



(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)



1-0049130

(51)^{2021.01} A61K 35/74; A61P 35/00; A23K 10/16; (13) B
A23L 33/135

(21) 1-2022-05628

(22) 27/01/2021

(86) PCT/KR2021/001059 27/01/2021

(87) WO 2021/153980 05/08/2021

(30) 10-2020-0012144 31/01/2020 KR; 10-2020-0056138 11/05/2020 KR

(45) 25/07/2025 448

(43) 25/11/2022 416A

(73) LISCURE BIOSCIENCES CO., LTD. (KR)

7F(Sinsa-dong, M.I. Tower Building), 626, Gangnam-daero, Gangnam-gu, Seoul
06035, Republic of Korea

(72) CHIN, Hwa Sup (KR).

(74) Công ty TNHH Trà và cộng sự (TRA & ASSOCIATES CO.,LTD)

(54) DƯỢC PHẨM ĐỂ PHÒNG NGỪA HOẶC ĐIỀU TRỊ UNG THƯ CHỨA
WEISSELLA CIBARIA WIKIM28 LÀM THÀNH PHẦN HOẠT TÍNH

(21) 1-2022-05628

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm để phòng ngừa hoặc điều trị ung thư, bao gồm *Weissella cibaria* WIKIM28 hoặc giống cây của chúng được phân lập từ kim chi làm thành phần hoạt tính. *Weissella cibaria* WIKIM28 hoặc giống cây của nó theo sáng chế thể hiện hoạt tính chống ung thư tuyệt vời, và do đó có thể được sử dụng một cách hiệu quả làm chế phẩm dùng để điều trị, phòng ngừa hoặc cải thiện ung thư ở người hoặc động vật.

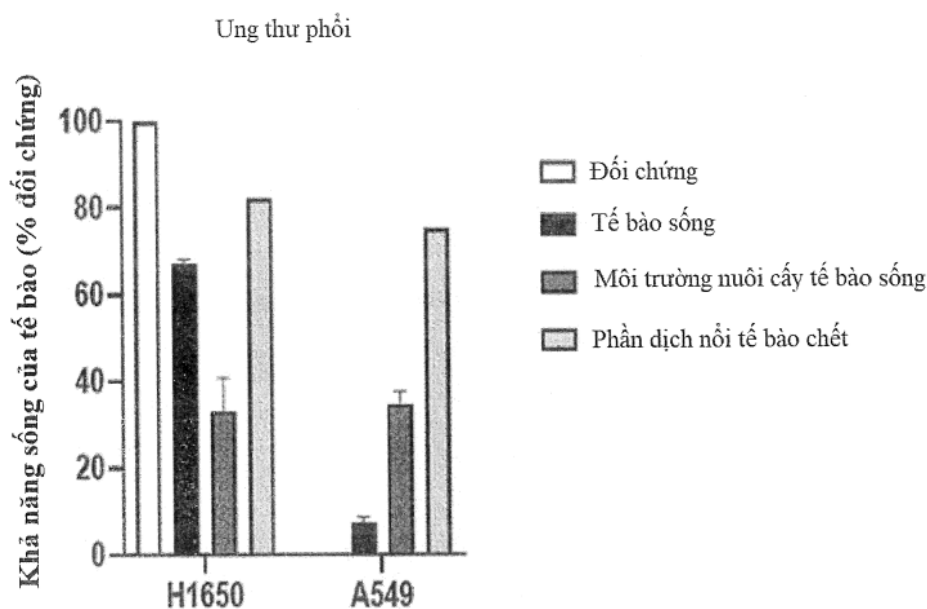


Fig. 1

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm để phòng ngừa hoặc điều trị ung thư chứa *Weissella cibaria* WIKIM28 (số truy cập: KCCM11879P) được phân lập từ kim chi làm thành phần hoạt tính.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Ung thư cho thấy tỷ lệ tử vong cao trên toàn thế giới và là nguyên nhân gây tử vong phổ biến nhất sau bệnh tim mạch trong các xã hội phương Tây. Cụ thể, do sự phương Tây hóa các thói quen về chế độ ăn uống, việc đưa vào cơ thể các khẩu phần ăn có độ béo cao đã trở nên phổ biến, và do sự tăng lên nhanh chóng về chất gây ô nhiễm môi trường và sự tăng lên trong việc tiêu thụ rượu, và các chất tương tự, ung thư kết tràng, ung thư vú, ung thư tuyến tiền liệt và các ung thư tương tự tiếp tục tăng, và ngoài sự già hóa dân số, ung thư phổi đang tăng lên do sự gia tăng của dân số hút thuốc và sự ô nhiễm không khí. Trong tình trạng này, việc tạo ra các chất chống ung thư có thể thể góp phần vào việc nâng cao sức khỏe con người, cải thiện chất lượng sức khỏe cuộc sống và cải thiện sức khỏe con người, bằng cách hỗ trợ việc phòng ngừa và điều trị sớm ung thư được đòi hỏi một cách cấp bách.

Trong khi đó, vi khuẩn axit lactic được phân bố rộng rãi trong miệng, ruột, âm đạo và phân của người và động vật và thực phẩm lên men như kim chi, và chúng có liên quan mật thiết đến sức khỏe của con người và động vật. Vi khuẩn lactic cho thấy nhiều tác dụng nâng cao sức khỏe khác nhau như điều hòa đường tiêu hóa, ức chế vi khuẩn có hại, điều hòa miễn dịch, giảm cholesterol trong máu, hoạt tính chống ung thư và các tác dụng tương tự.

Cho đến nay, patent Hàn Quốc số: 10-2009742 bộc lộ hoạt tính chống ung thư của chủng *Weissella cibaria* nhưng chỉ mô tả các ví dụ cụ thể về tác dụng phòng ngừa hoặc điều trị đối với ung thư đại trực tràng, và các ví dụ hoặc phương án thực nghiệm cụ thể không được mô tả cho các loại ung thư khác.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Một mục đích của sáng chế là đề xuất được phẩm để phòng ngừa hoặc điều trị ung thư chứa chủng *Weissella cibaria* làm thành phần hoạt tính.

Ngoài ra, mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm thực phẩm hoặc chế phẩm phụ gia thực phẩm để phòng ngừa hoặc cải thiện ung thư chứa vi khuẩn axit lactic kim chi mới, chủng *Weissella cibaria* làm thành phần hoạt tính.

Hơn nữa, mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm thức ăn chăn nuôi hoặc chế phẩm phụ gia thức ăn chăn nuôi để phòng ngừa hoặc cải thiện ung thư chứa vi khuẩn axit lactic kim chi mới, chủng *Weissella cibaria* làm thành phần hoạt tính.

Giải pháp kỹ thuật

Theo đó, các tác giả sáng chế đã nhận được chủng *Weissella cibaria* WIKIM28 (số truy cập: KCCM11879P) được nộp lưu vào Trung tâm Nuôi cấy Vi sinh vật Hàn Quốc và cố gắng xác nhận tác dụng phòng ngừa và điều trị đối với ung thư biểu mô ngoài ung thư đại trực tràng. Kết quả là, sáng chế này đã được hoàn thành bằng cách xác nhận tác dụng phòng ngừa và điều trị đối với các ung thư biểu mô khác.

