



(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)



1-0032552

(51)⁷ A61P 35/00; A61K 39/395; C07K 16/42; (13) B
C07K 16/28; A61K 39/00

(21) 1-2014-02095

(22) 04/12/2012

(86) PCT/CU2012/000007 04/12/2012

(87) WO2013/097834 04/07/2013

(30) CU/9/2011/0245 27/12/2011 CU

(45) 25/07/2022 412

(43) 25/11/2014 320A

(73) CENTRO DE INMUNOLOGIA MOLECULAR (CU)

Calle 216 Esq. a 15, Atabey. Playa., La Habana. Cuba, La Habana 11600, Cuba

(72) GONZÁLEZ PALOMO, Adys (CU); CARR PEREZ, Adriana (CU); LEÓN

MONZÓN, Kalet (CU); BLANCO SANTANA, Rancés (CU); BARROSO

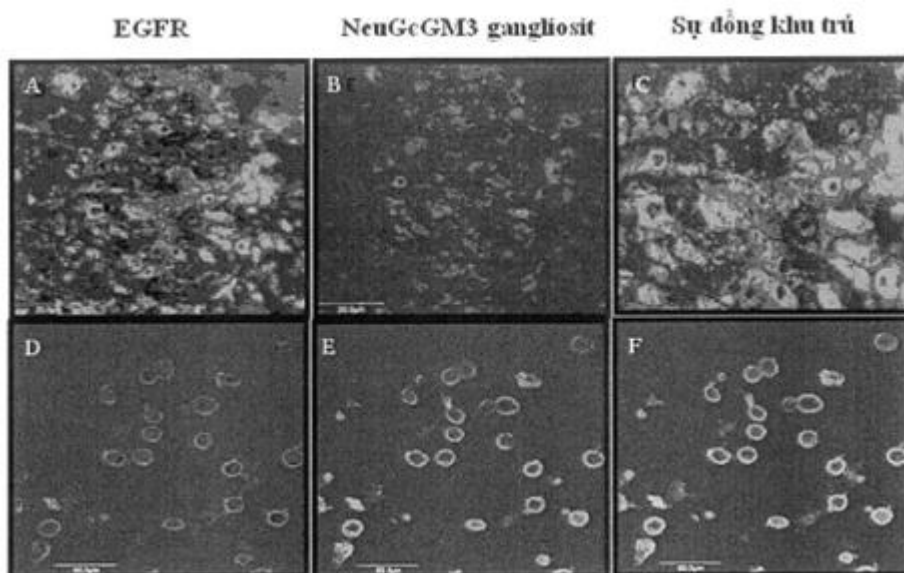
ALVAREZ, Maria del Carmen (CU); MACÍAS ABRAHAM, Amparo, Emilia (CU);

MONTERO CASIMIRO, José Enrique (CU).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) DƯỢC PHẨM VÀ KIT ĐỂ ĐIỀU TRỊ KHỐI U

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm để điều trị khối u biểu hiện đồng thời các đích thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì và N-glycolyl GM3 gangliosit, chứa (a) nimotuzumab; và (b) vaccin kháng NeuGcGM3 gangliosit được chọn từ nhóm bao gồm vaccin kháng NeuGcGM3 gangliosit với chất bổ trợ là hoạt chất có kích cỡ rất nhỏ (vaccin NeuGcGM3/VSSP- very small size particle) và vaccin kháng idiotyp racotumumab với chất bổ trợ là nhôm oxit. Sáng chế cũng đề cập đến kit bao gồm dược chất để điều trị khối u biểu hiện đồng thời các đích thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì và N-glycolyl GM3 gangliosit.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến được phẩm dùng để điều trị bệnh ung thư, cụ thể hơn là khối u ác tính biểu hiện quá mức thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì (Epidermal growth factor receptor - EGFR) và *N*-glycolyl gangliosit (NeuGcGM3 gangliosit).

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hiện nay, thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì là một trong các đích điều trị được sử dụng nhiều nhất trong đánh giá lâm sàng. Phân tử này được biểu hiện quá mức ở nhiều loại mô của người (Yarden, Y., and Sliwkowski M. X., Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2001, 2: 127-137). Hai phương pháp điều trị thường được sử dụng nhất để ức chế chức năng của EGFR bao gồm: trung hòa bằng các kháng thể đơn dòng (MAb) và trung hòa bằng các phân tử nhỏ có hoạt tính ức chế tyrosin kinaza (TKI - tyrosine kinasa inhibitor) (Ciardiello, F., and Tortora G., N. Engl. J. Med. 2008, 358: 1160–1174). Hơn nữa, đã thấy rằng vacxin chứa vùng ngoại bào của EGFR với chất bổ trợ là hoạt chất có kích cỡ rất nhỏ (very small size particle-VSSP) có tác dụng chống tăng sinh trên mô hình chuột bị bệnh ung thư biểu mô phổi thể Lewis (Sánchez Ramírez B., et al, Int. J. Cancer. 2006, 119: 2190-2199). Phương pháp điều trị bằng các kháng thể đơn dòng kháng EGFR điều hòa sự thoái hóa của khối u bằng cách làm gián đoạn các tín hiệu gây bệnh ung thư và tạo ra cơ chế đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu qua trung gian các thụ thể của vùng Fc (Martinelli, E., et al, Clin. Exp. Immunol. 2009, 158: 1–9).

Nhiều kháng thể đơn dòng kháng EGFR của người đã được bào chế bao gồm: cetuximab (Garrett CR, and Eng C., Expert Opin Biol Ther. 2011; 11: 7, 937-49) và nimotuzumab (Mateo C, Immunotechnology 1997; 3:71-81). Đã có tài liệu về tác dụng kháng khối u của nimotuzumab trong điều trị các bệnh ung thư khác nhau biểu hiện quá mức EGFR (xem, bài báo: Crombet T, et al, Cancer Biol Therapy. 2006, 5:375–379) hoặc trong điều trị kết hợp với các liệu pháp khác (Crombet T, et al, J Clin Oncol. 2004, 22:1646–1654; Zhao KL, et al, Invest New Drugs, Công bố ngày 08/09/2011). Mặt khác, đã thấy rằng kháng thể đơn dòng 7A7 kháng EGFR của chuột có tác dụng kháng khối u qua trung tế bào T trong điều trị bệnh ung thư biểu mô phổi thể Lewis (Garrido G., et al, Cancer Immunol Immunother. 2007, 56: 1701–1710).

