



(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)



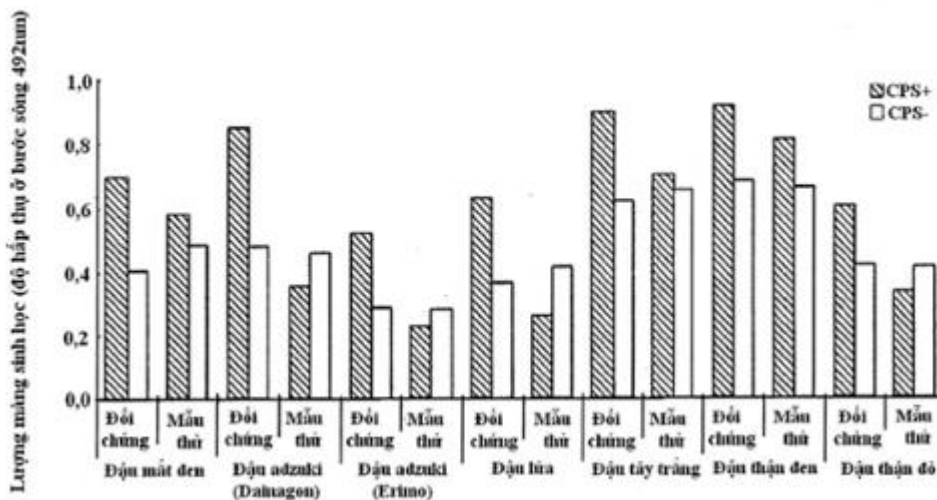
1-0024923

(51)⁷ A61K 45/00; A23L 1/30; A61K 36/48; (13) B
A61Q 11/00; A61K 8/97; A61P 1/02;
A61P 31/04; A23G 4/00

(21) 1-2013-01215 (22) 07/09/2011
 (86) PCT/JP2011/005002 07/09/2011 (87) WO2012/039101 29/03/2012
 (30) 2010-211023 21/09/2010 JP
 (45) 25/08/2020 389 (43) 26/08/2013 305A
 (73) LOTTE CO., LTD. (JP)
 20-1, Nishi-shinjuku 3-chome, Shinjuku-ku, Tokyo 1600023, Japan
 (72) TSUGANE, Takanori (JP); SAEKI, Yoji (JP).
 (74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) PHƯƠNG PHÁP BẢO CHẾ CHẾ PHẨM DÙNG QUA ĐƯỜNG MIỆNG

(57) Sáng chế đề cập đến phương pháp bảo chế chế phẩm dùng qua đường miệng ức chế hình thành mảng sinh học để ngăn ngừa bệnh sâu răng. Cụ thể, chế phẩm dùng qua đường miệng theo sáng chế cho phép ngăn ngừa hình thành mảng sinh học gây sâu răng bằng cách điều hòa khả năng nhận biết mật độ quần thể vi sinh vật trong miệng.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến phương pháp bào chế chế phẩm dùng qua đường miệng ức chế hình thành màng sinh học để ngăn ngừa bệnh sâu răng, cụ thể sáng chế đề cập đến chế phẩm dùng qua đường miệng sử dụng phương pháp mới để ức chế hình thành màng sinh học dựa trên khả năng nhận biết mật độ quần thể vi sinh vật trong miệng (quorum sensing).

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Vi sinh vật bám dính vào bề mặt vật chất không phải theo kiểu đơn lẻ mà nó cùng với các vi sinh vật khác tạo thành màng sinh học có cấu trúc đặc biệt. Màng sinh học có thể có lợi cho người, như trong trường hợp sử dụng các vi sinh vật cố định, nhưng nó cũng có thể là nguyên nhân gây bệnh sâu răng và nhiễm khuẩn do thực phẩm, do đó việc nghiên cứu chúng đã được tiến hành tích cực trong những năm gần đây.

Màng sinh học trong miệng được tạo ra bởi hơn 700 loài vi khuẩn và hơn 10^8 vi khuẩn có mặt trong 1mg *Streptococci*, loài chiếm đa số (từ 20% đến 40%) trong các vi khuẩn này, tạo ra màng sinh học nhờ sự giao tiếp năng động giữa các vi khuẩn qua tác dụng trung gian của các chất trong vùng giữa các vi khuẩn trên bề mặt khoang miệng. Cụ thể, *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) tạo ra polysaccharit ngoại bào dạng keo đóng vai trò chủ yếu trong sự hình thành màng sinh học gây bệnh. Màng sinh học trong miệng được biết là nguyên nhân gây bệnh sâu răng và bệnh nha chu và các bệnh này được xem, như là các bệnh nhiễm vi sinh vật gây ra bởi vi khuẩn bao gồm *S. mutans*.

