



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

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

(11)



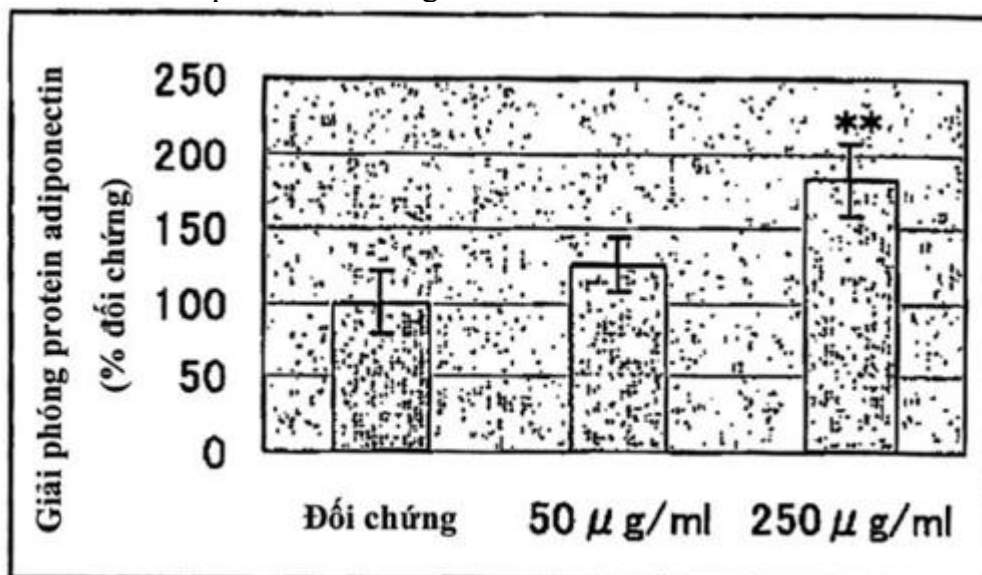
1-0023477

(51)⁷ A61K 35/60; A61K 38/17; A61P 9/10; (13) B
A61P 3/04; A61P 3/10; A61P 43/00;
A61K 36/06; A61P 13/12

(21) 1-2012-03188 (22) 13/05/2011
(86) PCT/JP2011/002678 13/05/2011 (87) WO2011/145307 24/11/2011
(30) 2010-117264 21/05/2010 JP
(45) 27/04/2020 385 (43) 25/03/2013 300A
(73) Final Future International, Inc. (JP)
2-5-11, Higashisakura, Higashi-ku, Nagoya-shi Aichi 4610005, Japan
(72) XU, Shanhua (CN)
(74) Công ty TNHH Tâm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) CHẾ PHẨM THỨC ĐẨY QUÁ TRÌNH SẢN XUẤT ADIPONECTIN

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm ăn được qua đường miệng thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin và không có các vấn đề về an toàn như tác dụng phụ và độc tính. Chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin được tạo ra gồm chất chiết sẹ cá hồi, chất chiết nấm men bia, collagen của loài chim, và nấm men chứa khoáng chất và có hoạt tính thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin. Tốt hơn là, chất chiết sẹ cá hồi có chứa các thành phần phân tử lượng thấp thu được bằng cách phân hủy sẹ cá hồi bằng enzyme thành các oligonucleotit và oligopeptit. Tốt hơn là, chất chiết nấm men bia gồm từ 50 đến 80% ARN. Tốt hơn là, nấm men chứa khoáng chất chứa, trong nấm men khô, từ 2 đến 3% kẽm, từ 0,3 đến 0,5% đồng, và từ 0,01 đến 0,02% selen. Tốt hơn là, chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin gồm từ 16 đến 17 phần khối lượng là chất chiết nấm men bia, 33 đến 34 phần khối lượng là collagen của loài chim, và 22 đến 23 phần khối lượng là nấm men chứa khoáng chất với mỗi 100 phần khối lượng của chất chiết sẹ cá hồi.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin, và cụ thể hơn là đến chất thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin chứa chất chiết sẹ cá hồi, chất chiết nấm men bia, collagen của loài chim (collagen của gà), và nấm men chứa khoáng chất (chứa Zn, Se, và Cu).

