



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0037564

(51)⁷ A61K 35/407; A61P 25/28; A61P 25/00; (13) B
A23L 33/115

-
- (21) 1-2019-02543 (22) 27/10/2017
(86) PCT/JP2017/038831 27/10/2017 (87) WO2018/079695 03/05/2018
(30) 2016-211301 28/10/2016 JP
(45) 27/11/2023 428 (43) 26/08/2019 377A
(73) ZERIA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (JP)
10-11, Nihonbashi Kobuna-cho, Chuo-ku, Tokyo 1038351, Japan
(72) YAMADA, Kotaro (JP); SAKURAI, Hidetomo (JP); NAKAGAWASAI, Osamu
(JP); TANNO, Koichi (JP).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)
-

(54) CHẤT ỨC CHẾ SUY GIẢM NHẬN THỨC, CHẤT CẢI THIỆN KHẢ NĂNG HỌC TẬP, THỰC PHẨM ỨC CHẾ SUY GIẢM NHẬN THỨC VÀ THỰC PHẨM CẢI THIỆN KHẢ NĂNG HỌC TẬP

(57) Sáng chế đề cập đến chất ức chế suy giảm nhận thức hoặc chất cải thiện khả năng học tập chứa, ở dạng hoạt chất, sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng hoặc hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng. Sáng chế còn đề cập đến thực phẩm ức chế suy giảm nhận thức hoặc cải thiện khả năng học tập và sản phẩm thủy phân gan.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chất ức chế suy giảm nhận thức và chất cải thiện khả năng học tập.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Ví dụ về bệnh sa sút trí tuệ bao gồm bệnh sa sút trí tuệ não mạch, bệnh sa sút trí tuệ kiểu Alzheimer, bệnh sa sút trí tuệ thể Lewy, bệnh Parkinson liên quan đến bệnh sa sút trí tuệ, và bệnh sa sút trí tuệ trán-thái dương. Triệu chứng cốt lõi của bệnh sa sút trí tuệ bao gồm suy giảm trí nhớ, mất phương hướng, và suy giảm nhận thức, và triệu chứng ngoại vi bao gồm chứng ảo giác, hoang tưởng, lơ đãng, hành vi ăn uống bất thường, rối loạn giấc ngủ, trầm cảm, lo lắng, sự kích thích, huênh hoang, bạo lực, và giảm cảm giác xấu hổ tình dục chẳng hạn.

Để làm chất điều trị bệnh sa sút trí tuệ, các chất ức chế axetylcholinesteraza (donepezil, galantamine, và rivastigmine) và chất đối kháng thụ thể NMDA (memantine) được sử dụng làm thuốc để cải thiện chức năng nhận thức. Tuy nhiên, các thuốc này có các tác dụng phụ như tác dụng phụ đối với các triệu chứng của hệ thống dạ dày-ruột bao gồm buồn nôn hoặc nôn, chứng chán ăn, tiêu chảy, đau bụng và các bệnh tương tự với tỷ lệ mắc cao (Tài liệu phi sáng chế 1).

Danh mục tài liệu viện dẫn

Tài liệu phi sáng chế

Tài liệu phi sáng chế 1: Pharmaceutical Product Interview Form (Aricept)

Tài liệu phi sáng chế 2: Abstracts of The 136th Annual Meeting of The Pharmaceutical Society of Japan (Yokohama) 28R-pm19 and LS24

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất chất cải thiện chức năng nhận thức với tác dụng phụ được giảm xuống.

Do đó, các tác giả sáng chế đã xem xét các thành phần có profin an toàn cao để không hoặc tạo ra tác dụng đối với chức năng nhận thức. Đã có thông báo rằng việc dùng sản phẩm phân huỷ gan lợn giàu phosphatidylcholin cho bệnh nhân may cải thiện chức năng nhận thức (Tài liệu phi sáng chế 2). Điều này không khẳng định tác dụng của chính sản phẩm phân huỷ gan lợn, mà nó là kết quả của việc xem xét tác dụng của phosphatidylcholin có mặt với lượng lớn trong sản phẩm phân huỷ gan lợn đặt biệt này. Mặt khác, các tác giả sáng chế đã xem xét tác dụng của một số thành phần tự nhiên khác nhau bằng cách sử dụng mô hình chuột suy giảm nhận thức, chuột bị mất vùng khứu giác. Kết quả là, các tác giả sáng chế đã hoàn toàn bất ngờ phát hiện ra rằng sản phẩm thuỷ phân gan với hàm lượng lipit thấp như phosphatidylcholin có tác dụng ức chế suy giảm nhận thức và cải thiện khả năng học tập mỹ mãn, và do đó, hoàn thành sáng chế.