Để đạt được các mục đích trên đây, sáng chế đề xuất được phẩm để phòng ngừa hoặc điều trị ung thư chứa *Weissella cibaria* WIKIM28 (số truy cập: KCCM11879P) hoặc giống cây của nó làm thành phần hoạt tính.

Hơn nữa, sáng chế đề xuất chế phẩm thực phẩm hoặc chế phẩm phụ gia thực phẩm để phòng ngừa hoặc cải thiện ung thư chứa *Weissella cibaria* WIKIM28 (số truy cập: KCCM11879P) hoặc giống cây của nó làm thành phần hoạt tính.

Thêm nữa, sáng chế đề xuất chế phẩm thức ăn chăn nuôi hoặc chế phẩm phụ gia thức ăn chăn nuôi để phòng ngừa hoặc cải thiện ung thư ở vật nuôi chứa *Weissella cibaria* WIKIM28 (số truy cập KCCM11879P) hoặc giống cây của nó làm thành phần hoạt tính.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Weissella cibaria WIKIM28 theo sáng chế thể hiện hoạt tính chống ung thư tuyệt vời đối với các loại ung thư biểu mô khác nhau, và do đó nó thể được sử dụng một cách hữu ích làm chế phẩm dùng để điều trị, phòng ngừa hoặc cải thiện ung thư ở người hoặc động vật

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là sơ đồ thể hiện biểu đồ đo tốc độ phát triển của tế bào (xét nghiệm khả năng sống của tế bào) sau khi dòng tế bào ung thư phổi không tế bào nhỏ H1650 và A549 được điều trị bằng chế phẩm theo sáng chế.

Fig.2 là sơ đồ thể hiện biểu đồ đo tốc độ phát triển của tế bào (xét nghiệm khả năng sống của tế bào) sau khi dòng tế bào ung thư tuyến tụy AsPC-1 được điều trị bằng chế phẩm theo sáng chế.

Fig.3 là sơ đồ thể hiện biểu đồ đo tốc độ phát triển của tế bào (xét nghiệm khả năng sống của tế bào) sau khi dòng tế bào ung thư bàng quang T24 được điều trị bằng chế phẩm theo sáng chế.

Fig.4 là sơ đồ thể hiện biểu đồ đo tốc độ phát triển của tế bào (xét nghiệm khả năng sống sót của tế bào) sau khi các dòng tế bào u melanin B16-F10, A375P và A375SM được điều trị bằng chế phẩm theo sáng chế.

Fig.5 là sơ đồ thể hiện biểu đồ đo tốc độ phát triển của tế bào (xét nghiệm khả năng sống của tế bào) sau khi dòng tế bào NIH/3T3 bình thường được điều trị bằng tế bào sống *Weissella cibaria* WIKIM28.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn qua các ví dụ. Các ví dụ này chỉ nhằm minh họa sáng chế một cách cụ thể hơn, và sáng chế sẽ trở nên rõ ràng hơn đối với những người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật tương ứng rằng phạm vi sáng của chế không giới hạn ở các ví dụ này theo ý chính của sáng chế.

Chế phẩm chứa *Weissella cibaria* WIKIM28 (*Weissella cibaria*, WIKIM28, số truy cập KCCM11879P) theo sáng chế hoặc giống cấy của nó làm thành phần hoạt tính có tác dụng phòng ngừa hoặc điều trị đối với ung thư và có thể được sử dụng làm được phẩm.

Weissella cibaria WIKIM28 theo sáng chế là chủng vi khuẩn axit lactic có nguồn gốc từ kim chi. *Weissella cibaria* WIKIM28 là chế phẩm sinh học có tác dụng đường tiêu hóa chung và có tác dụng tăng cường miễn dịch của vi khuẩn axit lactic. Một sự thật nổi tiếng đó là vi khuẩn axit lactic chi *Lactobacillus* có tác dụng tăng cường tác dụng đường tiêu hóa và tác dụng tăng cường hệ miễn dịch.

Weissella cibaria WIKIM28 đặc trưng ở chỗ nó có trình tự axit nucleic được nêu trong SEQ ID NO: 1.

Weissella cibaria WIKIM28 có thể được sử dụng bằng cách cấy trong môi trường lỏng MRS trong khoảng từ 0,1% đến 10% và nuôi cấy ở nhiệt độ trong khoảng từ 25°C đến 37°C từ 4 giờ đến 48 giờ.

Phương pháp nuôi cấy tốt hơn là phương pháp nuôi cấy tĩnh, nhưng không giới hạn ở phương pháp này.

Ở đây, “probiotic” được hiểu là các vi sinh vật sống có tác dụng có lợi cho sức khỏe của vật chủ nhờ cải thiện môi trường vi khuẩn đường tiêu hóa của vật chủ ở trong đường tiêu hóa của động vật bao gồm cả con người. Probiotic là các vi sinh vật sống có hoạt tính probiotic và ở dạng các chủng đơn hoặc chủng phức hợp, và khi được đưa vào con người hoặc động vật dưới dạng các tế bào sấy khô hoặc các sản phẩm lên men, chúng có thể có tác dụng có lợi đối với hệ vi sinh đường tiêu hóa của vật chủ.

Ung thư có thể là bất kỳ ung thư nào được chọn từ nhóm gồm ung thư bàng quang, ung thư vú, u melanin, ung thư tuyến giáp, ung thư tuyến cận giáp, ung thư trực tràng, ung thư vòm họng, ung thư thanh quản, ung thư thực quản, ung thư tuyến tụy, ung thư dạ dày, ung thư lưỡi, ung thư da, u não, ung thư tử cung, ung thư túi mật, ung thư miệng, ung thư ruột kết, ung thư vùng hậu môn, ung thư gan, ung thư phổi và ung thư đại trực tràng, và tốt hơn có thể là ung thư đại trực tràng, nhưng không giới hạn ở ung thư này.

Weissella cibaria WIKIM28 có trong chế phẩm theo sáng chế có thể có mặt như tế bào sống hoặc tế bào chết, và ngoài ra, *Weissella cibaria* WIKIM28 có thể có mặt ở dạng đông-khô. Các dạng và các phương pháp bào chế vi khuẩn axit lactic có thể phù hợp để chứa trong các chế phẩm khác nhau đã được biết đến rộng rãi bởi những người có hiểu biết trung bình về lĩnh vực kỹ thuật tương ứng.

Chế phẩm có thể được dùng qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa. Trong trường hợp sử dụng ngoài đường tiêu hóa, chế phẩm có thể được dùng bằng tiêm tĩnh mạch, tiêm dưới da, tiêm vào cơ, tiêm trong màng bụng, dùng nội mạc, dùng tại chỗ, dùng qua đường mũi và dùng qua đường trực tràng, và các cách tương tự, và tốt hơn, chế phẩm có thể được dùng bằng cách tiêm tĩnh mạch, nhưng không giới hạn ở cách dùng này.

Liều dùng phù hợp theo sáng chế có thể được kê đơn theo nhiều cách khác nhau phụ thuộc vào các yếu tố như phương pháp bào chế, tuổi, khối lượng cơ thể, giới tính, tình trạng bệnh lý, thực phẩm, thời gian dùng, đường dùng, tốc độ bài tiết và độ nhạy đáp ứng của bệnh nhân.