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Adiponectin là hoocmon gồm 244 axit amin, được tiết ra từ mô mỡ. Nó được tách ra từ mô mỡ của người vào năm 1996. Adiponectin là protein tiết đặc hiệu đối với mô mỡ (Tài liệu không phải tài liệu sáng chế 2), và nó không chỉ có mặt trong mô mỡ mà cả trong máu với lượng lớn (từ 5 đến 10 μ g/ml ở người khỏe mạnh) (Tài liệu không phải tài liệu sáng chế 3). Adiponectin được biết là thúc đẩy quá trình đốt cháy mỡ và hấp thu đường trong cơ xương và gan bằng cách hoạt hóa AMP kinaza (protein kinaza được hoạt hóa bởi AMP: AMPK). Đã biết rằng adiponectin này được tiết với lượng lớn từ các tế bào tạo mỡ nhỏ; tuy nhiên, lượng tiết bị giảm theo kích thước to dần của các tế bào tạo mỡ.

Adiponectin còn được biết đến như là một adipoxytokin có lợi, giúp ức chế chứng xơ cứng động mạch. Liên quan đến các adipoxytokin, ngoài các adipoxytokin có lợi đã nêu ở trên, còn có các adipoxytokin có hại như PAI-1 và TNF- α , thúc đẩy chứng xơ cứng động mạch. Ở trạng thái bình thường, lượng tiết của các adipoxytokin có lợi và có hại là cân bằng. Tuy nhiên, khi các tế bào tạo mỡ to lên do chứng béo phì và các chứng bệnh tương tự, lượng tiết của các adipoxytokin có lợi giảm, trong khi các adipoxytokin có hại lại được tiết quá mức. Kết quả là, sự cân bằng giữa các adipoxytokin này bị phá vỡ, dẫn đến sự phát triển của các bệnh liên quan đến lối sống như bệnh tiểu đường typ II và chứng xơ cứng động mạch.

Như đã mô tả ở trên, adiponectin có liên quan đến chứng béo phì và các bệnh liên quan đến lối sống do chứng béo phì gây ra, và được cho là sự hoạt hóa adiponectin này có tác dụng ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh liên quan đến lối sống.

Ngoài ra, adiponectin còn được biết là có tác dụng ức chế bệnh xơ gan. Adiponectin đã được chỉ ra là có phạm vi tác dụng rộng như cải thiện bệnh cao huyết áp, cải thiện quá trình chuyển hóa chất béo, và cải thiện độ nhạy insulin, tác dụng kháng viêm, ức chế bệnh xơ gan, tác dụng tạo thuận lợi cho sự tăng sinh các tế bào gan bình thường (Tài liệu sáng chế 1), và tác dụng kháng viêm (Tài liệu sáng chế 2) (Tài liệu sáng chế 2 đến 5), đưa ra gợi ý rằng thuốc, đồ uống, hoặc thực phẩm làm tăng nồng độ adiponectin trong máu có hoạt tính ngăn ngừa hoặc cải thiện các hội chứng về chuyển hóa.

Trong bối cảnh này, dẫn xuất thiazolidin được biết là thuốc làm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin. Tuy nhiên, dẫn xuất thiazolidin này có thể gây ra các tác dụng phụ như các triệu chứng về tiêu hóa như tiêu chảy, táo bón, và cảm giác buồn nôn cũng như là sự rối loạn chức năng gan.

Ngoài ra, một số hợp chất hoặc thành phần thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin cũng được đề xuất. Ví dụ, tài liệu sáng chế 6 bộc lộ N-axetylxcystein làm tăng mức biểu hiện adiponectin trong các tế bào tạo mỡ, và apoxynin làm tăng nồng độ adiponectin trong huyết thanh và cả mức biểu hiện adiponectin trong mô mỡ. Tài liệu sáng chế 7 bộc lộ hợp chất gingerol làm tăng cường quá trình sản xuất adiponectin, và tài liệu sáng chế 8 bộc lộ quả lý gai (amla) hoặc chất chiết của nó làm tăng cường quá trình sản xuất adiponectin. Ngoài các chất này, chất thúc đẩy tốt quá trình sản xuất adiponectin vẫn được yêu cầu. Do đó, trong điều kiện hiện nay trong đó các biện pháp đối phó chống lại hội chứng chuyển hóa trở thành vấn đề của xã hội, việc phát triển chất an toàn mà có tác dụng thúc đẩy và tăng cường quá trình sản xuất *in vivo* adiponectin được yêu cầu.