Một đích điều trị khác cũng được nghiên cứu nhiều là gangliosit, đó là các glycosphingolipit có chứa axit sialic trong cấu trúc. Các phân tử này có mặt trong các mô bình thường và được biểu hiện quá mức trong các mô khối u (Zhang S, et al. Int J Cancer 73:42-49, 1997). Có hai loại axit sialic bao gồm *N*-axetyl và *N*-glycolyl, trong đó *N*-glycolyl có trong các khối u ở người (Malykh Y N., et al, Biochimie. 2001, 83:7 623–634), cả hai loại này đều là các gangliosit (Kawai T. et al, 1991 Cancer. Res. (51) 1242–1246) và *N*-glycolyl glycoprotein (Devine P.L., et al, Cancer Research, 1991, 51: 21, 5826–5836). Do các phân tử này được xác định thấy ở các khối u ác tính, nên chúng là các đích đặc hiệu để điều trị bệnh ung thư. Đặc biệt, NeuGcGM3 gangliosit được nhận diện đặc hiệu bởi kháng thể đơn dòng 14F7 (Carr A. et al, Hybridoma, 2000, 19: 3, 241–247). Gangliosit này đã được xác định thấy ở các khối u khác nhau bằng nhiều phương pháp khác nhau (Blanco R., et al, ISRN Pathology. 2011, Article ID 953803, 10 pag., Marquina et al, Cancer Research. 1996, 56: 22, 5165–5171)

Liệu pháp miễn dịch kháng NeuGcGM3 gangliosit ở các khối u bằng cách sử dụng vaccin phân tử NeuGcGM3/VSSP đã được công bố (Estevez F., et al, Vaccine. 1999, 18:190-197) và đã được kiểm chứng về khả năng tạo miễn dịch và độ an toàn ở người bị bệnh ung thư vú giai đoạn muộn (Carr A., et al, JCO. 2003, 21:1015-1021). Hơn nữa, đã kiểm chứng được rằng ở giai đoạn cận lâm sàng tác dụng kháng khối u (chống di căn) của vaccin này được điều hòa theo cơ chế đáp ứng của các tế bào NK và CD8⁺ (Labrada M., et al, Expert Opin. Biol. Ther. 2010, 10:2,153-162). Đồng thời, tác dụng kháng khối u đã được tạo ra ở người bị bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ được miễn dịch bằng vaccin kháng idiotyp (kháng thể đơn dòng kháng idiotyp 1E10, racotumumab, có cấu trúc giống như *N*-glycolyl gangliosit (Alfonso S., et al, Cancer Biology & Therapy. 2007, 6:12, 1847-1852). Các kết quả đã công bố cho thấy vaccin này có khả năng tạo đáp ứng miễn dịch và an toàn (Alfonso M., et al, Journal of Immunology. 2002, 168: 2523-2529).

EGFR ở các vùng có kích cỡ nhỏ của màng tế bào đóng vai trò rất quan trọng trong việc kiểm soát sự phát triển của tế bào khối u. Đã kiểm chứng được rằng GM3 gangliosit ức chế sự tăng sinh phụ thuộc EGFR ở nhiều dòng tế bào cả trong điều kiện *in vivo* lẫn *in vitro*. GM3 gangliosit ức chế hoạt tính EGFR kinaza (sự tự phosphoryl hóa EGFR). GM3 gangliosit ức chế sự tự phosphoryl hóa vùng kinaza của EGFR. GM3 gangliosit có khả năng điều hòa quá trình chuyển cấu trúc từ dạng không có hoạt tính

sang dạng tín hiệu bởi dime EGFR để ngăn ngừa quá trình tự phosphoryl hóa vùng nội bào kinaza với vị trí gắn kết phối tử (Coskun Ü., et al, PNAS. 2011, 108: 22, 9044–9048). Các thay đổi trong thành phần của các gangliosit ở màng tế bào đóng vai trò rất quan trọng trong việc điều hòa quá trình tải nạp tín hiệu EGFR (Zurita AR., et al, Biochem. J. 2001, 35: 465-472).

Trên thực tế, việc sử dụng đồng thời hoặc luân phiên các liệu pháp kháng khối u hứa hẹn sẽ tạo ra hiệu quả điều trị cao (Takeda K. et al, Cancer Sci., 2007; 98: 9, 1297–1302). Tuy nhiên, trên thực tế không phải tất cả các phác đồ kết hợp các liệu pháp kháng khối u đều cho kết quả điều trị tích cực và hiệp đồng. Theo nghiên cứu lâm sàng pha III trên bệnh ung thư đại tràng di căn, trong đó kháng thể đơn dòng kháng EGFR (Cetuximab) và kháng thể đơn dòng kháng yếu tố tăng trưởng nội mô mạch (Bevacizumab) được sử dụng kết hợp với phương pháp hóa trị liệu, đã nhận thấy tình trạng tiến triển của bệnh ngày một xấu đi và còn gây ra các tác dụng không mong muốn nghiêm trọng hơn so với những người bệnh chỉ được điều trị bằng Bevacizumab kết hợp phương pháp hóa trị liệu (Tol J., et al, N Engl J Med. 2009; 360:6,563-72). Sự thành công của các phương pháp điều trị khác nhau ở người bệnh là kết quả của các mối liên quan giữa các đích cụ thể được chọn trong các liệu pháp, vị trí khu trú của khối u, cũng như bản chất của các liệu pháp được sử dụng ở mỗi trường hợp (kháng thể, vaccin hoặc các yếu tố khác).

Hiện nay, trong tài liệu chuyên ngành đã có đề cập đến mối tương quan về cấu trúc và chức năng giữa các gangliosit và EGFR ở tế bào khối u. Tuy nhiên, ý nghĩa thực tế của mối tương quan này trong việc áp dụng thành công liệu pháp kháng EGFR và gangliosit ở cùng người bệnh chưa được đề cập đến trong các nghiên cứu lâm sàng hoặc cận lâm sàng. Tính mới của sáng chế nằm ở chỗ trên cận lâm sàng và lâm sàng nó cho thấy tác dụng hiệp đồng kháng khối u khi áp dụng liệu pháp kháng EGFR và vaccin kháng idiotyp ở các khối u biểu hiện đồng thời các đích điều trị này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất được phẩm dùng để điều trị bệnh ung thư, chứa kháng thể đơn dòng kháng thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì và vaccin kháng *N*-glycolyl GM3 gangliosit.

Cụ thể, sáng chế đề cập đến được phẩm để điều trị khối u biểu hiện đồng thời các đích thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì và N-glycolyl GM3 gangliosit, chứa:

(a) nimotuzumab; và

(b) vacxin kháng NeuGcGM3 gangliosit được chọn từ nhóm bao gồm vacxin kháng NeuGcGM3 gangliosit với chất bổ trợ là hoạt chất có kích cỡ rất nhỏ (vacxin NeuGcGM3/VSSP- very small size particle) và vacxin kháng idiotyp racotumumab với chất bổ trợ là nhôm oxit.