Cụ thể, sáng chế đề xuất các điểm từ [1] đến [28] sau đây:

- [1] Chất ức chế suy giảm nhận thức, bao gồm, ở dạng hoạt chất, sản phẩm thuỷ phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng.
- [2] Chất cải thiện khả năng học tập, bao gồm, ở dạng hoạt chất, sản phẩm thuỷ phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng.
- [3] Thực phẩm ức chế suy giảm nhận thức, bao gồm, ở dạng hoạt chất, sản phẩm thuỷ phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng.
- [4] Thực phẩm cải thiện khả năng học tập, bao gồm, ở dạng hoạt chất, sản phẩm thuỷ phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng.
- [5] Chất ức chế suy giảm nhận thức, bao gồm, ở dạng hoạt chất, sản phẩm thuỷ phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng.
- [6] Chất cải thiện khả năng học tập, bao gồm, ở dạng hoạt chất, sản phẩm thuỷ phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng.
- [7] Thực phẩm ức chế suy giảm nhận thức, bao gồm, ở dạng hoạt chất, sản phẩm thuỷ phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng.
- [8] Thực phẩm cải thiện khả năng học tập, bao gồm, ở dạng hoạt chất, sản phẩm thuỷ phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng.

- [9] Sử dụng sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng để sản xuất chất ức chế suy giảm nhận thức.
- [10] Sử dụng sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng để sản xuất chất cải thiện khả năng học tập.
- [11] Sử dụng sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng để sản xuất thực phẩm ức chế suy giảm nhận thức.
- [12] Sử dụng sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng để sản xuất thực phẩm cải thiện khả năng học tập.
- [13] Sử dụng sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng để sản xuất chất ức chế suy giảm nhận thức.
- [14] Sử dụng sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng để sản xuất chất cải thiện khả năng học tập.
- [15] Sử dụng sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng để sản xuất thực phẩm ức chế suy giảm nhận thức.
- [16] Sử dụng sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng để sản xuất thực phẩm cải thiện khả năng học tập.
- [17] Sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng, dùng để ức chế suy giảm nhận thức.
- [18] Sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng, dùng để cải thiện khả năng học tập.
- [19] Phương pháp sử dụng sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng để ức chế suy giảm nhận thức không nhằm mục đích điều trị.
- [20] Phương pháp sử dụng sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng để cải thiện khả năng học tập không nhằm mục đích điều trị.
- [21] Sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng, dùng để ức chế suy giảm nhận thức.

- [22] Sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng, dùng để cải thiện khả năng học tập.
- [23] Phương pháp sử dụng sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng để ức chế suy giảm nhận thức không nhằm mục đích điều trị.
- [24] Phương pháp sử dụng sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng để cải thiện khả năng học tập không nhằm mục đích điều trị.
- [25] Phương pháp ức chế suy giảm nhận thức, bao gồm việc ăn lượng hữu hiệu của sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng.
- [26] Phương pháp cải thiện khả năng học tập, bao gồm việc ăn lượng hữu hiệu của sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng.
- [27] Phương pháp ức chế suy giảm nhận thức, bao gồm việc ăn lượng hữu hiệu của sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng.
- [28] Phương pháp cải thiện khả năng học tập, bao gồm việc ăn lượng hữu hiệu của sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng.

Hiệu quả của sáng chế

Theo sáng chế, việc ăn sản phẩm thủy phân gan không có tác dụng phụ, thậm chí khi ăn một lượng lớn sản phẩm này có thể ức chế các triệu chứng của bệnh sa sút trí tuệ, suy giảm nhận thức, và có thể cải thiện khả năng học tập.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 thể hiện quy trình thử nghiệm của Ví dụ 1.