Tài liệu kỹ thuật liên quan đã biết

Tài liệu sáng chế:

Tài liệu sáng chế 1: đơn Nhật số JP 2002-363094

Tài liệu sáng chế 2: đơn Nhật số JP 2000-256208

Tài liệu sáng chế 3: patent Nhật số JP 3018186

Tài liệu sáng chế 4: đơn Mỹ số US 2002/0132773

Tài liệu sáng chế 5: đơn Nhật số JP 2005-325072

Tài liệu sáng chế 6: đơn Nhật số JP 2005-232059

Tài liệu sáng chế 7: đơn Nhật số JP 2006-45210

Tài liệu sáng chế 8: đơn Nhật số JP 2006-56836

Tài liệu không phải tài liệu sáng chế:

Tài liệu 1: Kimie Baba et al., Foods & Food Ingredients Journal of Japan, No. 178, trang 52 đến 60 (1998).

Tài liệu 2: Maeda K et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 221: 286 (1996).

Tài liệu 3: Arita Y et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 257: 79 to 83 (1999).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm có thể ăn được qua đường miệng mà thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin và không có các vấn đề về an toàn như tác dụng phụ và độc tính.

Tác giả sáng chế đã nghiên cứu nhiều nguyên liệu thô từ thực phẩm để sản xuất adiponectin. Kết quả là, tác giả sáng chế đã tìm ra rằng hỗn hợp được tạo ra bằng cách kết hợp chất chiết sẹ cá hồi, chất chiết nấm men bia, collagen của loài chim (collagen của gà), và nấm men chứa khoáng chất (chứa Zn, Se, và Cu) cho thấy khả năng thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin rất tốt, nhờ đó hoàn thành sáng chế.

Cụ thể, sáng chế đề cập đến:

1. Chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin chứa chất chiết sẹ cá hồi, chất chiết nấm men bia, collagen của loài chim, và nấm men chứa khoáng chất và có hoạt tính thúc đẩy sản xuất adiponectin.

2. Chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo mục 1, trong đó chất chiết sẹ cá hồi chứa các thành phần có phân tử lượng thấp thu được bằng cách xử lý sẹ cá hồi bằng enzyme để phân hủy thành các oligonucleotit và oligopeptit.

3. Chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo mục 1 hoặc 2, trong đó chất chiết nấm men bia chứa từ 50 đến 80% ARN.

4. Chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 3, trong đó nấm men chứa khoáng chất gồm, từ 2 đến 3% kẽm, từ 0,3 đến 0,5% đồng, và từ 0,01 đến 0,02% selen trong nấm men khô.

5. Chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo mục bất kỳ trong số các mục từ 1 đến 4, trong đó chế phẩm này chứa từ 16 đến 17 phần khối lượng là chất chiết nấm men bia, 33 đến 34 phần khối lượng là collagen của loài chim, và 22 đến 23 phần khối lượng là nấm men chứa khoáng chất với mỗi 100 phần khối lượng của chất chiết sẹ cá hồi.

Chất thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo sáng chế chủ yếu là gồm chất chiết sẹ cá hồi. Mặc dù không thành phần nào trong số chất chiết nấm men bia, collagen của loài chim, và nấm men chứa khoáng chất được biết là có khả năng tự nó sản xuất adiponectin, nhưng khi được trộn với nhau, các thành phần này đạt được tác dụng tạo thuận lợi rất tốt đối với quá trình sản xuất adiponectin. Chất thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo sáng chế có hiệu quả cải thiện, điều trị, hoặc ngăn ngừa bệnh tiểu đường, chứng béo phì, chứng xơ cứng động mạch, các triệu chứng có thể quy cho là do các bệnh này như các biến chứng của bệnh tiểu đường (như bệnh võng mạc tiểu đường, bệnh thần kinh do tiểu đường, và bệnh thận do tiểu đường), nhồi máu não, nhồi máu cơ tim, và xơ cứng thận.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig.1 là đồ thị thể hiện kết quả đo nồng độ của adiponectin tiết ra trong chất nổi bề mặt môi trường nuôi cấy của các tế bào tạo mỡ sử dụng chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo sáng chế không bị giới hạn cụ thể miễn là nó là chế phẩm chứa chất chiết sẹ cá hồi, chất chiết nấm men bia, collagen của loài chim, và nấm men chứa khoáng chất, và có hoạt tính thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin. Ở đây, hoạt tính thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin

chi hoạt tính thúc đẩy sự tiết adiponectin, là yếu tố điều tiết quan trọng trong cơ chế chuyển hóa đường, cơ chế chuyển hóa chất béo, và các cơ chế tương tự, và làm tăng lượng adiponectin trong cơ thể, cụ thể là trong máu.