Khi chế phẩm theo sáng chế được dùng làm dược phẩm, dược phẩm theo sáng chế có thể được bào chế bằng cách sử dụng một chất hỗ trợ được dụng và sinh lý học phù hợp ngoài thành phần hoạt tính, và về chất hỗ trợ thì có thể sử dụng tá dược, chất phân hủy, chất tạo ngọt, chất liên kết, vật liệu phủ, chất giãn nở, chất bôi trơn, chất tạo keo hoặc chất tạo hương vị hoặc các chất tương tự.

Tốt hơn, dược phẩm có thể được đưa vào công thức làm dược phẩm để sử dụng bằng cách chứa thêm một hoặc nhiều loại chất mang dược dụng ngoài thành phần hoạt chất đã mô tả.

Ví dụ, đối với sự bào chế ở dạng viên nén hoặc viên con nhộng, thành phần hoạt tính có thể được liên kết với chất mang dược dụng bất hoạt dùng qua đường miệng và không độc, chẳng hạn như etanol, glyxerol, nước và chất tương tự. Ngoài ra, khi mong muốn hoặc cần thiết, có thể chứa thêm chất liên kết thích hợp, chất bôi trơn, chất làm tan và chất tạo màu trong hỗn hợp. Chất liên kết thích hợp có thể bao gồm nhưng không giới hạn ở tinh bột, gelatin, đường tự nhiên như glucoza hoặc beta-lactoza, gôm tự nhiên và gôm tổng hợp như chất làm ngọt từ ngô, nhựa cây keo, nhựa tragacan hoặc natri oleat, natri stearat, magie stearat, natri benzoat, natri axetat, natri clorua, và những chất tương tự. Chất làm tan có thể bao gồm nhưng không giới hạn ở tinh bột, metyl xenluloza, thạch trắng, bentonit, gôm xanthan, và những chất tương tự. Về chất mang dược dụng trong chế phẩm được đưa vào công thức dưới dạng dung dịch lỏng, dung dịch muối, nước vô trùng, dung dịch ringer, dung dịch muối đệm, dung dịch albumin để tiêm, dung dịch dextroza, dung dịch maltodextrin, glyxerol, etanol và hỗn hợp của một hoặc nhiều thành phần trong số chúng có thể được sử dụng, và nếu cần thiết, có thể bổ sung các chất phụ gia phổ biến khác như chất chống oxy hóa, dung dịch đệm, chất kìm khuẩn, và các chất tương tự. Ngoài ra, chế phẩm có thể được đưa vào công thức dạng bào chế để tiêm như dung dịch nước, dạng huyền phù, dạng nhũ tương, v.v., dạng viên nhỏ, viên con nhộng, dạng hạt hoặc dạng viên nén bằng cách bổ sung thêm chất pha loãng, chất phân tán, chất hoạt động bề mặt, chất liên kết và chất bôi trơn.

Hơn nữa, như một phương pháp phù hợp trong lĩnh vực kỹ thuật tương ứng, việc sử dụng phương pháp bộc lộ trong tài liệu Remington's Pharmaceutical Science, Mack Publishing Company, Easton PA, tốt hơn, chế phẩm có thể được đưa vào công thức tùy theo từng bệnh hoặc thành phần.

Chế phẩm chứa *Weissella cibaria* WIKIM28 (số truy cập: KCCM11879P) hoặc giống cây của nó làm thành phần hoạt tính theo sáng chế có thể được dùng làm chế phẩm thực phẩm hoặc chế phẩm phụ gia thực phẩm để phòng ngừa hoặc cải thiện ung thư.

Chế phẩm thực phẩm có thể ở dạng thực phẩm chức năng tốt cho sức khỏe.

“Thực phẩm chức năng tốt cho sức khỏe” có nghĩa là thực phẩm được sản xuất và chế biến sử dụng các nguyên liệu thô hoặc thành phần có các chức năng hữu ích đối với cơ thể con người phù hợp với Đạo luật về Thực phẩm chức năng tốt cho sức khỏe (Điều 3, Mục 1), và “chức năng” có nghĩa là để đạt được các tác dụng hữu ích để sử dụng cho sức khỏe như điều chỉnh chất dinh dưỡng hoặc các tác dụng sinh lý, và tác dụng tương tự, lên cấu trúc và chức năng của cơ thể con người (Điều 3, Mục 2).

Chế phẩm thực phẩm có thể chứa thêm phụ gia thực phẩm, và trừ khi có quy định cụ thể khác, sự thích hợp làm “phụ gia thực phẩm” sẽ được xác định theo các tiêu chuẩn và tiêu chí đối với danh mục tương ứng phù hợp với Bộ Quy Tắc Chung và Phương Pháp thử nghiệm chung của Mã Phụ Gia Thực Phẩm được phê duyệt bởi Bộ An toàn Thuốc và Thực phẩm.

Danh mục đã liệt kê trong “Mã phụ gia thực phẩm” có thể bao gồm, ví dụ, các sản phẩm tổng hợp hóa học như keton, glyxin, kali xitrat, axit nicotinic, axit xinamic, v.v., các phụ gia tự nhiên như chất màu quả hồng vàng, chiết xuất cây cam thảo, xenluloza tinh thể, gồm guar, v.v, và dạng bào chế hỗn hợp như dạng bào chế dung dịch L-glutamin, các chất kiềm cho mì, dạng bào chế chất bảo quản, dạng bào chế màu hắc ín.

Thực phẩm chứa thành phần hoạt tính theo sáng chế có thể bao gồm các loại bánh kẹo như bánh mì, bánh gạo, bánh nướng, kẹo, sôcôla, kẹo cao su và mứt, các sản phẩm kem lạnh như kem lạnh, nước đá và bột làm kem, các sản phẩm sữa như sữa, sữa ít béo, sữa phân giải lactoza, sữa đã qua chế biến, sữa dê, sữa lên men, sữa nguyên bơ, sữa đặc, kem sữa, pho mát tự nhiên, pho mát đã qua chế biến, sữa bột và váng sữa, các

sản phẩm thịt như thịt đã qua chế biến, các sản phẩm làm từ trứng đã qua chế biến và thịt băm viên, các sản phẩm từ thịt cá như chả cá, giăm bông cá, xúc xích cá, thịt cá xông khói, v.v., các loại mì như mì ramen, mì khô, mì tươi, mì chiên ăn liền, mì khô đã gelatin hóa, mì nấu chín cải tiến, mì lạnh và mì ống, các loại đồ uống như đồ uống làm từ nước ép trái cây, đồ uống làm từ rau củ, sữa đậu nành, đồ uống khuẩn sữa như sữa chua, v.v., và các đồ uống hỗn hợp, các loại nước sốt như nước tương, tương đậu nành, tương ớt đỏ, đậu tương đen dạng sệt, hỗn hợp bột nhào và giấm, các loại gia vị như tương cà, cà ri và nước xốt, bơ thực vật, mỡ trầu và pizza, nhưng không giới hạn ở các sản phẩm này.