Fig. 2 thể hiện kết quả thử nghiệm của Ví dụ 1.

Mô tả chi tiết sáng chế

Hoạt chất của chất ức chế suy giảm nhận thức và chất cải thiện khả năng học tập theo sáng chế là sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng hoặc hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng. Hàm lượng phosphatidylcholin có thể được chỉ định bằng cách đo lượng phospholipit kể cả phosphatidylcholin. Hàm lượng phosphatidylcholin là nhỏ hơn 1 % khối lượng,

tốt hơn là 0,5 % khối lượng hoặc nhỏ hơn, và tốt hơn nữa là 0,25 % khối lượng hoặc nhỏ hơn. Ngoài ra, hàm lượng lipit là nhỏ hơn 2 % khối lượng, tốt hơn là 1 % khối lượng hoặc nhỏ hơn, và tốt hơn nữa là 0,5 % khối lượng hoặc nhỏ hơn.

Sản phẩm thủy phân gan, còn gọi là gan thủy phân, chất chiết gan, chất chiết gan thủy phân hoặc chất thủy phân gan, là sản phẩm thủy phân thu được bằng cách thủy phân gan bằng các enzym tiêu hóa hoặc tương tự và được sử dụng làm thuốc cải thiện chức năng gan. Gan bò, lợn, cá ngừ, hoặc cá voi tươi, v.v., được sử dụng làm gan nguyên liệu thô. Do đó, tốt hơn là sản phẩm thủy phân thu được được cô và tiếp theo, được sử dụng. Các ví dụ được ưu tiên về sản phẩm thủy phân gan bao gồm sản phẩm thủy phân gan đã được xác định dưới dạng các dược phẩm trên đây.

Sản phẩm thủy phân gan bao gồm các peptit phân tử lượng thấp làm thành phần chính và các axit amin khác nhau, các nucleotit, vitamin, khoáng chất và các chất tương tự. Cụ thể hơn, tốt hơn nếu sản phẩm thủy phân gan chứa 19 đến 78% khối lượng axit amin, 17 đến 73% khối lượng peptit và protein, 1,8 đến 11% khối lượng sacarit, 0,005 đến 0,04% khối lượng lipit, 0,7 đến 2,5% khối lượng axit nucleic, 1,6 đến 5,4% khối lượng chất vô cơ, 0,03 đến 0,2% khối lượng vitamin, và 0,8% khối lượng glutathion hoặc ít hơn. Tốt hơn nữa nếu sản phẩm thủy phân gan chứa 23 đến 65% khối lượng axit amin, 20 đến 61% khối lượng peptit và protein, 2,2 đến 8,6% khối lượng sacarit, 0,006 đến 0,035% khối lượng lipit, 0,9 đến 2,1% khối lượng axit nucleic, 1,9 đến 4,5% khối lượng chất vô cơ, 0,04 đến 0,15% khối lượng vitamin, và 0,7% khối lượng glutathion hoặc ít hơn, và thậm chí tốt hơn nữa nếu sản phẩm thủy phân gan chứa 29 đến 52% khối lượng axit amin, 25 đến 49% khối lượng peptit và protein, 2,8 đến 6,9% khối lượng sacharit, 0,008 đến 0,03% khối lượng lipit, 1,1 đến 1,7% khối lượng axit nucleic, 2,4 đến 3,6% khối lượng chất vô cơ, 0,05 đến 0,12% khối lượng vitamin, và 0,6% khối lượng glutathion hoặc ít hơn.

Trong số các thành phần này, tốt hơn là thành phần của axit amin như sau: 17 đến 68 mg/g Ala, 0,6 đến 4,4 mg/g Arg, 9 đến 48 mg/g Asp, 5 mg/g xystin hoặc ít hơn, 18 đến 63 mg/g Glu, 10 đến 39 mg/g Gly, 3 đến 17 mg/g His, 14 đến 56