Sáng chế cũng đề cập đến kit bao gồm được chất để điều trị khối u biểu hiện đồng thời các đích thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì và N-glycolyl GM3 gangliosit, trong đó được chất của kit này bao gồm:

(a) nimotuzumab; và

(b) vacxin kháng NeuGcGM3 gangliosit được chọn từ nhóm bao gồm vacxin kháng NeuGcGM3 gangliosit với chất bổ trợ là hoạt chất có kích cỡ rất nhỏ (vacxin NeuGcGM3/VSSP- very small size particle) và vacxin kháng idiotyp racotumumab với chất bổ trợ là nhôm oxit

để sử dụng đồng thời, luân phiên hoặc đan xen.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện sự đồng khu trú của EGFR và NeuGcGM3 gangliosit ở các khối u khác nhau của chuột. Fig.1C và Fig.1F thể hiện sự đồng khu trú của EGFR và NeuGcGM3 gangliosit ở các khối u bệnh ung thư biểu mô phổi di căn thể Lewis (Fig.1A-Fig.1C) và khối u tủy P3-X63-Ag.8653 ở chuột (Fig.1D-Fig.1F).

Fig.2 thể hiện kết quả điều trị bằng liệu pháp kháng EGFR (kháng thể đơn dòng 7A7) kết hợp với vacxin kháng NeuGcGM3 gangliosit (vacxin kháng NeuGcGM3 gangliosit với chất bổ trợ là hoạt chất có kích cỡ rất nhỏ) đã làm tăng đáng kể tỷ lệ sống sót của chuột C57BL/6 bị bệnh ung thư biểu mô phổi thể Lewis.

Fig.3 thể hiện đáp ứng điều trị của người bị bệnh ung thư biểu mô phổi tế bào không nhỏ với liệu pháp tích cực kháng EGFR (nimotuzumab) và vacxin kháng idiotyp (vacxin racotumumab với chất bổ trợ là nhôm oxit).

Fig.4 thể hiện đáp ứng lâm sàng của người bệnh bị u tế bào quanh mao mạch tụy sau màng bụng với liệu pháp kháng EGFR (nimotuzumab) kết hợp với liệu pháp vaccin NeuGcGM3 (vaccin kháng NeuGcGM3 gangliosit với chất bổ trợ là hoạt chất có kích cỡ rất nhỏ).

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến được phẩm dùng để điều trị bệnh ung thư biểu hiện các đích EGFR và *N*-glycolyl gangliosit GM3 với mục đích để tăng cường tác dụng điều trị của các liệu pháp này đối với các đích điều trị này. Theo một phương án, sáng chế đề cập đến được phẩm bao gồm vaccin hướng đích tới *N*-glycolyl gangliosit GM3 và kháng thể kháng EGFR. Theo một phương án khác, sáng chế bao gồm vaccin hướng đích *N*-glycolyl gangliosit GM3 và vaccin hướng đích EGFR.

Theo các phương án khác, vaccin hướng đích *N*-glycolyl gangliosit theo sáng chế bao gồm: vaccin NeuGcGM3/VSSP và/hoặc vaccin kháng idiotyp (kháng thể đơn dòng racotumumab kết hợp với chất bổ trợ là nhôm oxit). Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả liệu pháp kháng EGFR bao gồm việc sử dụng kháng thể đơn dòng nimotuzumab và/hoặc vaccin EGFR.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất được phẩm bao gồm hợp chất kháng EGFR và hợp chất kháng NeuGcGM3 gangliosit dùng để điều trị bệnh ung thư.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất được phẩm bao gồm hợp chất bất kỳ nêu trên được trộn với tá dược được dùng.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được dùng để làm dược chất và bào chế thuốc, bao gồm thuốc dùng để điều trị các tình trạng bệnh lý như bệnh ung thư.

Theo một phương án khác, dược phẩm theo sáng chế là hữu ích để điều trị bệnh ung thư, đặc biệt là các khối u ác tính ở các cơ quan khác nhau của người. Tốt hơn nữa, dược phẩm theo sáng chế được dùng để điều trị các khối u biểu hiện đồng thời EGFR và *N*-glycolyl gangliosit. Tốt nhất nếu, dược phẩm theo sáng chế được dùng để điều trị bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư đường tiêu hóa, bệnh ung thư hệ tiết niệu-sinh dục và bệnh ung thư mô liên kết, bệnh ung thư do các rối loạn tăng sinh mô thần kinh-biểu bì và rối loạn tăng sinh mô bạch huyết.

Dược phẩm thích hợp bất kỳ chứa các hợp chất nêu trên có thể được bào chế để sử dụng theo các phương pháp đã biết trong lĩnh vực này. Các tá dược hoặc chất mang hữu dụng có thể được lựa chọn dựa trên đường đưa thuốc mong muốn và các tính chất vật lý của hợp chất được sử dụng mà không cần các thử nghiệm chuyên sâu.

Đường đưa thuốc thích hợp bất kỳ có thể được sử dụng, theo phác đồ điều trị chuẩn cho người bệnh bao gồm đường tiêm, tiêm tĩnh mạch, tiêm bắp, tiêm qua da, khu trú và tiêm dưới da nhưng không chỉ giới hạn ở các đường đưa thuốc này. Phương pháp bào chế các dược phẩm thích hợp đối với mỗi đường đưa thuốc là đã biết trong lĩnh vực này.

Dược phẩm chứa mỗi hoạt chất thường cũng chứa tá dược pha loãng và trong một số trường hợp, dược phẩm này cũng chứa chất bổ trợ, chất đệm, chất bảo quản, v.v. Các hợp chất này cũng có thể được bào chế dưới dạng chế phẩm liposom hoặc chế phẩm vi nhũ tương.

Dược phẩm để sử dụng theo đường tiêm có thể được bào chế ở dạng thuốc quy ước như: thuốc tiêm dung dịch hoặc thuốc tiêm hỗn dịch hoặc thuốc tiêm dạng rắn thích hợp để pha chế thành dạng dung dịch hoặc hỗn dịch trong chất dẫn thuốc dạng lỏng trước khi tiêm. Ví dụ về các tá dược thích hợp bao gồm nước, nước muối, dextroza và các tá dược tương tự.

Các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng riêng hoặc kết hợp với một dược chất khác. Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả việc kết hợp với liệu pháp hóa trị và/hoặc liệu pháp xạ trị được sử dụng cho loại khối u cần điều trị.

Hơn nữa, sáng chế cũng mô tả việc sử dụng đồng thời, luân phiên hoặc đan xen các liệu pháp kháng trực tiếp EGFR và *N*-glycolyl gangliosit GM3 trong điều trị bệnh ung thư.

Hợp chất kháng EGFR và hợp chất kháng *N*-glycolyl gangliosit GM3 được sử dụng riêng rẽ, cả ở các thời điểm lẫn với các tần suất khác nhau. Cả hai hợp chất này có thể được sử dụng theo đường đưa thuốc bất kỳ đã biết, như tiêm dưới da, tiêm tĩnh mạch, tiêm qua da, tiêm bắp hoặc tiêm động mạch, và các đường đưa thuốc tương tự. Theo một số phương án, ít nhất một và tùy ý hai hợp chất này có thể được sử dụng theo đường tiêm.

Hợp chất hoặc dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với một dược chất chống bệnh ung thư khác trong phương pháp điều trị đồng thời, luân phiên hoặc đan xen. Do đó, các hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng đồng thời trong các dược phẩm riêng biệt, và hợp chất theo sáng chế có thể được sử dụng trước hoặc sau khi sử dụng dược chất chống bệnh ung thư khác trong các khoảng thời gian giây, phút, giờ, ngày hoặc tuần khác nhau.

Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả phương pháp kiểm soát và/hoặc ức chế sự phát triển của khối u, bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng kết hợp các hợp chất theo sáng chế với lượng hữu hiệu để kiểm soát hoặc làm giảm sự tăng sinh khối u. Theo một số phương án, sự tăng sinh khối u là liên quan đến các giai đoạn lâm sàng khác nhau của khối u, với điều kiện các khối u này biểu hiện đồng thời EGFR và *N*-glycolyl gangliosit GM3. Theo đó, sáng chế mô tả phương pháp kiểm soát bệnh ung thư phổi, bệnh ung thư vú, bệnh ung thư đường tiêu hóa, bệnh ung thư hệ tiết niệu-sinh dục và bệnh ung thư mô liên kết do các rối loạn tăng sinh mô thần kinh-biểu bì và rối loạn tăng sinh mô bạch huyết.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư bao gồm bước cho đối tượng cần điều trị sử dụng lượng có hiệu quả điều trị hợp chất kháng EGFR, hữu ích để điều trị rối loạn này và cho đối tượng cần điều trị sử dụng lượng có hiệu quả vaccin NeuGcGM3 hoặc vaccin kháng idiotyp để tăng cường tác dụng điều trị mong muốn. Theo sáng chế, thuật ngữ “cải thiện” được dùng để chỉ các biện pháp để làm phục hồi hoặc ổn định một phần hoặc hoàn toàn các triệu chứng lâm sàng của bệnh. Theo một phương án khác, thuật ngữ “cải thiện” được dùng để chỉ các biện pháp để làm giảm kích thước khối u và/hoặc làm tăng khả năng sống sót của đối tượng.

Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư bao gồm giai đoạn điều trị khởi đầu thứ nhất và giai đoạn điều trị duy trì thứ hai. Theo đó, giai đoạn điều trị khởi đầu có thể bao gồm bước cho người bệnh sử dụng vaccin hướng đích EGFR với liều lượng nằm trong khoảng từ 0,1mg đến 2mg, trong khoảng thời gian từ 7 đến 14 ngày và trong khoảng từ 8 đến 14 tuần. Trong giai đoạn này, liệu pháp kháng NeuGcGM3 sẽ được sử dụng bao gồm bước cho người bệnh sử dụng vaccin NeuGcGM3 hoặc vaccin kháng idiotyp với liều lượng nằm trong khoảng từ 0,1mg đến 2mg trong khoảng thời gian từ 7 đến 14 ngày.

Sáng chế cũng mô tả phương pháp điều trị bệnh ung thư bao gồm bước cho đối tượng sử dụng liệu pháp điều trị tích cực bằng vaccin hướng đích EGFR với liều lượng nằm trong khoảng từ 100mg đến 400mg trong khoảng thời gian từ 6 đến 10 tuần. Ngoài ra, liệu pháp kháng EGFR có thể bao gồm việc sử dụng vaccin hướng đích EGFR, với liều lượng nằm trong khoảng từ 0,1mg đến 2mg trong khoảng thời gian từ 7 đến 14 ngày. Trong giai đoạn này, người bệnh sẽ được điều trị bổ sung bằng vaccin NeuGcGM3 hoặc vaccin kháng idiotyp với liều lượng nằm trong khoảng từ 0,1mg đến 2mg trong khoảng thời gian từ 7 đến 14 ngày.

Ngoài ra, giai đoạn thứ hai của phương pháp điều trị nêu trên bao gồm phác đồ điều trị được thiết kế để sử dụng dưới dạng liệu pháp duy trì và không gây độc tính và/hoặc xuất hiện các triệu chứng lâm sàng của bệnh. Trong giai đoạn này, tốt hơn nếu các vaccin này được sử dụng ở các liều lượng nêu trên và trong khoảng thời gian từ 1 đến 3 tháng. Ngoài ra, các liệu pháp điều trị tích cực cũng có thể được sử dụng trong khoảng thời gian từ 14 ngày đến 3 tháng. Liệu pháp này có thể được sử dụng trong khoảng thời gian từ 1 đến 5 năm.

Theo một số phương án, hoạt chất kháng trực tiếp EGFR và vaccin NeuGcGM3 hoặc vaccin kháng idiotyp được sử dụng đồng thời. Hoạt chất kháng trực tiếp EGFR và vaccin NeuGcGM3 hoặc vaccin kháng idiotyp đôi khi được sử dụng cùng một lúc cho đối tượng.

Theo đó, liệu pháp kháng NeuGcGM3 có thể được sử dụng theo đường tiêm dưới da, tiêm tĩnh mạch, tiêm qua da, tiêm bắp hoặc tiêm động mạch, trong khi đó liệu pháp kháng EGFR có thể được sử dụng theo đường tiêm dưới da, tiêm tĩnh mạch hoặc tiêm bắp. Ngoài ra, đường đưa thuốc được xác định khi có các hạch bạch huyết hướng tâm.

Trong thời gian sử dụng các liệu pháp một số xét nghiệm sinh hóa và chẩn đoán hình ảnh của người bệnh có thể được thực hiện. Tốt hơn nếu, khả năng miễn dịch tế bào và miễn dịch dịch thể được phân tích bằng cách sử dụng máu của người bệnh. Các xét nghiệm máu được phân tích ở tần suất nằm trong khoảng từ vài tuần đến sáu tháng một lần.

Thuật ngữ “sự biểu hiện đồng thời” được sử dụng trong sáng chế có nghĩa là cả hai đích điều trị được biểu hiện nhưng có thể có mối tương quan chặt chẽ về cấu trúc hoặc không, sự biểu hiện đồng thời của EGFR và *N*-glycolyl gangliosit (NeuGcGM3

gangliosit) được xác định bằng phương pháp nhuộm kép, sử dụng kính hiển vi và bộ xử lý huỳnh quang cho phép đánh giá chính xác hơn các hình ảnh phân tích.

Thuật ngữ “sự đồng khu trú” được sử dụng trong sáng chế có nghĩa là cả hai đích điều trị có mối tương quan chặt chẽ về cấu trúc, sự đồng khu trú của EGFR và *N*-glycolyl gangliosit (NeuGcGM3 gangliosit) được xác định bằng phương pháp nhuộm kép sử dụng kính hiển vi đồng trục.

Ngoài ra, sáng chế cũng mô tả việc sử dụng hợp chất kháng EGFR và hợp chất kháng NeuGcGM3 gangliosit, để bào chế thuốc làm chậm sự phát triển khối u ở người bệnh trong phương pháp bao gồm các bước sau:

(a) trước tiên cho người bệnh sử dụng thuốc chứa hợp chất kháng EGFR và,

(b) sau đó cho người bệnh này sử dụng thuốc chứa hợp chất kháng NeuGcGM3 gangliosit.