Mặc dù chất chiết sẹ cá hồi đã nêu ở trên không bị giới hạn cụ thể miễn là nó có thể được sử dụng dưới dạng thực phẩm, vẫn ưu tiên chất chiết sẹ cá hồi chứa các thành phần phân tử lượng thấp thu được bằng cách phân hủy sẹ cá hồi bằng enzym thành các oligonucleotit và oligopeptit. Cụ thể, chất chiết sẹ cá hồi chứa các oligonucleotit có phân tử lượng nằm trong khoảng từ 1000 đến 3000 và từ 20 đến 70% oligopeptit được ưu tiên. Chất chiết sẹ cá hồi có thể thu được từ, ví dụ, L·S Factory Co., Ltd.

Ngoài ra, chất chiết sẹ cá hồi nói trên còn có thể thu được theo phương pháp được nêu trong đơn sáng chế Nhật chưa được xét nghiệm số công bố 2004-16143. Tức là, sau khi bỏ da, mô sợi, tĩnh mạch, và các phần tương tự ra khỏi sẹ cá hồi, sẹ thu được được loại dầu bằng cách tinh chế, và sau đó được xử lý bằng proteaza và nucleaza. Proteaza nói trên chủ yếu là gồm tripsin. Tripsin là proteaza serin có tính đặc hiệu cao, thủy phân có chọn lọc liên kết peptit ở phía carboxyl của arginin và lysin. Do đó, nó thích hợp để thủy phân protamin giàu arginin. Ngoài ra, proteaza nói trên còn có thể gồm, ngoài tripsin, các proteaza khác như kimotripsin. Ví dụ về các proteaza thích hợp có thể gồm các proteaza do Novo Nordisk Bioindustry Ltd. sản xuất. Ngoài ra, nhiệt độ tại đó phản ứng thủy phân bởi nucleaza được thực hiện nằm trong khoảng từ 60 đến 75°C, trong đó nhiệt độ 70°C là nhiệt độ được ưu tiên nhất. Mặc dù thứ tự xử lý bằng proteaza và xử lý bằng nucleaza không bị giới hạn cụ thể, ưu tiên thực hiện việc xử lý bằng proteaza trước, sau đó xử lý bằng nucleaza.

Mặc dù chất chiết nấm men bia nêu trên không bị giới hạn cụ thể miễn là nó có thể được sử dụng làm thực phẩm, chất chiết nấm men bia chứa từ 50 đến 80% ARN được ưu tiên. Chất chiết nấm men bia này có thể thu được từ, ví dụ, L·S Factory Co., Ltd.

Mặc dù collagen của loài chim (collagen của gà) nêu trên không bị giới hạn cụ thể, vẫn tốt hơn nếu sử dụng collagen mà được dùng làm thực phẩm. Ví dụ ưu tiên có thể gồm collagen của loài chim được sản xuất bởi L·S Factory Co., Ltd.

Mặc dù nấm men chứa khoáng chất nêu trên không bị giới hạn cụ thể miễn là nó là nấm men bánh mỳ có hàm lượng khoáng tăng, nấm men chứa, trong nấm men khô, từ 2 đến 3% kẽm được ưu tiên, và trong số các nấm men này, nấm men khoáng chất chứa, trong nấm men khô, từ 2 đến 3% kẽm, từ 0,3 đến 0,5% đồng, và từ 0,01 đến 0,02% selen có thể được sử dụng. Nấm men chứa khoáng chất có thể thu được từ L·S Factory Co., Ltd và tương tự. Ngoài ra, nấm men chứa khoáng chất này có thể thu được bằng cách trộn nấm men chứa kẽm có hàm lượng kẽm cao, nấm men chứa đồng có hàm lượng đồng cao, và nấm men chứa selen có hàm lượng selen cao. Mỗi trong số nấm men có hàm lượng khoáng chất cao nêu trên có thể thu được từ L·S Factory Co., Ltd và tương tự.