mg/g Ile, 26 đến 98 mg/g Leu, 15 đến 65 mg/g Lys, 0,3 đến 20 mg/g Met, 13 đến 46 mg/g Phe, 10 đến 48 mg/g Pro, 12 đến 49 mg/g Ser, 12 đến 45 mg/g Thr, 3 đến 13 mg/g Trp, 1,6 đến 41 mg/g Tyr và 18 đến 71 mg/g Val; tốt hơn nữa là 21 đến 57 mg/g Ala, 0,8 đến 3,6 mg/g Arg, 11 đến 40 mg/g Asp, 4 mg/g Xystin hoặc ít hơn, 22 đến 53 mg/g Glu, 13 đến 32 mg/g Gly, 4 đến 14 mg/g His, 17 đến 47 mg/g Ile, 32 đến 82 mg/g Leu, 18 đến 54 mg/g Lys, 0,4 đến 17 mg/g Met, 15 đến 38 mg/g Phe, 12 đến 40 mg/g Pro, 15 đến 41 mg/g Ser, 14 đến 38 mg/g Thr, 3,8 đến 11 mg/g Trp, 1,9 đến 34 mg/g Tyr và 21 đến 59 mg/g Val; và thậm chí tốt hơn nữa là 26 đến 45 mg/g Ala, 1 đến 2,9 mg/g Arg, 14 đến 32 mg/g Asp, 3 mg/g Xystin hoặc ít hơn, 27 đến 42 mg/g Glu, 16 đến 26 mg/g Gly, 5 đến 11 mg/g His, 21 đến 40 mg/g Ile, 40 đến 66 mg/g Leu, 22 đến 43 mg/g Lys, 0,5 đến 14 mg/g Met, 19 đến 31 mg/g Phe, 15 đến 32 mg/g Pro, 18 đến 33 mg/g Ser, 18 đến 30 mg/g Thr, 4,8 đến 8,4 mg/g Trp, 2,4 đến 27 mg/g Tyr và 27 đến 48 mg/g Val.

Sản phẩm thủy phân gan nên trên thể hiện tác dụng ức chế suy giảm nhận thức trên mô hình chuột mắc bệnh sa sút trí tuệ, chuột bị mất vùng khứu giác, như được mô tả dưới đây trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế. Sản phẩm thủy phân gan còn thể hiện tác dụng cải thiện khả năng học tập của chuột bình thường. Do đó, sản phẩm thủy phân gan có hàm lượng phosphatidylcholin nhỏ hơn 1 % khối lượng hoặc hàm lượng lipit nhỏ hơn 2 % khối lượng là hữu ích làm chất ức chế suy giảm nhận thức hoặc chất cải thiện khả năng học tập.

Ví dụ về suy giảm nhận thức bao gồm suy giảm trí nhớ và mất phương hướng (mất phương hướng về thời gian, địa điểm và con người), giảm kỹ năng số học, suy giảm khả năng phán đoán, chứng mất ngôn ngữ, mất nhận thức, tình trạng kém linh hoạt, và rối loạn chức năng điều hành. Ví dụ về khả năng học tập bao gồm trí nhớ, khả năng định hướng, kỹ năng số học, và khả năng phán đoán.

Chất ức chế suy giảm nhận thức và/hoặc chất cải thiện khả năng học tập theo sáng chế có thể được sử dụng theo đường uống, qua da, đường tiêu hóa, trong tĩnh mạch hoặc tương tự, và tốt hơn là sử dụng theo đường uống. Ví dụ về dạng bào chế dùng đường uống bao gồm chế phẩm dạng dung dịch, viên nén, bột, bột,

mịn, hạt mịn, và viên nang. Chế phẩm dạng dung dịch và viên nén là được ưu tiên và chế phẩm dạng dung dịch là được ưu tiên hơn.

Tá dược như lactoza, manitol, tinh bột ngô, và xenluloza tinh thể, chất liên kết như các dẫn xuất xenluloza, gồm arabic, và gelatin, tác nhân gây rã như canxi carboxymethylxenluloza, chất làm trơn như talc và magie stearat, chất hòa tan như chất hoạt động bề mặt không ion, chất tạo hương, chất làm ngọt, chất ổn định, chất điều chỉnh độ pH, nước, etanol, propylen glycol, glyxerin và các chất tương tự có thể được sử dụng. Ngoài ra, các chất bao như hydroxymethyl xenluloza phtalat, hydroxypropylmethyl xenluloza axetat succinat, xenluloza axetat phtalat, và copolyme metacrylat cũng có thể được sử dụng.