Các phương pháp phòng ngừa bệnh sâu răng thường dựa trên nguyên tắc hàng đầu là bệnh sâu răng cần được ức chế bằng cách diệt trừ *S. mutans* hoặc ức chế các enzym, như glucosyltransferaza và các cách tương tự để ngăn ngừa sự tạo mảng bám. Tuy nhiên, trong thực tế, sự thâm thấu của các chất kháng khuẩn, các chất ức chế enzym, kháng sinh, hoặc các chất tương tự bị ngăn cản bởi các polysaccharit ngoại bào bao phủ bề mặt màng sinh học ở bệnh sâu răng do đó trong nhiều trường hợp không đạt được hiệu quả dự định. Ngoài ra, việc sử dụng các chất kháng khuẩn, các chất ức chế enzym, kháng sinh, hoặc các chất tương tự, luôn đi kèm với nguy cơ xuất hiện vi

khuẩn kháng thuốc. Mặc dù phương pháp ức chế màng sinh học bằng cách loại bỏ cơ học, như đánh răng hoặc lấy cao răng có thể được áp dụng, nhưng phương pháp này rất khó thực hiện để chăm sóc răng miệng một cách thích hợp cho người cao tuổi cần chăm sóc điều dưỡng, do không dễ dàng áp dụng phương pháp kiểm soát cơ học đối với màng sinh học trong miệng cho những người này.

Trước tình hình, như vậy, vẫn cần phát triển các phương pháp phi truyền thống nhằm loại bỏ màng sinh học và ngăn ngừa sâu răng. Tốt hơn nếu có thể thực hiện liên tục việc kiểm soát màng sinh học trong miệng, như một thói quen hàng ngày, do đó sẽ rất hữu hiệu nếu sử dụng chế phẩm dùng qua đường miệng, như vậy dưới dạng thực phẩm bao gồm gồm, v.v hoặc thuốc đánh răng.

Phương pháp ức chế khả năng nhận biết mật độ quần thể là một phương pháp loại bỏ màng sinh học trong miệng mới được đề xuất. Gần đây, đã phát hiện ra rằng khả năng nhận biết mật độ quần thể (quorum sensing - QS; hệ thống điều hòa sự biểu hiện gen phụ thuộc mật độ quần thể tế bào), cơ chế phân tử của hệ thống tải nạp tín hiệu giữa các vi khuẩn, có tác động đến sự hình thành màng sinh học và biểu hiện khả năng gây bệnh bởi *S. mutans* và QS ở *S. mutans* được kiểm soát bởi peptit kích thích hoạt tính (Competence Stimulating Peptide - CSP) - tác nhân tự cảm ứng. Gần đây, đã có các nghiên cứu khác nhau về phương pháp điều hòa quá trình hình thành màng sinh học và biểu hiện khả năng gây bệnh trên có sở QS, như vậy nhằm phát triển các phương pháp ngăn ngừa bệnh nhiễm vi sinh vật bao gồm các bệnh thuộc miệng, tuy nhiên những phương pháp này vẫn chưa được sử dụng trong thực tế.

Ví dụ, tài liệu phi sáng chế 1 bộc lộ vi khuẩn được gọi là *S. salivarius* ức chế hình thành màng sinh học bởi *S. mutans* và CSP có thể được điều hòa bởi sự biểu hiện của một gen đặc hiệu. Tuy nhiên, việc đưa vi sinh vật vào khoang miệng cần phải đảm bảo tính an toàn và việc điều hòa sự biểu hiện gen thường kèm theo nhiều khó khăn. Trong trường hợp, như vậy, việc phát triển một phương pháp an toàn hơn và đơn giản hơn để ức chế hình thành màng sinh học đang được mong đợi.