Ngoài ra, đối với tỷ lệ trộn của chất chiết sẹ cá hồi, chất chiết nấm men bia, collagen của loài chim, và nấm men chứa khoáng chất trong chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo sáng chế, các ví dụ ưu tiên có thể bao gồm chế phẩm có chứa từ 10 đến 25 phần khối lượng, tốt hơn là từ 16 đến 17 phần khối lượng là chất chiết nấm men bia, từ 25 đến 40 phần khối lượng, tốt hơn là từ 33 đến 34 phần khối lượng là collagen của loài chim, và từ 15 đến 30 phần khối lượng, tốt hơn là từ 22 đến 23 phần khối lượng là nấm men chứa khoáng chất, với mỗi 100 phần khối lượng của chất chiết sẹ cá hồi.

Chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo sáng chế có thể chứa các thành phần bổ sung khác trong chế phẩm, như chất mang được dùng thông thường, chất gắn kết, chất ổn định, tá dược, chất pha loãng, chất đệm pH, chất gây rã, chất hòa tan, chất trợ hòa tan, hoặc chất đẳng trương, hoặc được sử dụng kết hợp với thuốc trị liệu như các chất thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin khác.

Chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo sáng chế có thể được sử dụng làm sản phẩm được, chất bổ sung, thực phẩm, thức ăn cho động vật, v.v. mà hữu dụng để điều trị hoặc ngăn ngừa các bệnh do quá trình sản xuất adiponectin giảm

gây ra. Liều hoặc lượng hấp thu hàng ngày với mỗi người lớn tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,1 đến 10g, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 5g.

Loại sản phẩm thực phẩm hoặc nguyên liệu thô từ thực phẩm mà chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo sáng chế có thể được ứng dụng vào đó không bị giới hạn cụ thể. Ví dụ của nó có thể bao gồm nhiều loại đồ uống như sữa chua, sữa chua uống, nước ép trái cây, sữa, sữa đậu nành, rượu, cà phê, trà, sencha (trà xanh), trà ô long, và đồ uống trong thể thao, bánh mì và bánh mứt kẹo như các loại bánh như bánh put-đỉnh, bánh quy, bánh mì, bánh ngọt, thạch, và bánh gạo, bánh mứt kẹo truyền thống của Nhật như yokan (bột đậu đỏ đông ngọt), bánh mứt kẹo lạnh hoặc đông lạnh, và kẹo cao su, mì như mì udon (mì được làm từ bột lúa mì) và mì soba (mì được làm từ bột kiều mạch), sản phẩm bột cá đã chế biến như kamaboko (bột cá hóa rắn), giấm bông, và xúc xích thịt cá, các loại gia vị như miso (bột đậu nành), xì dầu, đồ gia vị, sốt mayone, và chất tạo ngọt, sản phẩm từ sữa như phomat và bơ, đậu phụ, thạch rau câu, và ngoài ra, các loại sản phẩm thực phẩm ăn liền như tsukudani (nguyên liệu thực phẩm được làm ngọt được đun sôi trong xì dầu), bánh bao, chả rán bọc trứng bột, và salat. Ngoài ra, có thể trộn thêm các thành phần dưỡng chất bổ sung như vitamin và khoáng chất vào các sản phẩm thực phẩm và nguyên liệu thô từ thực phẩm mà được ứng dụng chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin khi cần. Khi chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo sáng chế được ứng dụng cho sản phẩm thực phẩm hoặc thức ăn cho động vật, bao gói hoặc tờ hướng dẫn sử dụng gắn kèm của sản phẩm thực phẩm hoặc nguyên liệu thô từ thực phẩm, thức ăn cho động vật hoặc nguyên liệu thô từ thức ăn cho động vật nói trên có thể thể hiện rằng sản phẩm này có hoạt tính thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin.

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả cụ thể với việc tham khảo các ví dụ; tuy nhiên, phạm vi kỹ thuật của sáng chế không bị giới hạn bởi các ví dụ này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Chuẩn bị mẫu

Trong PBS, 60mg chất chiết sẹ cá hồi ("Nuclegen" được sản xuất bởi L·S Factory Co., Ltd), 10mg chất chiết nấm men bia ("ARN chất chiết nấm men bia " được sản xuất bởi L·S Factory Co., Ltd), 20mg collagen ("Collagen của gà" được sản xuất bởi L·S Factory Co., Ltd), và 13,5mg nấm men chứa khoáng chất ("nấm men chứa khoáng chất hỗn hợp C" được sản xuất bởi L·S Factory Co., Ltd) được tạo huyền phù và thu được ở 2,5mg/ml, và dung dịch thu được được lọc qua bộ lọc kích thước lỗ là 0,45 μ m. Sử dụng dịch lọc thu được từ đó, mẫu được đánh giá ở các nồng độ được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1