Hơn thế nữa, chất ức chế suy giảm nhận thức và/hoặc chất cải thiện khả năng học tập theo sáng chế có thể còn chứa các hoạt chất khác. Các ví dụ về các hoạt chất khác bao gồm: Các vitamin B₁ như thiamin, thiamin nitrat, thiamin hydroclorua, fursultiamin, bisbentiamin, benfotiamin, thiamin disulfua, dixethiamin, thiamin propyl disulfua và các dẫn xuất của nó; các vitamin B₂ như riboflavin và các dẫn xuất của nó và muối của chúng; các vitamin B₃ như niacin, axit nicotinic, nicotinamid và các dẫn xuất của nó và muối của chúng; các vitamin B₅ như panthenol, axit pantothenic và các dẫn xuất của nó và muối của chúng; các vitamin B₆ như pyridoxin và các dẫn xuất của nó và muối của chúng; các vitamin B₁₂ như xyanocobalamin và các dẫn xuất xyanocobalamin và muối của chúng; và các vitamin khác như vitamin A, vitamin C, vitamin E, vitamin K và vitamin P; và diisopropylamin dicloaxetat, taurin, chondroitin sulfat, sữa ong chúa, cafein, turmeric, cây diếp gai, bồ công anh, bồ công anh miền Tây, cây ngưu bàng, tỏi, cây hoa cúc, dương kỳ thảo, dành dành, vùng, điền thất, Tashichi ninjin (*Panax notoginseng* Berk), măng tây, hành tây, rau diếp xoăn, xô thơm, atisô, kỷ tử, thực vật thuộc họ Fabaceae và các cây thuộc họ Iridaceae, miyamauzura (*Goodyera schlechtendaliana*), tầm gửi, sete sangrias, bùm bụp Nhật, trà đen, resveratrol, catechin, berberin, hương thảo, chất chiết đậu, và metformin, lòng đỏ trứng, DHA,

EPA, ARA, vitamin D, bạch quả, axit ferulic, hydro, plasmalogen, bạch chỉ, và rau đắng biển.

Ngoài ra, chất ức chế suy giảm nhận thức và/hoặc chất cải thiện khả năng học tập theo sáng chế có thể còn được sử dụng làm, ngoài dược phẩm, dược mỹ phẩm, và thực phẩm dùng làm thực phẩm chức năng, như thực phẩm dùng cho mục đích y học đặc biệt, thực phẩm cho trẻ em, đồ uống dùng trong thể thao, nước giải khát để phục hồi, và thực phẩm cho thú nuôi.

Lượng sản phẩm thủy phân gan trong chất ức chế suy giảm nhận thức và/hoặc chất cải thiện khả năng học tập theo sáng chế thay đổi tùy thuộc vào dạng liều, và thường tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,001 đến 10% khối lượng dựa trên trọng lượng khô và tốt hơn nữa là từ 0,001 đến 5% khối lượng dựa trên trọng lượng khô. Hơn thế nữa, liều lượng hằng ngày dành cho người lớn của sản phẩm thủy phân gan trong chất ức chế suy giảm nhận thức và/hoặc chất cải thiện khả năng học tập theo sáng chế tốt hơn là nằm trong khoảng từ 3 g đến 10 g tính theo trọng lượng khô, tốt hơn là từ 3,5 g đến 8 g tính theo trọng lượng khô, và tốt hơn nữa là từ 4 g đến 7,5 g tính theo trọng lượng khô.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Dưới đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn có dựa vào các ví dụ sau, nhưng sáng chế không bị giới hạn chế bởi các ví dụ này.

Ví dụ tham chiếu 1:

Hàm lượng cholin của sản phẩm thủy phân gan được đo theo thử nghiệm sau với hàm lượng phospholipit.