Tài liệu viện dẫn

Tài liệu phi sáng chế 1: *Oral Microbiology And Immunology*, 2009 24(2): pp152-61

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Trong các phương pháp ngăn ngừa bệnh sâu răng thông thường bằng chất kháng khuẩn, chất ức chế enzym, kháng sinh, hoặc các chất tương tự, polysacarit ngoại bào trong màng sinh học trong miệng ngăn cản sự thấm của chất kháng khuẩn, chất ức chế enzym, kháng sinh, hoặc các chất tương tự, do đó khó tạo ra hiệu quả mong đợi trong việc ngăn ngừa bệnh sâu răng. Hơn nữa, khi sử dụng chất kháng khuẩn, chất ức chế enzym, kháng sinh, hoặc các chất tương tự, thì sẽ tạo ra nguy cơ xuất hiện vi khuẩn kháng thuốc cao, do đó các chất này không được ưu tiên sử dụng. Do đó, mục tiêu của sáng chế là đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm dùng qua đường miệng an toàn và hiệu quả hơn để ngăn ngừa bệnh sâu răng bằng cách điều hòa quá trình hình thành màng sinh học do vi khuẩn gây bệnh sâu răng thay vì kiểm soát vi khuẩn gây bệnh sâu răng này. Cụ thể, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm dùng qua đường miệng ức chế hình thành màng sinh học, để kiểm soát mật độ quần thể của *Streptococcus mutans* được kiểm soát bởi peptit kích thích hoạt tính (Competence Stimulating Peptide - CSP), bao gồm bước trộn chiết xuất của ít nhất một hoặc nhiều cây đậu được chọn từ nhóm bao gồm đậu adzuki, đậu mắt đen, đậu tây trắng, đậu lửa, đậu thận đen và đậu thận đỏ, trong đó chiết xuất của các cây đậu được điều chế bằng cách sử dụng 1 hoặc 2 loại dung môi chiết xuất được chọn từ nhóm bao gồm nước, và dung môi hữu cơ được chọn từ nhóm bao gồm rượu mạch ngắn được chọn từ nhóm bao gồm metanol, etanol, n-propanol, và n-butanol, ete, cloroform, etyl axetat, axeton, glyxerin, và propylen glycol ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50°C đến 90°C trong thời gian từ 1 đến 5 giờ.

Các tác giả sáng chế đã thực hiện các nghiên cứu chuyên sâu và phát hiện ra rằng chế phẩm điều hòa khả năng nhận biết mật độ quần thể vi sinh vật trong miệng có thể ức chế được quá trình hình thành màng sinh học gây sâu răng, và hoàn thành sáng chế này.

Quá trình hình thành màng sinh học do vi khuẩn gây bệnh sâu răng bị ức chế bởi chế phẩm dùng qua đường miệng theo sáng chế. Chế phẩm dùng qua đường miệng này có thể được bổ sung vào thực phẩm hoặc đồ uống, dược phẩm, thuốc đánh răng, hoặc các sản phẩm tương tự, sau đó sử dụng để phòng ngừa hoặc điều trị bệnh sâu răng một cách an toàn.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là biểu đồ thể hiện lượng màng sinh học hình thành ở nhóm được cảm ứng bởi CSP và nhóm không được cảm ứng bởi CSP ở mỗi nhóm đối chứng và nhóm thử nghiệm trong ví dụ 1.

Fig.2 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ thay đổi lượng màng sinh học hình thành khi chiết xuất thực vật được bổ sung vào mỗi nhóm được cảm ứng bởi CSP và nhóm không được cảm ứng bởi CSP theo ví dụ 1.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến phương pháp bào chế chế phẩm dùng qua đường miệng ức chế hình thành màng sinh học, để kiểm soát mật độ quần thể của *Streptococcus mutans* được kiểm soát bởi peptit kích thích hoạt tính (Competence Stimulating Peptide - CSP), bao gồm bước trộn chiết xuất của ít nhất một hoặc nhiều cây đậu được chọn từ nhóm bao gồm đậu adzuki, đậu mắt đen, đậu tây trắng, đậu lửa, đậu thận đen và đậu thận đỏ, trong đó chiết xuất của các cây đậu được điều chế bằng cách sử dụng 1 hoặc 2 loại dung môi chiết xuất được chọn từ nhóm bao gồm nước, và dung môi hữu cơ được chọn từ nhóm bao gồm rượu mạch ngắn được chọn từ nhóm bao gồm metanol, etanol, n-propanol, và n-butanol, ete, cloroform, etyl axetat, axeton, glyxerin, và propylen glycol ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50°C đến 90°C trong thời gian từ 1 đến 5 giờ.