Ngoài ra, chế phẩm theo sáng chế có thể chứa các loại chất dinh dưỡng khác nhau, vitamin, các chất điện giải, các chất tạo hương vị, các chất tạo màu, axit pectic và các muối của nó, axit alginic và các muối của nó, các axit hữu cơ, chất cô đặc bảo vệ dạng keo, các chất điều chỉnh độ pH, các chất ổn định, các chất bảo quản, glyxerin, rượu, các chất cacbonat hóa được sử dụng cho đồ uống có ga, và các chất tương tự. Hơn nữa, chế phẩm theo sáng chế có thể chứa thịt quả để sản xuất nước ép trái cây tự nhiên, đồ uống làm từ nước ép trái cây và đồ uống làm từ rau. Những thành phần này có thể được sử dụng độc lập hoặc kết hợp với nhau.

Chế phẩm đồ uống chứa thành phần hoạt tính theo sáng chế không có giới hạn đặc biệt nào đối với các thành phần khác, và như các đồ uống thông thường, có thể chứa thành phần bổ sung như các chất tạo hương vị khác nhau hoặc các hydrat cacbon tự nhiên, hoặc các chất tương tự. Ví dụ về các hydrat cacbon tự nhiên đã mô tả trên đây là các loại đường thông thường như các monosacarit (ví dụ như glucoza, fructoza, v.v.); disacarit (ví dụ như maltoza, sucroza, v.v.); và các polysacarit (ví dụ như dextrin, xyclodextrin, v.v.), và các rượu đường như xylitol, sorbitol, erytritol, và rượu đường tương tự. Như một chất tạo hương vị khác với các chất đã mô tả trên đây, các chất tạo hương vị tự nhiên (thaumatin, chiết xuất từ stevia (ví dụ như rebaudioside A, glycyrrhizin, v.v.)) và các chất tạo hương vị tổng hợp (sacarin, aspartam, v.v.) có thể được sử dụng một cách có lợi.

Ngoài ra, chế phẩm chứa *Weissella cibaria* WIKIM28 (số truy cập: KCCM11879P) hoặc giống cây của nó làm thành phần hoạt tính theo sáng chế có thể được dùng làm chế phẩm thức ăn chăn nuôi hoặc chế phẩm phụ gia thức ăn chăn nuôi để phòng ngừa hoặc cải thiện ung thư ở vật nuôi.

Khi chế phẩm được sản xuất làm phụ gia thức ăn chăn nuôi, chế phẩm có thể được sản xuất ở dạng cô đặc cao nằm trong khoảng từ 20% đến 90% hoặc ở dạng bột hoặc dạng hạt. Phụ gia thức ăn chăn nuôi có thể chứa thêm bất kỳ một, hoặc một hoặc nhiều trong số axit hữu cơ như axit xitric, axit fumaric, axit adipic, axit lactic, axit malic, v.v, hoặc các phosphat như natri phosphat, kali phosphat, pyrophosphat có tính axit, polyphosphat (polyphosphat), v.v., hoặc các chất chống oxi hóa tự nhiên như polyphenol, catechin, alpha-tocopherol, chiết xuất từ cây hương thảo, vitamin C, chiết xuất từ trà xanh, chiết xuất từ cây cam thảo, axit keton, axit tanic, axit phytic, v.v. Khi được sản xuất làm thức ăn chăn nuôi, chế phẩm có thể được đưa vào công thức dưới dạng thức ăn chăn nuôi thông thường, và có thể chứa các thành phần thức ăn thông thường cùng với nhau.

Thức ăn chăn nuôi và phụ gia thức ăn chăn nuôi có thể còn bao gồm ngũ cốc, ví dụ, lúa mì dạng bột hoặc nghiền, yến mạch, lúa mạch, ngô và gạo; thức ăn đậm thực vật, ví dụ, thức ăn có cải dầu, đậu và hướng dương là thành phần chính; thức ăn đậm động vật, ví dụ, bột huyết, bột thịt, bột xương và bột cá; đường và các sản phẩm từ sữa, ví dụ, các thành phần đã làm khô bao gồm các loại sữa bột và bột huyết thanh sữa, và các sản phẩm tương tự, và ngoài các loại này, có thể còn bao gồm chất bổ sung dinh dưỡng, chất tăng cường tiêu hóa và hấp thu, chất thúc đẩy tăng trưởng, và các chất tương tự.

Phụ gia thức ăn chăn nuôi có thể được dùng độc lập hoặc dùng kết hợp với phụ gia thức ăn chăn nuôi khác trong chất mang ăn được cho động vật. Hơn nữa, phụ gia thức ăn chăn nuôi có thể được trộn theo cách rải lên hoặc trộn trực tiếp vào thức ăn chăn nuôi, hoặc được dùng cho động vật một cách dễ dàng như sự đưa vào công thức uống riêng với thức ăn chăn nuôi. Khi phụ gia thức ăn chăn nuôi được dùng riêng với thức ăn chăn nuôi, như đã được biết đến rộng rãi trong lĩnh vực kỹ thuật tương ứng, nó có thể được sản xuất như một sự đưa vào công thức giải phóng tức thì hoặc giải phóng dần, kết hợp với chất mang được dụng ăn được. Chất mang được dụng ăn được này có thể ở dạng rắn hoặc dạng lỏng, ví dụ như, tinh bột ngô, lactoza, sucroza, mảnh đậu dẹt mỏng, dầu lạc, dầu ôliu, dầu mè và propylen glycol. Khi chất mang dạng rắn được dùng, phụ gia thức ăn chăn nuôi có thể ở dạng viên nén, viên con nhộng, bột, viên ngậm dẹt, viên hình thoi, hoặc dạng không phân tán phủ lên trên. Khi chất mang ở dạng lỏng được dùng, phụ gia thức ăn chăn nuôi có thể là sự đưa vào công thức của

viên con nhộng gelatin mềm, hoặc si rô hoặc huyền phù, nhũ tương hoặc dung dịch.

Hơn nữa, thức ăn chăn nuôi và phụ gia thức ăn chăn nuôi có thể chứa các chất bổ sung, ví dụ như, chất bảo quản, chất ổn định, chất tạo ẩm hoặc chất nhũ hóa, chất hoạt hóa dung dịch, hoặc các chất tương tự. Phụ gia thức ăn chăn nuôi có thể được dùng bằng cách thêm vào thức ăn chăn nuôi dưới hình thức đổ vào, phun vào hoặc trộn. Thức ăn chăn nuôi hoặc phụ gia thức ăn chăn nuôi theo sáng chế có thể được dùng làm thức ăn cho nhiều loại động vật gồm động vật có vú, gia cầm và cá.

Thức ăn chăn nuôi và phụ gia thức ăn chăn nuôi theo sáng chế có thể được dùng cho, nhưng không giới hạn ở lợn, bò, cừu, dê, động vật gặm nhấm để thí nghiệm và vật nuôi (ví dụ: chó, mèo) và ngoài các động vật gặm nhấm để thí nghiệm, và các động vật tương tự như các động vật có vú, và có thể còn được dùng cho gà, gà tây, vịt, ngỗng, gà lôi, và chim cút, cũng như các gia cầm tương tự, và có thể được dùng cho cá hồi, và các loại giống như cá nhưng không giới hạn ở các loại này.