Thành phần	Mẫu 1 (μ g/ml)	Mẫu 2 (μ g/ml)	Mẫu 3 (μ g/ml)
Chất chiết sẹ cá hồi	0	29	145
Chất chiết nấm men bia	0	4,8	24
Collagen	0	9,7	48,5
Nấm men chứa khoáng chất	0	6,5	32,5
Tổng	0	50	250

Tác dụng tạo thuận lợi cho quá trình sản xuất adiponectin

(1) Môi trường nuôi cấy và môi trường cấy chuyển tế bào 3T3-L1

Sau khi nuôi cấy tế bào 3T3-L1 (nguyên bào sợi của chuột nhắt) trong môi trường Eagle biến đổi Dulbecco có chứa 10% huyết thanh bê mới sinh (CS-DMEM) để nhập dòng, môi trường này trong bình nuôi cấy được loại bỏ, sau đó rửa hai lần bằng PBS (-). Sau đó, tế bào được tách ra từ đáy bình nuôi cấy bằng cách bổ sung dung dịch trypsin-EDTA 0,1%, và chuyển tế bào đã tách cùng với dung dịch trypsin-EDTA 0,1% vào ống ly tâm. Cho vào ống ly tâm này lượng ngang bằng của CS-DMEM 10%, sau đó ly tâm ở tốc độ 1500 vòng/phút trong năm phút. Sau đó, tế bào được làm đồng nhất trong FCS-DMEM 10%, được gieo vào bình tam giác, và sau đó đặt vào trong tủ nuôi có CO₂. Sau đó, các tế bào này được nuôi cấy trong điều kiện 5% CO₂ ở nhiệt độ 37°C.

(2) Kích thích sự biệt hóa thành các tế bào tạo mỡ

Tế bào 3T3-L1 được nuôi cấy trong CS-DMEM 10%, và hai ngày sau khi tế bào đạt được sự nhập dòng, môi trường được trao đổi với môi trường biệt hóa 1, sau đó

nuôi cấy thêm hai ngày nữa. Sau đó, môi trường này được trao đổi với môi trường biệt hóa 2, sau đó nuôi cấy thêm hai ngày nữa. Để kích thích sự biệt hóa thành các tế bào tạo mỡ, môi trường biệt hóa 1 và 2 được sử dụng.

Môi trường biệt hóa 1 là DMEM được bổ sung FBS 10%, isobutyl-1-methylxanthin (IBMX) 0,5mM, dexamethason (DEX) 1 μ M, và insulin 10 μ g/ml. Môi trường biệt hóa 1 được điều chế bằng cách pha loãng hỗn hợp gồm insulin 10mg/ml, IBMX 500mM, và DEX 1mM với FCS-DMEM 10%. Ngoài ra, môi trường biệt hóa 2 là DMEM được bổ sung FCS 10% và insulin 1 μ M. Môi trường biệt hóa 2 được điều chế bằng cách pha loãng insulin 10mg/ml với FCS-DMEM 10%.

(3) Đánh giá tác dụng tạo thuận lợi cho quá trình sản xuất adiponectin

Sau khi biệt hóa thành các tế bào tạo mỡ, môi trường được trao đổi với BSA-DMEM 0,1%, sau đó nuôi cấy trong 24 giờ. Sau đó, hỗn hợp được bổ sung sao cho nồng độ là 0 μ g/ml (Mẫu 1), 50 μ g/ml (Mẫu 2), hoặc 250 μ g/ml (Mẫu 3), sau đó ủ tiếp ở 37°C trong 48 giờ. Chất nổi bề mặt môi trường nuôi cấy được thu gom và lượng adiponectin trong chất nổi bề mặt được xác định bởi bộ kit ELISA adiponectin (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.). Kết quả thu được từ đó được thể hiện trên Fig.1, và các kết quả thể hiện dưới dạng số được trình bày trong Bảng 2.