Việc sử dụng nêu trên có thể theo thứ tự này hoặc thứ tự ngược lại, tức là trước tiên, cho người bệnh sử dụng thuốc chứa hợp chất kháng NeuGcGM3 gangliosit và sau đó cho người bệnh này sử dụng thuốc chứa hợp chất kháng EGFR.

Theo một phương án cụ thể, sáng chế đề cập đến kit bao gồm các dược chất để điều trị khối u biểu hiện đồng thời EGFR và NeuGcGM3 gangliosit, trong đó các dược chất của kit này bao gồm hợp chất kháng EGFR và hợp chất kháng NeuGcGM3 gangliosit để sử dụng đồng thời, luân phiên hoặc đan xen.

Xác định sự biểu hiện đồng thời của EGFR và *N*-glycolyl gangliosit (NeuGcGM3 gangliosit) ở các khối u của người có vị trí khu trú khác nhau.

Sự biểu hiện của EGFR và NeuGcGM3 gangliosit ở các khối u có thể được xác định bằng phương pháp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực này. Phép đo này được thực hiện trên các khối u có vị trí khu trú và nguồn gốc khác nhau, trên các mẫu khối u được cố định trước bằng formol hoặc trên các lát cắt mô nguyên bản. Theo phương án được ưu tiên, sự biểu hiện của EGFR và NeuGcGM3 gangliosit được xác định bằng các kỹ thuật miễn dịch để phát hiện EGFR và *N*-glycolyl gangliosit GM3. Đặc biệt, kỹ thuật hóa mô miễn dịch và kính hiển vi trường sáng có thể được sử dụng riêng để phát hiện cả hai phân tử này hoặc kính hiển vi huỳnh quang và kính hiển vi huỳnh quang miễn dịch có thể được sử dụng để xác định sự biểu hiện đồng thời hoặc kính hiển vi huỳnh quang miễn dịch và

kính hiển vi đồng tiêu có thể được sử dụng để xác định sự đồng khu trú của EGFR và *N*-glycolyl gangliosit GM3.

Theo các phương án ưu tiên, EGFR có thể được phát hiện bằng cách sử dụng kháng thể đơn dòng Ior egf/R3m (5-20µg/mL), được mô tả trong EP 0586002B1 và NeuGcGM3 có thể được phát hiện bằng cách sử dụng kháng thể đơn dòng 14F7 (5-25µg/mL), được mô tả trong US 6,429,295 hoặc EP 0972782B1. Theo một phương án, để phát hiện riêng cả hai phân tử này (phương pháp nhuộm đơn) Dako, hệ LSAB^R Peroxidaza, DAB (Dako, Carpinteria, California, USA) có thể được sử dụng làm hệ phát hiện.

EGFR được cho là nằm trên màng tế bào chất của các tế bào khối u, trong khi đó GM3 *N*-glycolyl được cho là nằm trên màng tế bào chất và trong bào tương của các tế bào khối u, kết quả phân tích miễn dịch được coi là dương tính khi cường độ của phản ứng miễn dịch bằng hoặc lớn hơn 20% cường độ của mẫu đối chứng dương.

Theo phương án được ưu tiên, sự biểu hiện đồng thời của cả hai phân tử nêu trên có thể được phát hiện bằng kỹ thuật nhuộm kép và phân tích bằng kính hiển vi huỳnh quang, chỉ ở các mẫu khối u trong đó kết quả phân tích là dương tính trước đối với riêng cả hai phân tử này. Trong khi đó, sự đồng khu trú của cả hai phân tử nêu trên có thể được phát hiện bằng kỹ thuật nhuộm kép và phân tích bằng kính hiển vi huỳnh quang đồng tiêu. Theo phương án được ưu tiên, EGFR được phát hiện bằng cách ủ với kháng thể đơn dòng Ior egf/R3m (5-20µg/mL) trong 1 giờ, sau đó ủ với kháng thể IgG được liên hợp với rhodamin (Dako, Carpinteria, California, USA). Theo một phương án ưu tiên khác, NeuGcGM3 được phát hiện bằng ủ với kháng thể đơn dòng biotinyl 14F7 (5-20µg/mL) trong 30 phút, sau đó ủ với streptavidin được liên hợp với FITC (Dako, Carpinteria, California, USA).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết thông qua các ví dụ sau nhưng chỉ nhằm mục đích minh họa chứ không giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1

Xác định sự biểu hiện đồng thời của EGFR và NeuGcGM3 gangliosit ở các khối u khác nhau của người.

Các mẫu khối u được cố định trong dung dịch đệm formalin trung tính và ngâm trong parafin theo phương pháp đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Các lát cắt mô thu được có chiều dày bằng 5µm được giữ ở nhiệt độ 60°C trong 30 phút, loại parafin và tái hydrat hóa trong dung môi rượu có nồng độ giảm dần, giữ trong nước cất trong 10 phút và rửa bằng TBS trong 5 phút. Khả năng phản ứng của toàn bộ protein của mô được phong bế bằng dung dịch có bán trên thị trường (Dako, Carpinteria, California, USA) trong 30 phút. EGFR được phát hiện bằng cách ủ các lát cắt mô với kháng thể đơn dòng Ior egf/R3m (20µg/mL) trong 1 giờ. NeuGcGM3 được phát hiện bằng cách ủ các lát cắt mô với kháng thể đơn dòng 14F7 (20µg/mL) trong 30 phút. Sau phản ứng với các kháng thể sơ cấp này, ở cả hai trường hợp, hệ Peroxidaza Dako, LSABR, DAB (Dako, Carpinteria, California, USA) được sử dụng làm hệ phát hiện. Các lát cắt mô được khử hydrat hóa và ngược lại hệ Mayer's hematoxylin được sử dụng (Dako, Carpinteria, California, USA). Mẫu đối chứng âm thu được bằng cách thay kháng thể sơ cấp (kháng thể đơn dòng Ior egf/R3m hoặc kháng thể đơn dòng 14F7) bằng dung dịch rửa TBS (1X) và mẫu mô bệnh ung thư biểu mô ống tuyến vú được sử dụng mẫu đối chứng dương.

Kết quả phân tích cho thấy EGFR là nằm trên màng tế bào chất của các tế bào khối u và NeuGcGM3 là nằm trên màng tế bào chất và/hoặc trong bào tương của các tế bào khối u.

Phương pháp nhuộm kép: EGFR được phát hiện bằng cách ủ các lát cắt mô với kháng thể đơn dòng Ior egf/R3m (kháng EGFR), sau đó ủ với streptavidin được liên hợp với FITC (Dako, Carpinteria, California, USA). NeuGcGM3 được phát hiện bằng cách ủ các lát cắt mô với kháng thể đơn dòng biotinyl 14F7, sau đó ủ với kháng thể kháng IgG của chuột được liên hợp với rhodamin (Dako, Carpinteria, California, USA). Sự biểu hiện đồng thời của cả hai phân tử này ở các tế bào khối u được thể hiện bằng điểm màu vàng trên các ảnh chụp. Các lát cắt mô được số hóa và phân tích bằng máy ảnh được gắn với kính hiển vi huỳnh quang Olympus BX51 (Olympus, Japan). Để phân tích các ảnh chụp đã được số hóa, bộ xử lý ImageJ phiên bản 1.43u được sử dụng.