Do các nghiên cứu được tiến hành từ trước đến nay, như được mô tả trong tài liệu phi sáng chế 1, khả năng nhận biết mật độ quần thể (QS) của *S. mutans* được biết là được điều hòa bởi vi sinh vật đặc hiệu hoặc bởi sự biểu hiện gen. Tuy nhiên, khi kết hợp vào chế phẩm dùng qua đường miệng, như thực phẩm bao gồm gôm hoặc các sản phẩm tương tự, và thuốc đánh răng để kiểm soát màng sinh học gây bệnh sâu răng dưới dạng thói quen hàng ngày, vẫn còn một số vấn đề chưa được giải quyết, như vấn đề về tính an toàn và tính thuận tiện, do đó phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp điều hòa QS này vẫn chưa được ứng dụng trong thực tế.

Trong tình huống này, các tác giả sáng chế đã thực hiện các nghiên cứu chuyên sâu và phát hiện ra rằng khả năng nhận biết mật độ quần thể của *S. mutans* có thể được điều hòa bởi chế phẩm đặc hiệu được sử dụng an toàn mỗi ngày, nhờ đó ức chế được sự hình thành màng sinh học gây bệnh sâu răng bằng cách điều hòa khả năng nhận biết mật độ quần thể vi sinh vật trong miệng.

Cụ thể hơn, sáng chế bao gồm việc ức chế hình thành màng sinh học gây sâu răng liên quan đến khả năng nhận biết mật độ quần thể bằng chế phẩm dùng qua đường miệng chứa chiết xuất của các cây đậu.

Khi sử dụng chế phẩm dùng qua đường miệng theo sáng chế, sự hình thành màng sinh học của *S. mutans* phụ thuộc CSP bị ức chế, do đó vi khuẩn gây bệnh không thể bám dính vào khoang miệng. Do đó, có thể ngăn ngừa được sự hình thành màng sinh học mà cần sử dụng các phương pháp cơ học, như đánh răng hoặc lấy cao răng.

Ngoài ra, không giống như các phương pháp ngăn ngừa bệnh sâu răng thông thường sử dụng chất kháng khuẩn, chất ức chế enzym, kháng sinh, hoặc các chất tương tự, phương pháp theo sáng chế khắc phục được những khó khăn để đạt được tác dụng ngừa sâu răng, do không tạo điều kiện cho polysacarit ngoại bào trong màng sinh học trong miệng ngăn cản sự thấm của chất kháng khuẩn, chất ức chế enzym, kháng sinh, hoặc các chất tương tự.

Ngoài ra, do bệnh sâu răng có thể được ngăn ngừa mà không sử dụng chất kháng khuẩn, chất ức chế enzym, kháng sinh, hoặc các chất tương tự, nên có thể ngăn ngừa được nguy cơ xuất hiện vi khuẩn kháng chất kháng khuẩn và kháng sinh.

Tốt hơn nếu các loại đậu được sử dụng trong sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chiết xuất được điều chế từ ít nhất một loại đậu được chọn từ đậu mắt đen, đậu adzuki, đậu lửa, đậu tây trắng, đậu thận đen và đậu thận đỏ.

Phương pháp điều chế chiết xuất của các cây đậu làm hoạt chất theo sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bước nghiền hạt hoặc quả (đậu) của các cây đậu nêu trên bằng thiết bị nghiền thích hợp, sau đó chiết xuất, như chiết xuất bằng dung môi để thu được chiết xuất. Nước, rượu mạch ngắn, như metanol, etanol, n-propanol, và n-butanol, và dung môi hữu cơ, như ete, cloroform, etyl axetat, axeton, glyxerol, và propylen glycol, hoặc hỗn hợp chứa hai hoặc nhiều dung môi này được sử dụng làm dung môi chiết. Trong số các dung môi này, tốt hơn nếu sử dụng nước nóng hoặc dung môi hữu cơ thân nước. Do chiết xuất theo sáng chế thường được sử dụng ở dạng thực phẩm hoặc đồ uống, tốt hơn nếu dưới góc độ an toàn, nước và etanol được sử dụng kết hợp để làm dung môi chiết. Tốt hơn nếu quá trình chiết được thực hiện bằng etanol 90% hoặc etanol có hàm lượng thấp hơn, tốt hơn nữa nếu quá trình chiết được thực hiện bằng etanol 60% hoặc etanol có hàm lượng thấp hơn, tốt hơn nữa nếu quá trình

chiết được thực hiện bằng etanol 30% hoặc etanol có hàm lượng thấp hơn, và tốt nhất nếu quá trình chiết được thực hiện bằng nước nóng.