Phospholipit được xác định bằng cách sử dụng Phospholipit C-Test Wako (sản phẩm để chẩn đoán bên ngoài của Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Pharmaceutical) (Takayama et al., 1977). Cụ thể, dung dịch tham chiếu chứa cholin clorua (54 mg/100 mL) (tương ứng với phospholipit 300 mg/100 mL) được chứa trong kit đo của Phospholipit C-Test Wako được pha loãng với nước để điều chỉnh, nhờ đó tạo ra dung dịch chuẩn. Khoảng 0,1 g mẫu được cân chính xác, nước được bổ sung vào mẫu để hoà tan sao cho thể tích chính xác là 10 mL, nhờ đó tạo

ra dung dịch mẫu. Tuy nhiên, khi mẫu không được hoà tan trong nước, 5 mL nước được bổ sung, sóng siêu âm được sử dụng để phân tán đồng nhất, và tiếp theo, nước được bổ sung sao cho thể tích chính xác là 10 mL. Dung dịch này được lọc bằng cách sử dụng màng lọc có kích thước lỗ là 0,45 μm hoặc nhỏ hơn. Dịch lọc ban đầu (2 mL) được loại bỏ, và dịch lọc tiếp theo được sử dụng làm dung dịch mẫu. Hai mươi μL dung dịch chuẩn và 20 μL dung dịch mẫu được cân, và tiếp theo, 3 mL dung dịch thử nghiệm sinh màu được bổ sung chính xác vào mỗi dung dịch này. Các dung dịch được lắc và trộn kỹ và tiếp theo, đun nóng ở 37°C trong 5 phút. Nước (20 μL) được xử lý theo cách tương tự để điều chế dung dịch đối chứng cho các dung dịch này, và tiếp theo, các dung dịch này được thử nghiệm bằng quang phổ cực tím có thể nhìn thấy. Mỗi dung dịch thu được từ dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu được đo ở bước sóng 600 nm, nhờ đó đo độ hấp thụ A_S và độ hấp thụ A_T . Đường cong hiệu chỉnh được lập ra từ các độ hấp thụ tương ứng với mỗi dung dịch chuẩn, và tiếp theo, hàm lượng cholin clorua tương ứng với độ hấp thụ A_T được xác định từ phương trình hồi quy.

Ví dụ 1

(1) Động vật thử nghiệm

Chuột nhắt đực giống ddY (Japan SLC Inc.) cân nặng 28 đến 30 g được sử dụng cho thí nghiệm này. Các con chuột được giữ trong môi trường không đổi: nhiệt độ trong phòng 22±2°C, độ ẩm 55±5%, chu kỳ sáng và tối là 12 giờ (thời gian chiếu sáng: 7:00 đến 19:00, và thời gian tối: 19:00 đến 7:00) trước khi thử nghiệm. Các con chuột được giữ trong lồng nhựa (chiều dài 30cm × rộng 20cm × cao 15 cm) mỗi lồng chứa từ 5 đến 7 con chuột.

(2) Phẫu thuật cắt bỏ thùy khứu giác

Sau khi dùng Somnopentyl (50 mg/kg, i.p.) để gây mê thông thường, mỗi con chuột được cố định vào thiết bị định vị não, khoan 2 lỗ nhỏ bằng cách sử dụng khoan nha khoa lên xương sọ ngay phía trên hành khứu giác (olfactory bulb-OB),

hành khứu giác bao gồm nhân khứu giác phía trước được loại bỏ 2/3 hoặc nhiều hơn bằng cách hút (bơm hút C-12 do SHINKU KIKO Inc. Sản xuất). Tiếp theo, spongel (Astellas Pharma Inc.) được nhồi vào để làm đầy các lỗ và cầm máu, và tiếp theo, các con chuột được sử dụng cho thử nghiệm. Để đánh giá sự ảnh hưởng của phẫu thuật OBX, các con chuột mà không bị hút OBX, nhưng đã được khoan lỗ trên xương sọ mà không làm tổn thương não, và đã được nhồi spongel vào các lỗ được sử dụng làm chuột của nhóm Sham trong thử nghiệm. Lưu ý rằng các con chuột đã phải phẫu thuật OBX đã được mở hộp sọ sau khi kết thúc thử nghiệm, não sẽ được loại bỏ để khẳng định các điểm phẫu thuật, và tiếp theo, các con chuột bị tổn thương ở vỏ não trán hoặc các con chuột vẫn còn hành khứu giác sẽ bị loại trừ ra khỏi dữ liệu.