Bảng 1 thể hiện các khối u ở các vị trí khác nhau biểu hiện đồng thời EGFR và NeuGcGM3 gangliosit. Cường độ: âm tính: -, yếu: +, vừa phải: ++, mạnh: +++.

	EGFR		NeuGcGM3		Dương tính kép	
Loại mô	Trường hợp dương tính (%)	Khoảng cường độ	Trường hợp dương tính (%)	Khoảng cường độ	Trường hợp dương tính (%)	Khoảng cường độ
Hệ hô hấp Bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ	8/10(80)	++/+++	6/10(60)	+ /+++	6/10(60)	+ /+++
Hệ tiêu hóa Bệnh ung thư biểu mô dạ dày	3/3 (100)	++/+++	2/3(66,6)	++/+++	2/3 66,6)	+ /+++
Bệnh ung thư biểu mô đại tràng	4/4 (100)	+ /+++	4/4 100)	+ /+++	4/4(100)	++
Bệnh ung thư biểu mô tụy	3/4 (75)	++/+++	2/4(50)	++/+++	2/4(50)	++
Bệnh ung thư biểu mô gan	4/4(100)	++/+++	3/4(75)	++/+++	3/4 (75)	+ /+++
Hệ sinh dục tiết niệu Bàng quang	2/2 (100)	++/+++	1/2 (50)	++	1/2 (50)	++
Hệ thần kinh U nguyên bào thần kinh đệm đa hình	5/5(100)	+++	3/5(60)	++	3/5(60)	++
Bệnh ung thư mô liên kết	2/3 (66,6)	+ /++	1/3 (33,3)	+	1/3(33,3)	+
Hệ tạo máu U lymphô không Hodgkin	2/3(66,6)	+	2/3 (66,6)	+	2/3(66,6)	+

Ví dụ 2

Xác định sự biểu hiện đồng thời và đồng khu trú của EGFR và NeuGcGM3 gangliosit ở các khối u của chuột

Các mẫu khối u được sử dụng là khối u bệnh ung thư biểu mô phổi thể Lewis (3LL-D122), và khối u tủy P3-X63-Ag8.653 (X63) của chuột.

Phương pháp nhuộm kép được thực hiện để xác định sự biểu hiện đồng thời/đồng khu trú của EGFR và NeuGcGM3 gangliosit ở các khối u của chuột. EGFR được phát hiện bằng cách các lát cắt mô ủ với kháng thể đơn dòng biotinyl 7A7 (20 μ g/mL) trong 1 giờ, sau đó ủ với streptavidin được liên hợp với FITC (Dako, Carpinteria, California, USA). NeuGcGM3 được phát hiện bằng cách ủ các lát cắt mô với kháng thể đơn dòng 14F7 (20 μ g/mL) trong 30 phút, sau đó ủ với kháng thể kháng IgG của chuột được liên hợp với rhodamin (Dako, Carpinteria, California, USA). Mẫu đối chứng âm thu được bằng cách thay kháng thể sơ cấp (kháng thể đơn dòng 7A7 hoặc kháng thể đơn dòng 14F7) bằng dung dịch rửa TBS (1X). Sự biểu hiện đồng thời của EGFR và NeuGcGM3 gangliosit ở các khối u của chuột được xác định bằng kính hiển vi huỳnh quang Olympus BX51 (Olympus, Japan) và phân tích các ảnh chụp đã được số hóa bằng bộ xử lý ImageJ phiên bản 1.43u. Sự đồng khu trú của EGFR và NeuGcGM3 gangliosit ở các khối u của chuột được xác định bằng kính hiển vi laze đồng tiêu Flouview FV500 (Olympus, Japan).

Fig.1 thể hiện sự đồng khu trú của EGFR và NeuGcGM3 gangliosit ở các mẫu khối u khác nhau của chuột. EGFR được phát hiện bằng cách ủ các lát cắt mô với kháng thể đơn dòng biotinyl 7A7, sau đó ủ với streptavidin được liên hợp với FITC. Sự đồng khu trú của cả hai phân tử này ở các tế bào khối u của chuột được thể hiện bằng các điểm màu vàng trên Fig.1C và Fig.1D do có sự trùng khớp về màu sắc.

Ví dụ 3

Đánh giá khả năng sống sót của chuột C57BL/6 bị bệnh ung thư biểu mô phổi thể Lewis được điều trị bằng vacxin NeuGcGM3/VSSP và kháng thể đơn dòng 7A7.

Mô hình chuột bị di căn tự phát.

Các chuột được cấy vào gan bàn chân phải với 2×10^5 tế bào bệnh ung thư biểu mô phổi thể Lewis (3LL-D122) với thể tích bằng 0,05 mL ở ngày thứ 0 của quá trình thử nghiệm. Ở ngày thứ 3 của quá trình thử nghiệm, các chuột được chia ngẫu nhiên thành 4 nhóm thử nghiệm, mỗi nhóm gồm 10 chuột. Ở ngày thứ 24, khi kích cỡ khối u đạt đến 8-9mm, thì phẫu thuật khối u nguyên phát được thực hiện. Từ ngày thứ 48, bắt đầu quan sát tình trạng lâm sàng của các chuột. Dữ liệu sống sót được phân tích bằng phép kiểm định Log-hạng ma trận (phép kiểm định Log-rank), $P < 0,05$, và thể hiện trên đồ thị Kaplan-Meier. Kết quả bao gồm ba thử nghiệm được thực hiện trong các điều kiện giống nhau.

Các nhóm chuột thử nghiệm là như sau:

Nhóm 1: nhóm đối chứng không được điều trị. (T)

Nhóm 2: điều trị bằng liệu pháp kháng EGFR tích cực, được tiêm tĩnh mạch kháng thể đơn dòng 7A7 với liều bằng 56µg trong 200µL dung dịch nước muối vào các ngày thứ 3, 5, 7, 9, 31, 33 và 35 của quá trình thử nghiệm.

Nhóm 3: điều trị bằng liệu pháp kháng NeuGcGM3, được tiêm dưới da vaccin NeuGcGM3/VSSP với liều bằng 200µg trong 200µL vào các ngày thứ 7, 21, 35 và 47 của quá trình thử nghiệm.

Nhóm 4: điều trị đồng thời bằng các liệu pháp kháng EGFR và kháng NeuGcGM3 như được mô tả cho nhóm 2 và nhóm 3.