Đối với điều kiện chiết, quá trình chiết có thể được thực hiện ở nhiệt độ bất kỳ bao gồm nhiệt độ cao, nhiệt độ phòng và nhiệt độ thấp. Tốt hơn nếu, quá trình chiết được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50°C đến 90°C trong thời gian từ 1 đến 5 giờ. Chiết xuất thu được có thể được lọc, và sau khi chưng cất dung môi chiết, chiết xuất thu được được cô hoặc sấy đông khô trong điều kiện áp suất giảm. Ngoài ra, chiết xuất thu được có thể được tách phân đoạn và tinh chế bằng dung môi hữu cơ, phương pháp sắc ký cột, hoặc các phương pháp tương tự.

Hơn nữa, do có độ an toàn rất cao, nên chế phẩm dùng qua đường miệng theo sáng chế có thể được sử dụng mỗi ngày dưới dạng các sản phẩm dùng qua đường miệng, như thuốc súc miệng, thuốc đánh răng, và thuốc xịt miệng; hoặc sản phẩm đồ uống hoặc thực phẩm bao gồm bánh kẹo, như kẹo cao su, kẹo, kẹo viên, kẹo dẻo, sôcôla, bánh quy, và đồ ăn nhanh; đồ ngọt được làm lạnh, như kem, sorbet, và kem lạnh; đồ uống, bánh mì, bánh kẹp, sản phẩm từ sữa, sản phẩm thịt đã chế biến, như giăm bông và xúc xích; sản phẩm thịt cá đã chế biến, như bột nhuyển cá và bột nhuyển cá đã nướng; đồ ăn sẵn, bánh putđinh, xúp và mứt, v.v..

Lượng chiết xuất của các cây đậu trong chế phẩm theo sáng chế có thể thay đổi phụ thuộc vào các điều kiện sản xuất khác nhau, và tốt hơn nếu lượng chiết xuất của các cây đậu trong chế phẩm theo sáng chế bằng 0,01% khối lượng hoặc lớn hơn và bằng 2,0% khối lượng hoặc nhỏ hơn, tốt hơn nữa nếu bằng 0,01% khối lượng hoặc lớn hơn và bằng 1,0% khối lượng hoặc nhỏ hơn tính theo tổng khối lượng của chế phẩm dùng qua đường miệng.

Do sáng chế sử dụng chiết xuất dưới dạng thực phẩm trong thời gian dài, nên độ an toàn của chế phẩm theo sáng chế luôn đạt yêu cầu ngay cả khi được đưa vào khoang miệng hoặc cơ thể. Ngoài ra, chiết xuất này có thể dễ dàng được sử dụng khi chứa trong thực phẩm, như kẹo cao su, thuốc đánh răng, hoặc các thực phẩm tương tự, mà không cần đến các phương pháp phức tạp, như điều hòa biểu hiện gen, do đó màng sinh học có thể được kiểm soát liên tục mỗi ngày.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế được mô tả chi tiết hơn bằng các ví dụ dưới đây, nhưng không chỉ

giới hạn ở các ví dụ này.

Ví dụ 1

1. Điều chế chiết xuất

7 loại đậu: đậu mắt đen, đậu adzuki (Dainagon), đậu adzuki (đậu adzuki Erimo), đậu lửa, đậu tây trắng, đậu thận đen và đậu thận đỏ được sử dụng làm các mẫu thực vật.

Mỗi mẫu thực vật là sản phẩm có bán trên thị trường, và 20g mỗi mẫu được nghiền mịn bằng máy xay và chiết bằng 200mL nước ở nhiệt độ 70°C trong 2 giờ. Dịch chiết thu được được ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 10 phút, dịch nổi được lọc và dịch lọc được sấy đông khô để sử dụng trong các thử nghiệm tiếp theo ở dạng chiết xuất nước nóng của mỗi thực vật.

