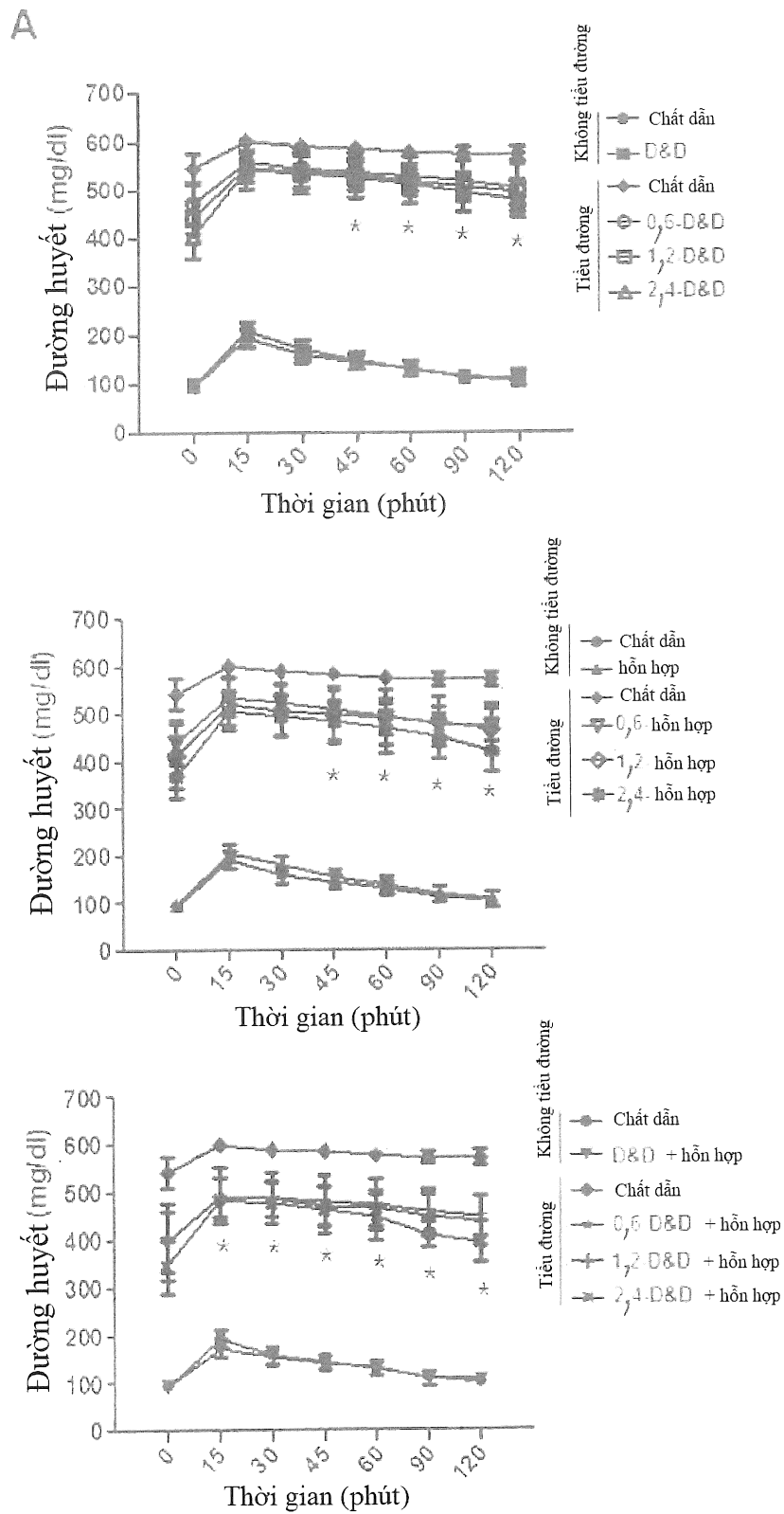


Fig 15