Fig.2A thể hiện kết quả thử nghiệm của việc sử dụng đồng thời các liệu pháp kháng EGFR và kháng NeuGcGM3 trên mô hình chuột bị bệnh ung thư biểu mô phổi di căn thể Lewis ở nhóm 4, đã làm tăng tỷ lệ chuột sống sót lên đến 60% so với các nhóm thử nghiệm còn lại. Một tuần sau khi kết thúc thử nghiệm, các chuột sống sót (một chuột ở nhóm 4) bị giết chết và thu lấy phổi của chúng. Phân tích vĩ mô cho thấy chỉ có một chuột bị di căn ở cả hai phổi, và cả hai phổi của các chuột còn lại đều bình thường. (Fig.2B). Kết quả thử nghiệm này đã kiểm chứng được rằng việc sử dụng đồng thời các liệu pháp kháng EGFR và kháng NeuGcGM3 trên mô hình chuột bị khối u ác tính ở phổi, trong đó EGFR và NeuGcGM3 gangliosit được đồng khu trú sẽ tạo ra tác dụng kháng khối u hiệp đồng (xem Ví dụ 2)

Ví dụ 4

Đánh giá khả năng sống sót của người bệnh ung thư được điều trị bằng kháng thể nimotuzumab và vaccin racotumumab với chất bổ trợ là nhôm oxit.

Dựa trên phát hiện về tần suất đồng khu trú và biểu hiện đồng thời của EGFR và NeuGcGM3 gangliosit trên các mẫu khối u ở phổi của người (Ví dụ 1); và bằng chứng cận lâm sàng được thể hiện trong Ví dụ 3, các tác giả sáng chế đã thực hiện nghiên cứu điều trị đồng thời bằng các liệu pháp kháng EGFR (kháng thể nimotuzumab) và kháng gangliosit (vaccin racotumumab với chất bổ trợ là nhôm oxit) ở người bệnh bị bệnh ung thư phổi đã điều trị bằng phác đồ chuẩn cho mỗi vị trí khối u và đang ở giai đoạn tiến triển bệnh.

Bảng 2 thể hiện kết quả thử nghiệm của liệu trình sử dụng kéo dài duy nhất vaccin racotumomab (1E10 với chất bổ trợ là nhôm oxit) hoặc kết hợp với nimotuzumab. Tỷ lệ sống sót của người bệnh bị bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ ở các giai đoạn tiến triển (tái phát và/hoặc di căn) thể hiện trên Bảng 2. Cần lưu ý rằng những người bệnh này đã được điều trị bằng tất cả các phác đồ chuẩn chỉ thích hợp để giảm đau, không đặc hiệu cho khối u ác tính và tại thời điểm thử nghiệm người bệnh đã ở giai đoạn tiến triển. Tỷ lệ sống sót ở nhóm người bệnh được điều trị đồng thời bằng các liệu pháp kháng cả EGFR và NeuGcGM3 gangliosit đã tăng đáng kể sau hai năm điều trị so với nhóm người bệnh chỉ được điều trị bằng liệu pháp duy nhất.

Bảng 2. Tỷ lệ sống sót của người bệnh bị bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ được điều trị bằng các liệu pháp kháng EGFR (kháng thể nimotuzumab) và kháng gangliosit (vaccin racotumomab với chất bổ trợ là nhôm oxit) sau hai năm điều trị.

Nhóm điều trị	Tỷ lệ sống sót sau 12 tháng (%)	Tỷ lệ sống sót sau 24 tháng (%)
Racotumomab với chất bổ trợ là nhôm oxit (n = 86)	42,7	16,1
Nimotuzumab (n = 165)	36,0	21,4
Racotumomab với chất bổ trợ là nhôm oxit và Nimotuzumab (n = 88)	40,7	37,7

Fig.3 thể hiện đáp ứng của người bệnh bị bệnh ung thư phổi tế bào không nhỏ với các liệu pháp điều trị tích cực kháng EGFR (nimotuzumab) và vaccin kháng idiotyp (racotumomab với chất bổ trợ là nhôm oxit) như nêu trên, những người bệnh này đã được điều trị bằng tất cả các phác đồ chuẩn chỉ thích hợp để giảm đau, không đặc hiệu cho khối u ác tính và tại thời điểm thử nghiệm người bệnh đã ở giai đoạn tiến triển. Fig.3A thể hiện sự khu trú và kích cỡ của khối u tại thời điểm chuẩn đoán. Fig.3B thể hiện kết quả chụp cắt lớp (Computed Tomography-CT) sau 2 năm điều trị. Như được thể hiện trên Fig.3B, chỉ quan sát thấy các vùng nguyên bào sợi tương ứng là các vùng có độ truyền qua tăng do các bóng sáng của giãn phế nang và không có tổn thương phổi. Sau 3 năm điều trị, xét nghiệm chuẩn đoán hình ảnh phóng xạ cũng cho kết quả tương tự. Điều này chứng tỏ rằng các liệu pháp điều trị nêu trên đã làm thuyên giảm hoàn toàn các khối u ở giai đoạn rất muộn.

Ví dụ 5

Đánh giá đáp ứng lâm sàng ở người bệnh bị bệnh ung thư tế bào quanh mao mạch tụy sau màng bụng được điều trị bằng kháng thể nimotuzumab và vaccin NeuGcGM3/VSSP.

Fig.4 thể hiện hình ảnh chụp cắt lớp vùng bụng của người bệnh bị u tế bào quanh mao mạch tụy sau màng bụng (khối u mô mềm), không đáp ứng với liệu pháp xạ trị và liệu pháp hóa trị. Sau 18 tháng chuẩn đoán ban đầu, người bệnh được điều trị bằng các liệu pháp kháng EGFR (nimotuzumab) và kháng gangliosit (vaccin NeuGcGM3/VSSP). Tại thời điểm thử nghiệm, người bệnh đã có cơn đau dữ dội và khối u nhói lên ở vùng quanh rốn và sút cân hơn 15kg. Fig.4A và Fig.4B tương ứng là các kết quả đánh giá tại thời điểm bắt đầu điều trị; Fig.4C và Fig.4D tương ứng là các kết quả đánh giá sau ba năm điều trị. Sau ba năm điều trị, có thể quan sát thấy được sự ổn định của bệnh, như được thể hiện trên cả hai hình ảnh chụp cắt lớp với kích cỡ khối u không đổi. Hơn nữa, sau 72 tháng điều trị, người bệnh vẫn có chất lượng cuộc sống rất tốt, có thể tiếp tục cuộc sống và làm việc. Cũng quan sát thấy kích cỡ của khối u có xu hướng giảm. Tóm lại, các liệu pháp nêu trên đã tạo ra đáng kể lợi ích điều trị trên lâm sàng.