2. Đánh giá hoạt tính ức chế hình thành màng sinh học

2-1. Sự hình thành màng sinh học

Chủng *S. mutans* UA159 được ủ kỵ khí trong 5mL môi trường canh thang Brain Heart Infusion (BHI) ở nhiệt độ 37°C trong 10 giờ, vi khuẩn được thu nhận bằng cách tách ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 10 phút được xử lý bằng dung dịch muối đệm phosphat (PBS) để thu được mật độ quang ở bước sóng 550nm bằng 0,5 ($OD_{550nm} = 0,5$) và sử dụng làm mẫu hỗn dịch thử nghiệm.

Quá trình hình thành màng sinh học được thực hiện bằng vi đĩa 96 giếng. Trong mỗi giếng, 60µL chiết xuất nước nóng của mỗi thực vật, 20µL CSP, 20µL hỗn dịch chứa *S. mutans* thử nghiệm và 100µL môi trường canh thang Todd Hewitt có bổ sung 0,1% sucroza được bổ sung vào và bước ủ được thực hiện trong 16 giờ ở nhiệt độ 37°C và 5% CO₂, để tạo thành màng sinh học của nhóm được cảm ứng bởi CSP. Nồng độ cuối cùng của CSP bằng 1µM và nồng độ cuối của chiết xuất nước nóng của mỗi mẫu bằng 1mg/mL.

Để so sánh, bước ủ được thực hiện trong cùng điều kiện nêu trên chỉ khác là không bổ sung CSP, để tạo thành màng sinh học của nhóm không được cảm ứng bởi CSP.

Ngoài ra, mỗi nhóm trong số các nhóm được cảm ứng bởi CSP và các nhóm

không được cảm ứng bởi CSP được ủ cùng điều kiện nêu trên, chỉ khác là chiết xuất nước nóng của mỗi mẫu không được bổ sung vào được sử dụng làm mẫu đối chứng.

2-2. Định lượng màng sinh học

Đối với mỗi nhóm được cảm ứng bởi CSP và nhóm không được cảm ứng bởi CSP, dịch nổi sau khi ủ được loại bỏ và mỗi giếng được rửa hai lần bằng PBS. Sau khi rửa, dung dịch safranin 0,25% được bổ sung vào mỗi giếng, để yên trong 15 phút, sau đó lượng dung dịch safranin dư được loại bỏ và mỗi giếng được rửa hai lần bằng PBS. Sau khi rửa, etanol được bổ sung vào mỗi giếng, safranin đã được nhuộm bằng cách lắc trong 30 phút được rửa giải và độ hấp thụ ở bước sóng 492nm được đo bằng thiết bị đọc vi đĩa để xác định lượng màng sinh học tạo thành.

Các kết quả được thể hiện trên Fig.1 và Fig.2.

Fig.1 thể hiện lượng màng sinh học hình thành của nhóm thử nghiệm, trong đó bước ủ được thực hiện có bổ sung chiết xuất thực vật và nhóm đối chứng, mỗi nhóm thể hiện nhóm được cảm ứng bởi CSP và nhóm không được cảm ứng bởi CSP. Fig.2 thể hiện tỷ lệ lượng màng sinh học hình thành của nhóm thử nghiệm, tính được khi lượng màng sinh học hình thành của nhóm đối chứng bằng 100, với mỗi nhóm thử nghiệm thể hiện nhóm được cảm ứng bởi CSP và nhóm không được cảm ứng bởi CSP.

Kết quả trên Fig.1 cho thấy ở các nhóm đối chứng, lượng màng sinh học hình thành ở các nhóm được cảm ứng bởi CSP cao hơn các nhóm không được cảm ứng bởi CSP. Sự gia tăng này là do màng sinh học được tạo thành bởi khả năng nhận biết mật độ quần thể do CSP đóng vai trò làm tác nhân tự cảm ứng.

Ở các nhóm thử nghiệm, lượng màng sinh học hình thành ở các nhóm được cảm ứng bởi CSP (cột màu đen) nhỏ hơn lượng màng sinh học hình thành ở các nhóm đối chứng, trong khi đó lượng màng sinh học hình thành ở các nhóm không được cảm ứng bởi CSP (cột màu trắng) tương đương với lượng màng sinh học hình thành ở các nhóm đối chứng. Điều này cũng được thể hiện trên Fig.2, trong đó các nhóm được cảm ứng bởi CSP (cột màu đen) có lượng màng sinh học hình thành ở các nhóm thử nghiệm nhỏ hơn ở các nhóm đối chứng (dưới 100%), trong khi đó các nhóm không được cảm ứng bởi CSP (cột màu trắng) có lượng màng sinh học hình thành ở các nhóm thử nghiệm tương đương với lượng màng sinh học hình thành ở các nhóm đối chứng (khoảng 100%). Các kết quả này cho thấy khả năng nhận biết mật độ quần thể

S. mutans bằng tác nhân tự cảm ứng CSP được điều hòa bởi chiết xuất thực vật được bổ sung vào các nhóm thử nghiệm, khiến cho lượng vi khuẩn hình thành màng sinh học không tăng lên.