Ví dụ 1. Nuôi cấy chủng

1-1. Bào chế chủng và môi trường nuôi cấy

Weissella cibaria WIKIM28 đã nhận được cấy trong 30ml môi trường lỏng MRS 1% và được nuôi cấy cố định ở 37°C trong 6 giờ. Sau khi nuôi cấy, thực hiện ly tâm ở tốc độ 3500 vòng/phút trong 10 phút để loại bỏ môi trường nuôi cấy, và các tế bào được rửa hai lần bằng dung dịch muối đệm phosphat (PBS) để loại bỏ các thành phần môi trường còn lại. Một nửa số tế bào đã rửa sạch được đặt trong môi trường nuôi cấy tế bào và nuôi cấy cố định trong 4 giờ ở 37°C, tủ ẩm CO₂ 5%, sau đó môi trường nuôi cấy được lọc qua màng lọc 0,22 µm và điều trị tế bào. Một nửa số tế bào đã rửa sạch được pha loãng trong môi trường nuôi cấy tế bào và được điều trị bằng tế bào sống.

1-2. Bào chế dịch nổi tế bào chết

Weissella cibaria WIKIM28 đã nhận được cấy trong 30 ml môi trường lỏng MRS 1% và được nuôi cấy cố định ở 37°C trong 24 giờ. Sau khi nuôi cấy, thực hiện ly tâm ở tốc độ 3500 vòng/phút trong 10 phút để loại bỏ môi trường nuôi cấy, và các tế bào được rửa hai lần bằng dung dịch muối đệm phosphat (PBS) để loại bỏ các thành phần môi trường còn lại. Các tế bào được lơ lửng trong dung dịch PBS và được điều

trị ở 90°C trong 30 phút. Sau khi xử lý nhiệt, các tế bào và dịch nổi chứa các chất trong vi khuẩn được tách rửa từ các tế bào được tách ra bằng cách ly tâm. Dịch nổi được lọc qua bộ lọc 0,22 μm , và sau đó được điều trị bằng các tế bào.

Ví dụ 2. Phân tích hiệu quả hoạt tính chống ung thư trong ống nghiệm

2-1. Bào chế các dòng tế bào

Để quan sát hiệu quả hoạt tính chống ung thư của *Weissella cibaria* WIKIM28, tốc độ phát triển của tế bào (xét nghiệm khả năng sống của tế bào) được đo bằng Bộ đếm tế bào (Cell Counting Kit-8). Các tế bào được sử dụng cho thí nghiệm về hiệu quả hoạt tính chống ung thư là dòng tế bào ung thư phổi không tế bào nhỏ H1650 và A549, dòng tế bào ung thư tuyến tụy AsPC-1, dòng tế bào ung thư bàng quang T24, dòng tế bào u melanin B16-F10, A375P và A375SM và dòng tế bào thường NIH/3T3.

Các dòng tế bào H1650, A549, AsPC-1 và T24 và các dòng tế bào B16-F10, A375P, A375SM, và NIH/3T3 tương ứng được nuôi cấy ở các điều kiện CO₂ 5% và 37°C sử dụng môi trường RPMI và môi trường DMEM trong đó FBS (huyết tương thai bò) 10% và kháng sinh (penixilin/streptomycin) 1% được bổ sung vào, và các tế bào đang trong thời kỳ tăng trưởng được sử dụng cho thí nghiệm. Các tế bào nuôi cấy được điều trị bằng trypsin-EDTA 0,25% trong tủ ấm ở 37°C trong 3 phút để tách tế bào, sau đó chúng được rửa hai lần bằng DPBS và bào chế để được hợp lưu 80% trong đĩa 96 giếng.

2-2. Kết quả đo tốc độ phát triển tế bào (xét nghiệm khả năng sống của tế bào)

Theo sáng chế này, tế bào ung thư phổi (2 loại), tế bào ung thư tuyến tụy (1 loại), tế bào ung thư bàng quang (1 loại), tế bào u melanin (3 loại) và tế bào bình thường (1 loại) được nuôi cấy và sau đó được điều trị bằng tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28, môi trường nuôi cấy tế bào sống, hoặc dịch nổi tế bào chết được bào chế theo Ví dụ 1 để đo sự phát triển của tế bào (khả năng sống của tế bào).

Đối với tốc độ phát triển của tế bào (xét nghiệm khả năng sống của tế bào), tế bào được điều trị bằng tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28 ở nồng độ MOI 50 hoặc 100, môi trường nuôi cấy tế bào sống, hoặc phần nổi tế bào chết 5% (thể tích/thể tích), và sau đó được nuôi cấy trong 24 giờ, 48 giờ hoặc 72 giờ. Sau khi nuôi cấy, chúng được điều trị bằng thuốc thử bộ đếm tế bào (Cell counting Kit-8), và sau đó đo độ hấp

thụ (OD 450 nm). Dựa trên khả năng hấp thụ của các tế bào (đối chứng) không được điều trị bằng tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28, môi trường nuôi cấy tế bào sống, hoặc dịch nổi tế bào chết là 100%, tốc độ phát triển của tế bào đã điều trị bằng tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28, môi trường nuôi cấy tế bào sống, hoặc dịch nổi tế bào chết được tính toán, và kết quả thí nghiệm được mô tả dưới đây.

Các dòng tế bào ung thư phổi không tế bào nhỏ H1650 và A549 được điều trị bằng tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28, môi trường nuôi cấy tế bào sống, hoặc dịch nổi tế bào chết đã bào chế theo Ví dụ 1, và tốc độ phát triển tế bào được đo. Kết quả được thể hiện trên Fig.1.

Như thể hiện trên Fig.1, đã xác nhận được rằng, tốc độ phát triển tế bào của dòng tế bào H1650 sau khi điều trị bằng tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28, môi trường nuôi cấy tế bào sống, hoặc dịch nổi đã giảm lần lượt là 32,9%, 66,8% và 17,8%, và tốc độ phát triển tế bào của dòng tế bào A549 sau khi điều trị bằng tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28, môi trường nuôi cấy tế bào sống, hoặc dịch nổi đã giảm lần lượt là 92,5%, 65,3% và 24,7%. Có thể khẳng định rằng chủng *Weissella cibaria* WIKIM28 có hiệu quả hoạt tính chống ung thư tuyệt vời đối với ung thư phổi.

Ngoài ra, dòng tế bào ung thư tuyến tụy AsPC-1 được điều trị bằng tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28, môi trường nuôi cấy tế bào sống, hoặc dịch nổi tế bào chết được bào chế theo Ví dụ 1, và tốc độ phát triển của tế bào được đo. Các kết quả được thể hiện trên Fig.2.

Như thể hiện trên Fig.2, đã xác nhận được rằng tốc độ phát triển tế bào của dòng tế bào ung thư tuyến tụy AsPC-1 sau khi điều trị bằng tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28, môi trường nuôi cấy tế bào sống, hoặc dịch nổi tế bào chết được giảm lần lượt là 75,7%, 33,7% và 12,8%. Có thể khẳng định rằng chủng *Weissella cibaria* WIKIM28 có hiệu quả hoạt tính chống ung thư tuyệt vời đối với ung thư tuyến tụy.