(3) Thuốc được sử dụng và phương pháp điều chỉnh

Thuốc được sử dụng là sản phẩm thủy phân gan (Zeria Pharmaceutical Co., Ltd.: phosphatidylcholin ở giới hạn phát hiện được hoặc thấp hơn) và nước lấy từ vôi được sử dụng làm dung môi. Sản phẩm thủy phân gan được hoà tan trong nước lấy từ vôi sao cho nồng độ thu được là 1%. Việc dùng thuốc được tiến hành bằng cách cho ăn thoải mái chai nước ăn từ 1 tuần trước khi phẫu thuật OBX cho đến khi đạt được tổng số 5 tuần.

(4) Phương pháp đánh giá

Mỗi con chuột được đặt quay lưng lại cửa chém trong phòng sáng của hệ thống né tránh thụ động, và tiếp theo, các con chuột được cho qua cửa chém và di chuyển vào phòng tối. Sau khi xác nhận rằng các con chuột đã di chuyển hết vào trong phòng tối với tú chi đã đặt trên lưới kim loại, tiến hành việc kích thích bằng điện (1 mA, 500 giây). Quá trình này được cho là việc kiểm tra khả năng học tập. Sau khi kiểm tra khả năng học tập, các con chuột được cho quay trở lại chuồng. Hành khứu giác được loại bỏ ngay sau khi kiểm tra khả năng học tập. Vào ngày 28 sau khi phẫu thuật, mỗi con chuột OBX được đặt trong phòng sáng theo cách

tương tự với việc kiểm tra khả năng học tập, và tiếp theo, đo thời gian cần để cho mỗi con chuột đi vào phòng tối, có nghĩa là, thời gian trễ. Quá trình này được cho là việc kiểm tra thử nghiệm. Giờ chót cho cả việc kiểm tra khả năng học tập và kiểm tra thử nghiệm được đặt ở 10 phút (Fig. 1).

(5) Xử lý thống kê

Các kết quả thử nghiệm được thể hiện theo trị số trung bình và sai số chuẩn. Thử nghiệm có nghĩa được tiến hành bằng cách sử dụng thử nghiệm PLSD post-hoc của Fisher sau khi phân tích sự biến động, và hàm lượng có ý nghĩa là 5% hoặc nhỏ hơn được xác định là có sự khác biệt có nghĩa. Ngoài ra, phần mềm Stat view-J 5.0 được sử dụng cho các thử nghiệm này.

(6) Kết quả

Fig. 2 thể hiện các kết quả.

Vào ngày 28 sau khi phẫu thuật (4 tuần), thời gian trễ (thời gian trễ đáp ứng) của nhóm OBX được dùng dung môi giảm xuống đáng kể (** $p < 0,01$) so với nhóm Sham cũng được dùng dung môi.

Nhóm OBX được dùng sản phẩm thủy phân gan 1% thể hiện thời gian trễ được kéo dài đáng kể ($p < 0,05$) so với nhóm OBX được dùng dung môi.

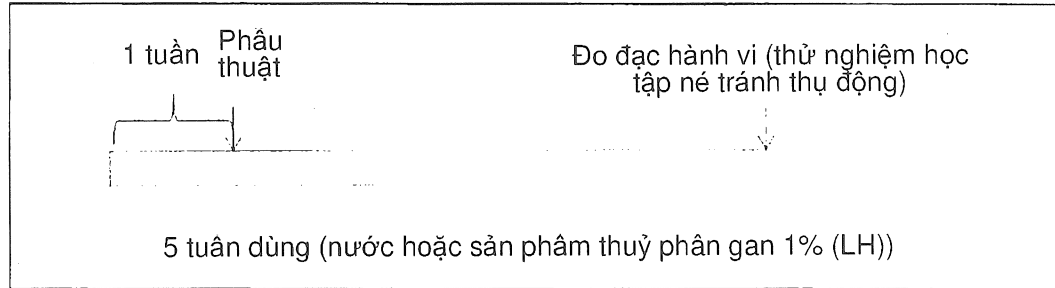
Nhóm Sham được dùng sản phẩm thủy phân gan 1% cũng thể hiện thời gian trễ được kéo dài đáng kể so với nhóm Sham được dùng dung môi (* $p < 0,05$).