Ngoài ra, kết quả trên Fig.1 cho thấy khi chiết xuất nước nóng của đậu adzuki Dainagon, đậu adzuki Erimo, đậu lửa và đậu thận đỏ được bổ sung vào các nhóm được cảm ứng bởi CSP và ù (CSP+ trong nhóm thử nghiệm), lượng màng sinh học hình thành nhỏ hơn lượng màng sinh học hình thành trong các nhóm mà CSP và chiết xuất thực vật đều không được bổ sung vào (CSP- trong nhóm đối chứng).

Kẹo cao su, kẹo và thuốc đánh răng được sản xuất theo phương pháp thông thường bằng chiết xuất của đậu adzuki được điều chế theo ví dụ 1. Các sản phẩm này được thể hiện dưới đây. Cần lưu ý rằng các sản phẩm này không giới hạn phạm vi của chế phẩm theo sáng chế.

Ví dụ 2

Kẹo cao su được sản xuất theo công thức sau.

| | |
|--|-------------------|
| Chất nền gôm | 20,0% khối lượng |
| Đường | 55,0% khối lượng |
| Glucosa | 15,0% khối lượng |
| Sirô tinh bột | 9,0% khối lượng |
| Chất thơm | 0,5% khối lượng |
| Chiết xuất nước nóng của đậu adzuki Erimo theo ví dụ 1 | 0,5% khối lượng |
| | 100,0% khối lượng |

Ví dụ 3

Kẹo được sản xuất theo công thức sau.

| | |
|---|-------------------|
| Đường | 50,0% khối lượng |
| Sirô tinh bột | 34,0% khối lượng |
| Chất thơm | 0,5% khối lượng |
| Chiết xuất nước nóng của đậu adzuki Dainagon theo ví dụ 1 | 0,5% khối lượng |
| Nước vừa đủ | 100,0% khối lượng |

Ví dụ 4

Thuốc đánh răng được sản xuất theo công thức sau.

| | |
|--|-------------------|
| Canxi cacbonat | 50,0% khối lượng |
| Glyxerol | 20,0% khối lượng |
| Carboxymetyl xenluloza | 2,0% khối lượng |
| Natri lauryl sulfat | 2,0% khối lượng |
| Chất thơm | 1,0% khối lượng |
| Sacarin | 0,1% khối lượng |
| Chiết xuất nước nóng của đậu adzuki Erimo theo ví dụ 1 | 1,0% khối lượng |
| Clorhexidin | 0,01% khối lượng |
| Nước vừa đủ | 100,0% khối lượng |

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp bào chế chế phẩm dùng qua đường miệng ức chế hình thành màng sinh học, để kiểm soát mật độ quần thể của *Streptococcus mutans* được kiểm soát bởi peptit kích thích hoạt tính (Competence Stimulating Peptide - CSP), bao gồm bước trộn chiết xuất của ít nhất một hoặc nhiều cây đậu được chọn từ nhóm bao gồm đậu adzuki, đậu mắt đen, đậu tây trắng, đậu lửa, đậu thận đen và đậu thận đỏ, trong đó chiết xuất của các cây đậu được điều chế bằng cách sử dụng 1 hoặc 2 loại dung môi chiết xuất được chọn từ nhóm bao gồm nước, và dung môi hữu cơ được chọn từ nhóm bao gồm rượu mạch ngắn được chọn từ nhóm bao gồm metanol, etanol, n-propanol, và n-butanol, ete, cloroform, etyl axetat, axeton, glyxerin, và propylen glycol ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50°C đến 90°C trong thời gian từ 1 đến 5 giờ.
2. Phương pháp bào chế chế phẩm dùng qua đường miệng ức chế hình thành màng sinh học theo điểm 1, trong đó chiết xuất của các cây đậu là chiết xuất của ít nhất một cây đậu được chọn từ nhóm bao gồm đậu adzuki Dainagon, đậu adzuki Erimo, đậu lửa và đậu thận đỏ.
3. Phương pháp bào chế chế phẩm dùng qua đường miệng ức chế hình thành màng sinh học theo điểm 1 hoặc 2, trong đó chất kháng khuẩn, chất ức chế enzym và kháng sinh không được trộn vào chế phẩm dùng qua đường miệng này.