Ngoài ra, dòng tế bào ung thư bàng quang T24 được điều trị bằng tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28, môi trường nuôi cấy tế bào sống, hoặc dịch nổi tế bào chết, và tốc độ phát triển của tế bào được đo. Các kết quả được thể hiện trên Fig.3.

Như thể hiện trên Fig.3, đã xác nhận được rằng tốc độ phát triển tế bào của dòng tế bào ung thư bàng quang T24 sau khi điều trị bằng tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28, môi trường nuôi cấy tế bào sống, hoặc dịch nổi tế bào chết được giảm lần

lượt là 61,2%, 62,7% và 20,5%. Có thể khẳng định rằng chủng *Weissella cibaria* WIKIM28 có hiệu quả hoạt tính chống ung thư tuyệt vời đối với ung thư bàng quang.

Ngoài ra, các dòng tế bào u melanin B16-F10, A375P và A375SM được điều trị bằng tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28, môi trường nuôi cấy tế bào sống, hoặc dịch nổi tế bào chết, và tốc độ phát triển tế bào được đo. Các kết quả được thể hiện trên Fig.4.

Như thể hiện trên Fig.4, sau khi điều trị bằng tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28, môi trường nuôi cấy tế bào sống, hoặc dịch nổi tế bào chết, tốc độ phát triển của tế bào được đo. Kết quả là đã xác nhận được rằng tốc độ phát triển tế bào của dòng tế bào B16-F10 bằng tế bào hoặc môi trường nuôi cấy tế bào sống là giảm lần lượt 84,5% và 53,3%, tốc độ phát triển tế bào của dòng tế bào A375P bởi tế bào, môi trường nuôi cấy tế bào sống, hoặc dịch nổi tế bào chết đã giảm lần lượt là 35,8%, 70,4% và 42,4%, và tốc độ phát triển tế bào của dòng tế bào A375SM bởi tế bào, môi trường nuôi cấy tế bào sống hoặc dịch nổi tế bào chết đã giảm lần lượt là 24,9%, 79,6% và 37,2%.

Từ các kết quả này, có thể khẳng định rằng chủng *Weissella cibaria* WIKIM28 có hiệu quả hoạt tính chống ung thư tuyệt vời đối với u melanin và ung thư da.

Ngược lại với thí nghiệm trên, các dòng tế bào thường NIH/3T3 được điều trị bằng các tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28 đã bào chế theo Ví dụ 1, và kết quả đo tốc độ phát triển của tế bào được thể hiện trên Fig.5.

Như thể hiện trên Fig.5, đã xác định được rằng tốc độ phát triển tế bào của dòng tế bào thường NIH/3T3 được tăng 75,9% so với đối chứng không được điều trị bằng tế bào *Weissella cibaria* WIKIM28, cho thấy rằng dòng tế bào thường không có độc tính.

[Số truy cập]

Tên tổ chức ký gửi: Trung tâm Nuôi Cấy Vi sinh vật Hàn Quốc (Nước ngoài)

Số truy cập: KCCM11879P

Ngày ký gửi: 08/10/2015

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm để phòng ngừa hoặc điều trị ung thư phổi, ung thư tuyến tụy, ung thư bàng quang, ung thư da hoặc khối u ác tính, dược phẩm này chứa *Weissella cibaria* WIKIM28 (số truy cập: KCCM11879P) hoặc giống cây của nó làm thành phần hoạt tính.
2. Dược phẩm để phòng ngừa hoặc điều trị ung thư theo điểm 1, trong đó *Weissella cibaria* WIKIM28 có trình tự axit nucleic được nêu trong SEQ ID NO: 1.
3. Dược phẩm để phòng ngừa hoặc điều trị ung thư theo điểm 1, trong đó *Weissella cibaria* WIKIM28 ở dạng tế bào sống hoặc tế bào chết.
4. Dược phẩm để phòng ngừa hoặc điều trị ung thư theo điểm 1, trong đó môi trường nuôi cấy là môi trường nuôi cấy tế bào sống hoặc dịch nổi tế bào chết.
5. Dược phẩm để phòng ngừa hoặc điều trị ung thư theo điểm 3, trong đó tế bào chết được nuôi cấy cố định ở trong khoảng từ 25°C đến 37°C trong 4 giờ đến 48 giờ.
6. Chế phẩm thực phẩm để phòng ngừa hoặc cải thiện ung thư phổi, ung thư tuyến tụy, ung thư bàng quang, ung thư da hoặc khối u ác tính, chế phẩm này chứa chủng *Weissella cibaria* WIKIM28 (số truy cập: KCCM11879P) hoặc giống cây của nó làm thành phần hoạt tính.
7. Chế phẩm thực phẩm để phòng ngừa hoặc cải thiện ung thư theo điểm 6, trong đó thực phẩm là bất kỳ thực phẩm nào được chọn từ nhóm bao gồm bánh mì, bánh gạo, kẹo, sô cô la, kẹo cao su, kem, sữa, pho mát, các sản phẩm thịt đã qua chế biến, các sản phẩm thịt cá đã chế biến, kim chi, nước tương, tương đậu nành, tương ớt đỏ, tương đen, súp đậu nành (cheonggukjang), giấm, tương cà, cà ri, nước xốt, đồ uống và sữa lên men.
8. Chế phẩm phụ gia thực phẩm để phòng ngừa hoặc cải thiện ung thư phổi, ung thư tuyến tụy, ung thư bàng quang, ung thư da hoặc khối u ác tính, chế phẩm này chứa chủng *Weissella cibaria* WIKIM28 (số truy cập: KCCM11879P) hoặc giống cây của nó làm thành phần hoạt tính.
9. Chế phẩm thức ăn chăn nuôi để phòng ngừa hoặc cải thiện ung thư phổi, ung thư tuyến tụy, ung thư bàng quang, ung thư da hoặc khối u ác tính ở vật nuôi, chế phẩm này chứa chủng *Weissella cibaria* WIKIM28 (số truy cập: KCCM11879P) hoặc giống

cấy của nó làm thành phần hoạt tính.

10. Chế phẩm phụ gia thức ăn chăn nuôi để phòng ngừa hoặc cải thiện ung thư phổi, ung thư tuyến tụy, ung thư bàng quang, ung thư da hoặc khối u ác tính ở vật nuôi, chế phẩm này chứa chủng *Weissella cibaria* WIKIM28 (số truy cập: KCCM11879P) hoặc giống cấy của nó làm thành phần hoạt tính.