Kết quả là, so với mẫu không chứa hỗn hợp (Mẫu 1), các mẫu chứa 50 μ g/ml và 250 μ g/ml hỗn hợp cho thấy sự tăng phụ thuộc nồng độ của nồng độ adiponectin. Đặt mẫu không chứa hỗn hợp (mẫu đối chứng) ở 100%, nồng độ adiponectin được tiết vào chất nổi bề mặt của môi trường nuôi cấy trong các mẫu có 50 μ g/ml và 250 μ g/ml hỗn hợp lần lượt là 126% và 183%, so với mẫu đối chứng (có sự khác biệt đáng kể với mức có nghĩa là 1%). Trong thử nghiệm này, khả năng sống sót không bị tác động ở bất kỳ nồng độ nào.

Bảng 2

	Lượng sản xuất adiponectin (% Đối chứng)
Mẫu 1 (0 μ g/ml): Đối chứng	100%
Mẫu 2 (50 μ g/ml)	126%
Mẫu 3 (250 μ g/ml)	183%

Ví dụ 2

Chất thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin sử dụng qua đường miệng (viên nén) được điều chế bằng cách trộn chất chiết sẹ cá hồi ("Nuclegen" được sản xuất bởi L·S Factory Co., Ltd), chất chiết nấm men bia ("ARN chất chiết nấm men bia " được sản xuất bởi L·S Factory Co., Ltd), collagen ("Collagen của gà" được sản xuất bởi L·S Factory Co., Ltd), nấm men chứa khoáng chất ("nấm men chứa khoáng chất hỗn hợp C" được sản xuất bởi L·S Factory Co., Ltd) ở tỷ lệ như được thể hiện trong Bảng 3, và bổ sung các vitamin khác.

Bảng 3

Thành phần	Trong 6 viên nén
Chất chiết sẹ cá hồi	600mg
Chất chiết nấm men bia	100mg
Collagen	200mg
Nấm men chứa khoáng chất	135mg

Khả năng ứng dụng trong công nghiệp

Chất thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo sáng chế thúc đẩy sự tiết adiponectin, là yếu tố điều tiết quan trọng đối với cơ chế chuyển hóa đường, cơ chế chuyển hóa chất béo, và các cơ chế tương tự, nhờ đó làm tăng lượng adiponectin trong cơ thể, cụ thể là trong máu. Chất thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo sáng chế có tác dụng cải thiện, điều trị, hoặc ngăn ngừa bệnh tiểu đường, chứng béo phì, chứng xơ cứng động mạch, và các triệu chứng được quy cho là do các bệnh này gây ra như các biến chứng của bệnh tiểu đường (như bệnh võng mạc tiểu đường, bệnh thần kinh do tiểu đường, và bệnh thận do tiểu đường), nhồi máu não, nhồi máu cơ tim, và xơ cứng thận. Chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin (chất thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin) theo sáng chế có thể được sử dụng làm sản phẩm được, chất bổ sung, thực phẩm, và các sản phẩm tương tự.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin chứa chất chiết sẹ cá hồi gồm các oligonucleotit có phân tử lượng nằm trong khoảng từ 1000 đến 3000 và từ 20 đến 70% oligopeptit, chất chiết nấm men bia chứa 50 đến 80% ARN, collagen của loài chim, và nấm men chứa khoáng chất, trong đó chế phẩm này chứa từ 16 đến 17 phần khối lượng chất chiết nấm men bia với mỗi 100 phần khối lượng chất chiết sẹ cá hồi, từ 33 đến 34 phần khối lượng collagen của loài chim với mỗi 100 phần khối lượng chất chiết sẹ cá hồi, và từ 22 đến 23 phần khối lượng nấm men chứa khoáng chất với mỗi 100 phần khối lượng chất chiết sẹ cá hồi và trong đó chế phẩm này có hoạt tính thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin.
2. Chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo điểm 1, trong đó chất chiết sẹ cá hồi gồm các thành phần phân tử lượng thấp thu được bằng cách xử lý sẹ cá hồi bằng enzym để phân hủy thành các oligonucleotit và oligopeptit.
3. Chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo điểm 1, trong đó nấm men chứa khoáng chất chứa từ 2 đến 3% kẽm, từ 0,3 đến 0,5% đồng, và từ 0,01 đến 0,02% selen trong nấm men khô.
4. Chế phẩm thúc đẩy quá trình sản xuất adiponectin theo điểm 2, trong đó nấm men chứa khoáng chất chứa từ 2 đến 3% kẽm, từ 0,3 đến 0,5% đồng, và từ 0,01 đến 0,02% selen trong nấm men khô.

FIG. 1