Fig.1

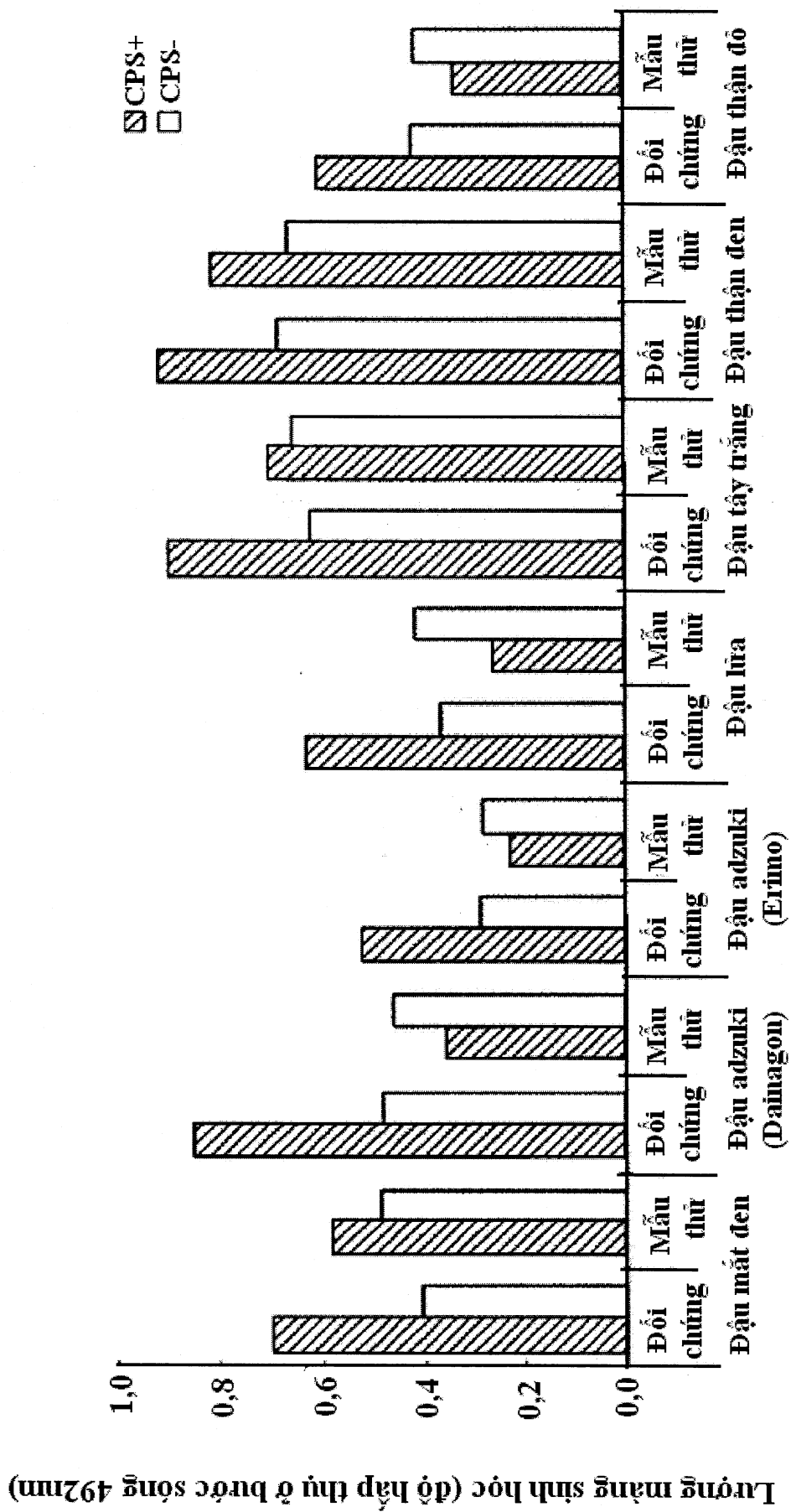


Fig. 2