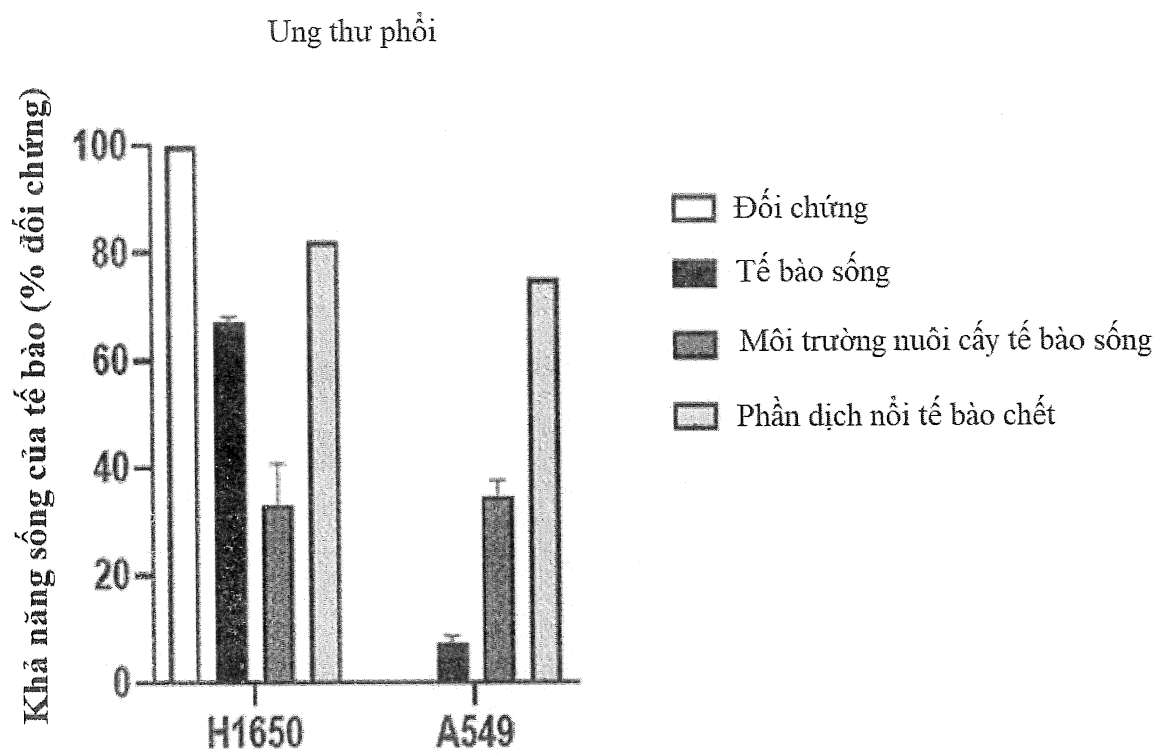


Fig. 1

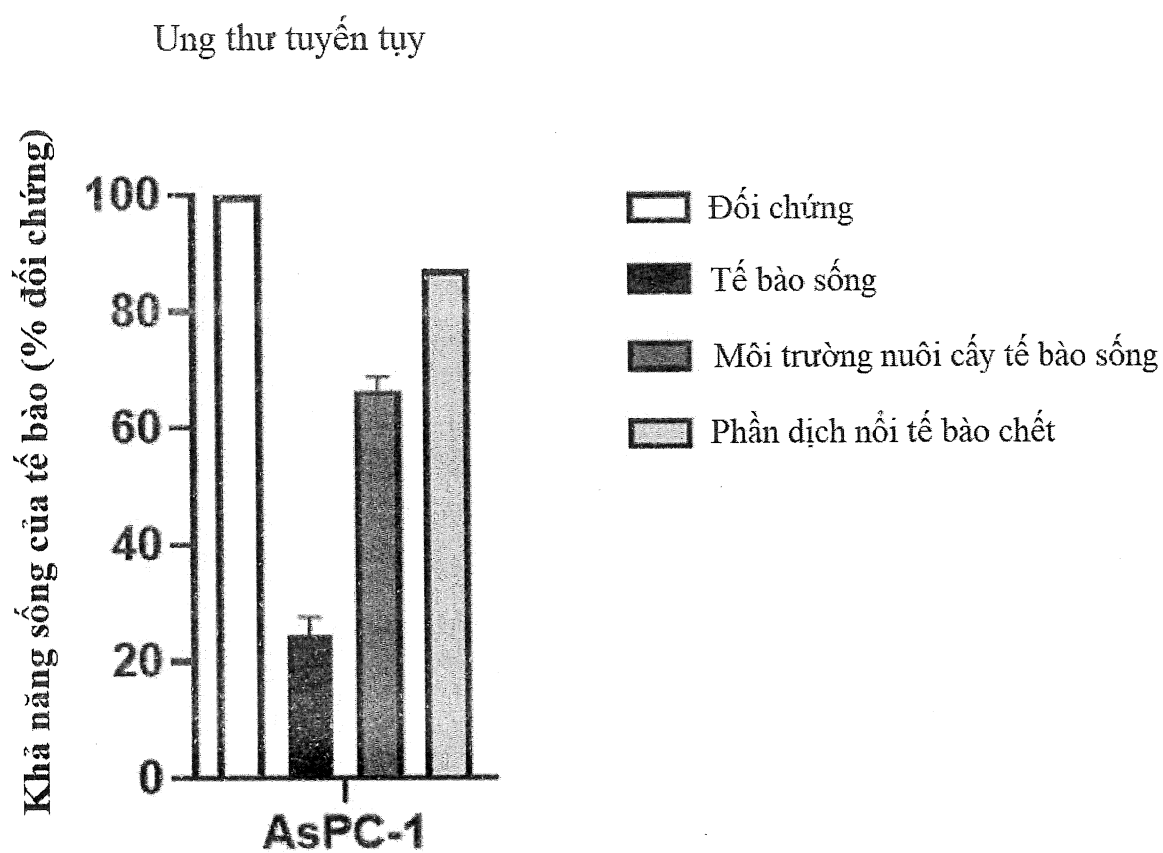


Fig. 2

Ung thư bàng quang