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chất ức chế suy giảm nhận thức, bao gồm, ở dạng hoạt chất, sản phẩm thủy phân gan, trong đó sản phẩm thủy phân gan chứa phosphatidylcholin với lượng nhỏ hơn hoặc bằng 0,25 % khối lượng, axit amin với lượng nằm trong khoảng từ 19 đến 78 % khối lượng, peptit and protein với lượng nằm trong khoảng từ 17 đến 73 % khối lượng, sacarit với lượng nằm trong khoảng từ 1,8 đến 11 % khối lượng, lipit với lượng nằm trong khoảng từ 0,005 đến 0,04 % khối lượng, axit nucleic với lượng nằm trong khoảng từ 0,7 đến 2,5 % khối lượng, chất vô cơ với lượng nằm trong khoảng từ 1,6 đến 5,4 % khối lượng, vitamin với lượng nằm trong khoảng từ 0,03 đến 0,2 % khối lượng, và glutathion với lượng nhỏ hơn hoặc bằng 0,8 % khối lượng.
2. Chất cải thiện khả năng học tập, bao gồm, ở dạng hoạt chất, sản phẩm thủy phân gan, trong đó sản phẩm thủy phân gan chứa phosphatidylcholin với lượng nhỏ hơn hoặc bằng 0,25 % khối lượng, axit amin với lượng nằm trong khoảng từ 19 đến 78 % khối lượng, peptit and protein với lượng nằm trong khoảng từ 17 đến 73 % khối lượng, sacarit với lượng nằm trong khoảng từ 1,8 đến 11 % khối lượng, lipit với lượng nằm trong khoảng từ 0,005 đến 0,04 % khối lượng, axit nucleic với lượng nằm trong khoảng từ 0,7 đến 2,5 % khối lượng, chất vô cơ với lượng nằm trong khoảng từ 1,6 đến 5,4 % khối lượng, vitamin với lượng nằm trong khoảng từ 0,03 đến 0,2 % khối lượng, và glutathion với lượng nhỏ hơn hoặc bằng 0,8 % khối lượng.
3. Thực phẩm ức chế suy giảm nhận thức, bao gồm, ở dạng hoạt chất, sản phẩm thủy phân gan, trong đó sản phẩm thủy phân gan chứa phosphatidylcholin với lượng nhỏ hơn hoặc bằng 0,25 % khối lượng, axit amin với lượng nằm trong khoảng từ 19 đến 78 % khối lượng, peptit and protein với lượng nằm trong khoảng từ 17 đến 73 % khối lượng, sacarit với lượng nằm trong khoảng từ 1,8 đến 11 % khối lượng, lipit với lượng nằm trong khoảng từ 0,005 đến 0,04 % khối lượng, axit nucleic với lượng nằm trong khoảng từ 0,7 đến 2,5 % khối lượng, chất vô cơ với lượng nằm trong khoảng từ 1,6 đến 5,4 % khối lượng, vitamin với lượng nằm trong khoảng từ 0,03 đến 0,2 % khối lượng, và glutathion với lượng nhỏ hơn hoặc bằng 0,8 % khối lượng.

4. Thực phẩm cải thiện khả năng học tập, bao gồm, ở dạng hoạt chất, sản phẩm thủy phân gan, trong đó sản phẩm thủy phân gan chứa phosphatidylcholin với lượng nhỏ hơn hoặc bằng 0,25 % khối lượng, axit amin với lượng nằm trong khoảng từ 19 đến 78 % khối lượng, peptit và protein với lượng nằm trong khoảng từ 17 đến 73 % khối lượng, sacarit với lượng nằm trong khoảng từ 1,8 đến 11 % khối lượng, lipit với lượng nằm trong khoảng từ 0,005 đến 0,04 % khối lượng, axit nucleic với lượng nằm trong khoảng từ 0,7 đến 2,5 % khối lượng, chất vô cơ với lượng nằm trong khoảng từ 1,6 đến 5,4 % khối lượng, vitamin với lượng nằm trong khoảng từ 0,03 đến 0,2 % khối lượng, và glutathion với lượng nhỏ hơn hoặc bằng 0,8 % khối lượng.

[Fig. 1]



[Fig. 2]