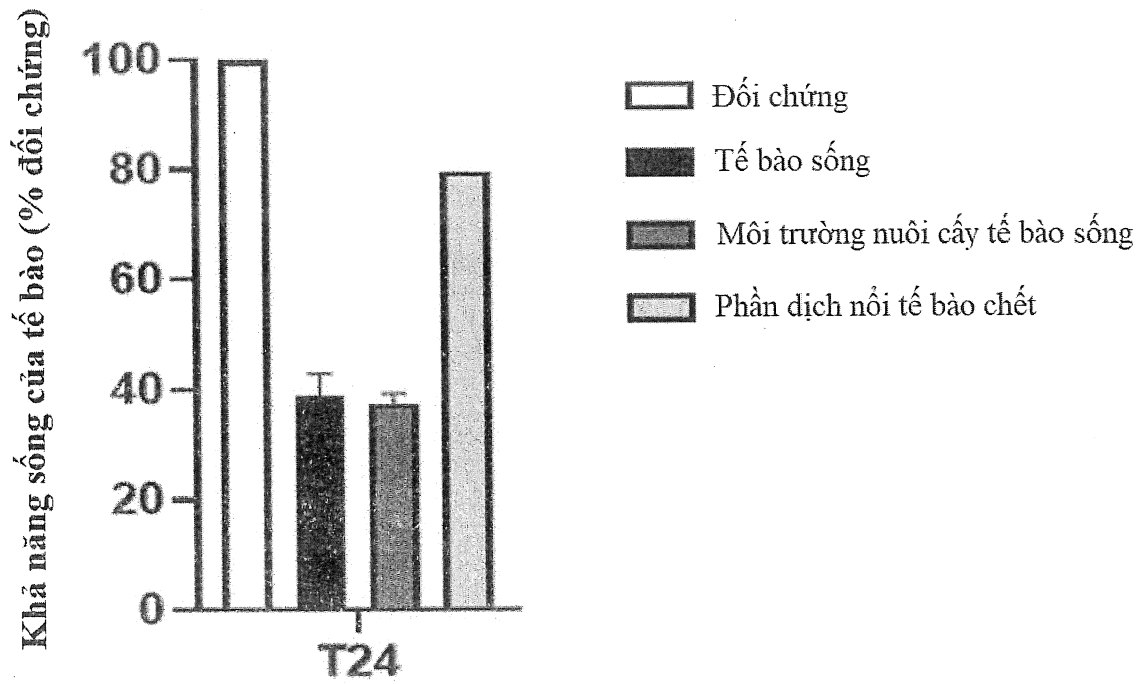


Fig. 3

U melanin

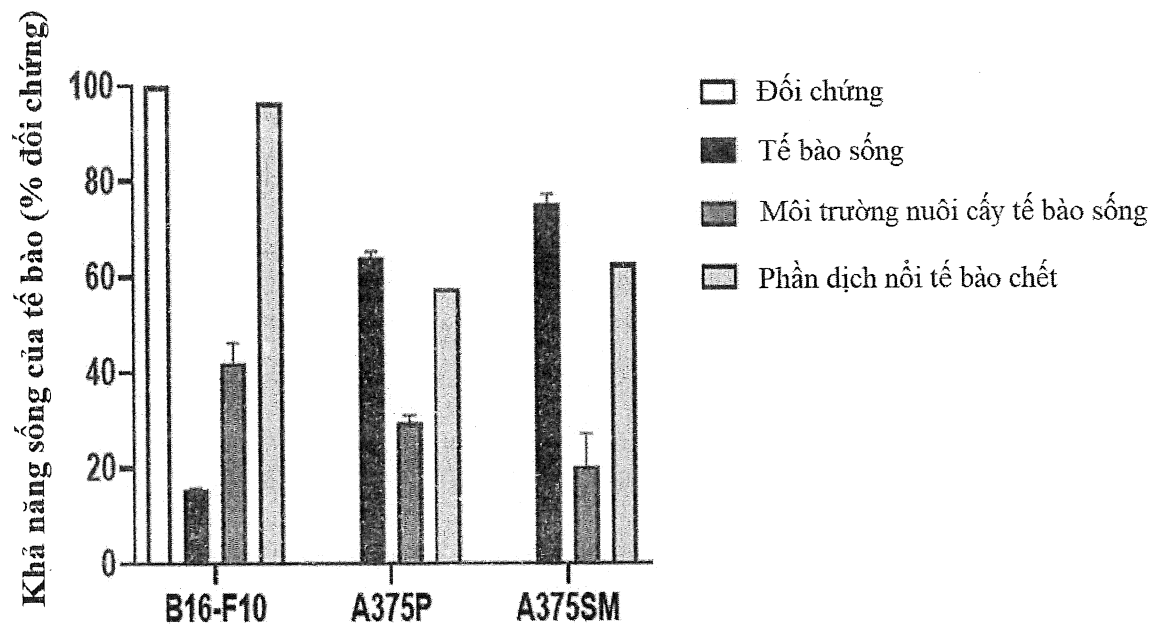


Fig. 4

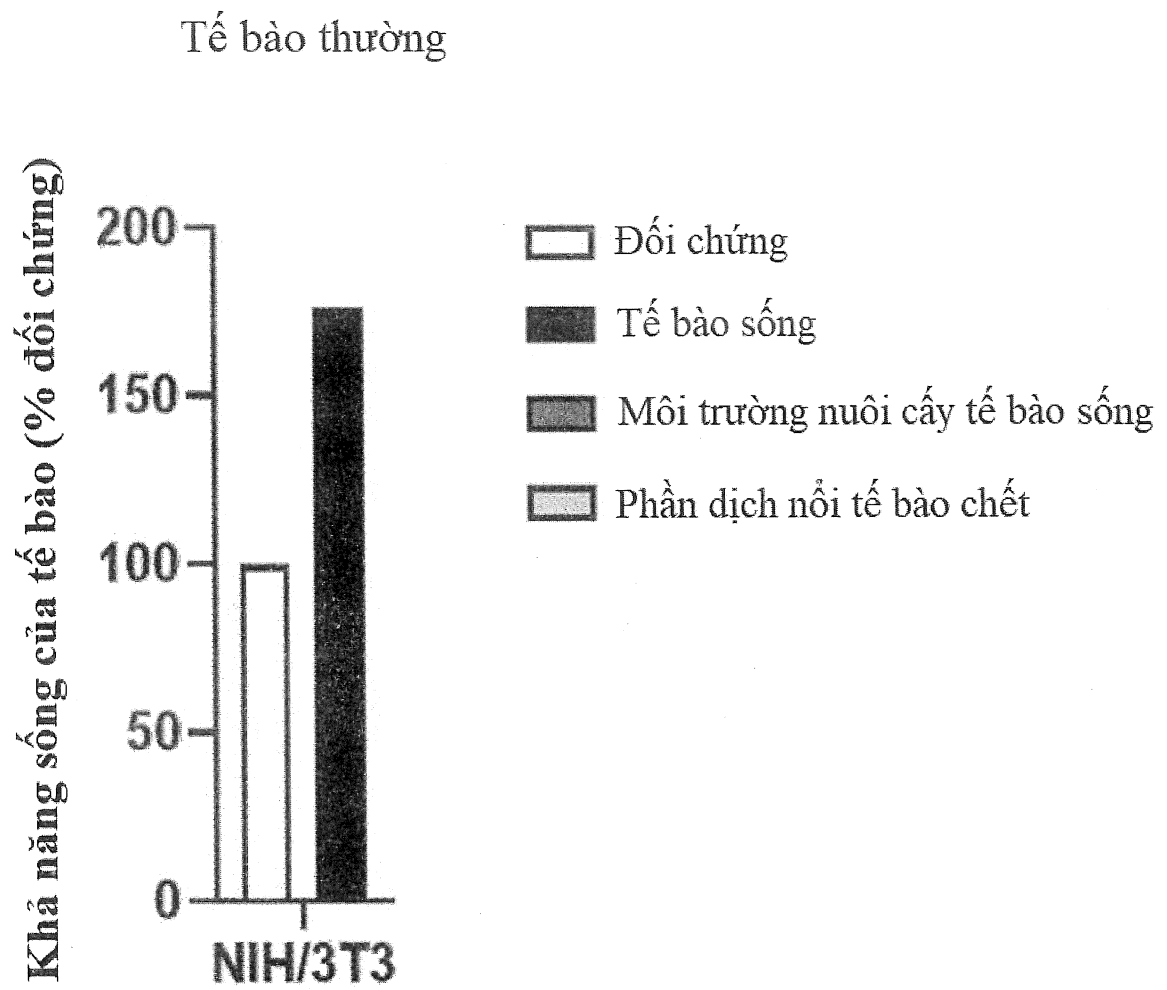


Fig. 5