Trong thời gian điều trị kéo dài, những người bị bệnh ung thư được điều trị bằng các liệu pháp miễn dịch kháng EGFR và kháng gangliosit theo sáng chế, có khả năng dung nạp rất tốt (không có độc tính đáng kể). Các liệu pháp này đã làm tăng sự ổn định của bệnh, tăng chất lượng cuộc sống, kéo dài thời gian tiến triển và tỷ lệ sống của người bệnh. Các liệu pháp theo sáng chế có tác dụng vượt trội hơn so với các đơn liệu pháp kháng EGFR hoặc kháng gangliosit truyền thống ở người bị bệnh ung thư.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm để điều trị khối u biểu hiện đồng thời các đích thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì và N-glycolyl GM3 gangliosit, chứa:

(a) nimotuzumab; và

(b) vaccin kháng NeuGcGM3 gangliosit được chọn từ nhóm bao gồm vaccin kháng NeuGcGM3 gangliosit với chất bổ trợ là hoạt chất có kích cỡ rất nhỏ (vaccin NeuGcGM3/VSSP- very small size particle) và vaccin kháng idiotyp racotumumab với chất bổ trợ là nhôm oxit.

2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó khối u được chọn từ nhóm bao gồm khối u phổi, khối u vú, khối u đường tiêu hóa, khối u hệ tiết niệu-sinh dục, khối u mô liên kết, khối u do các rối loạn tăng sinh mô thần kinh-biểu bì và rối loạn tăng sinh mô bạch huyết.

3. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó liều lượng của nimotuzumab nằm trong khoảng từ 100mg đến 400mg.

4. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó liều lượng của vaccin kháng NeuGcGM3 gangliosit với chất bổ trợ là hoạt chất có kích cỡ rất nhỏ (vaccin NeuGcGM3/VSSP- very small size particle) nằm trong khoảng từ 0,1mg đến 2mg.

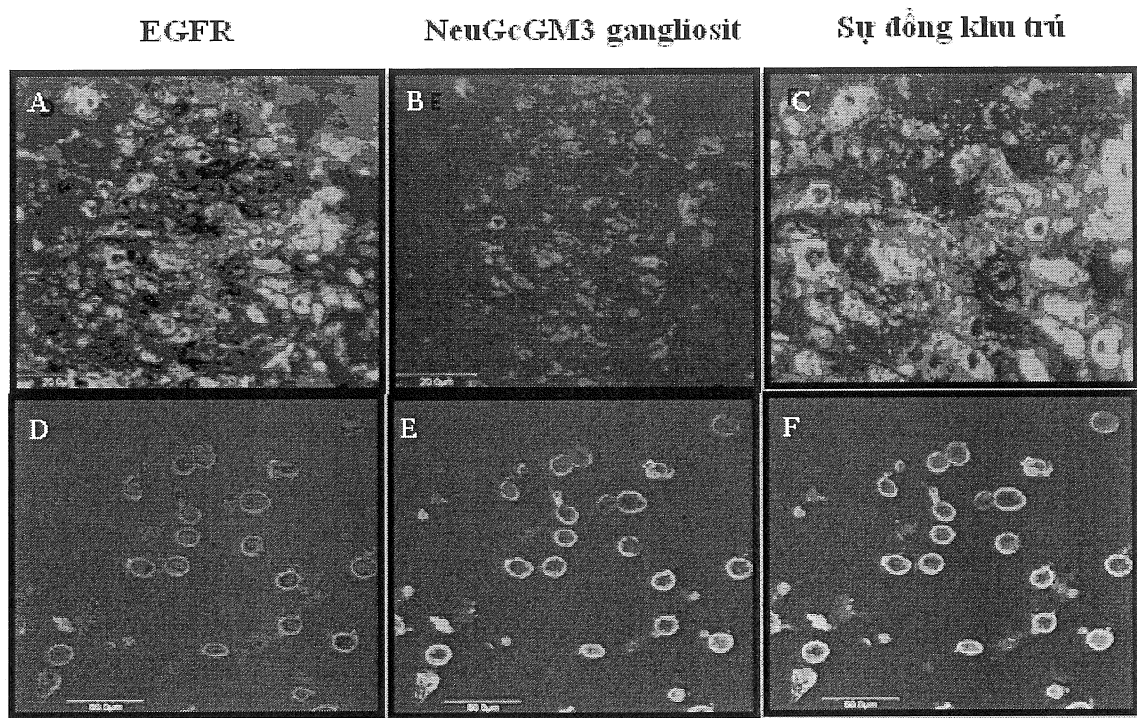
5. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó liều lượng của vaccin kháng idiotyp nằm trong khoảng từ 0,1mg đến 2mg.

6. Kit bao gồm dược chất để điều trị khối u biểu hiện đồng thời các đích thụ thể yếu tố sinh trưởng biểu bì và N-glycolyl GM3 gangliosit, trong đó dược chất của kit này bao gồm:

(a) nimotuzumab; và

(b) vaccin kháng NeuGcGM3 gangliosit được chọn từ nhóm bao gồm vaccin kháng NeuGcGM3 gangliosit với chất bổ trợ là hoạt chất có kích cỡ rất nhỏ (vaccin NeuGcGM3/VSSP- very small size particle) và vaccin kháng idiotyp racotumumab với chất bổ trợ là nhôm oxit

để sử dụng đồng thời, luân phiên hoặc đan xen.

**Fig.1**

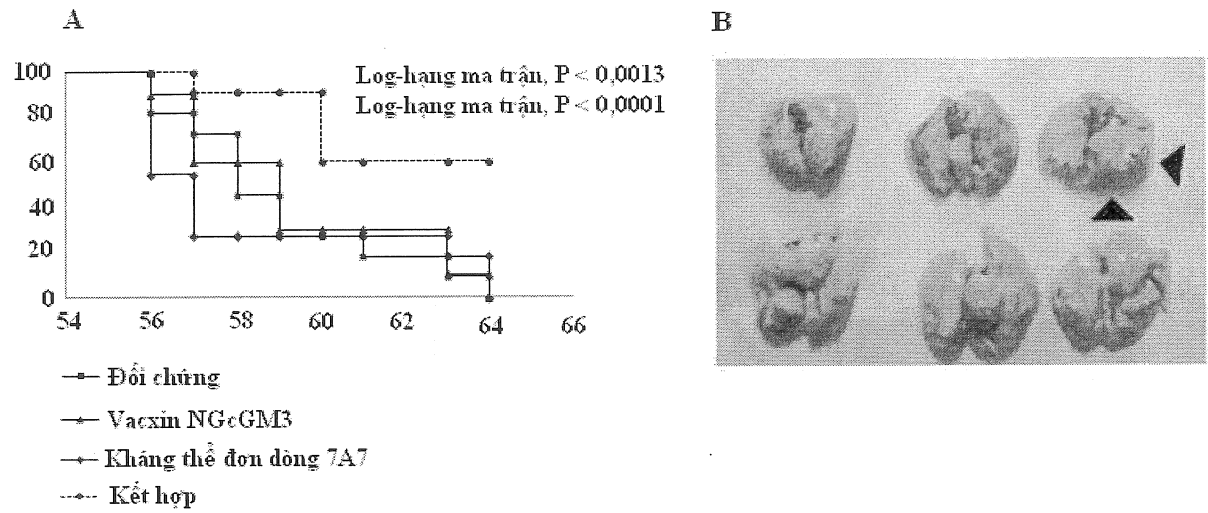


Fig.2

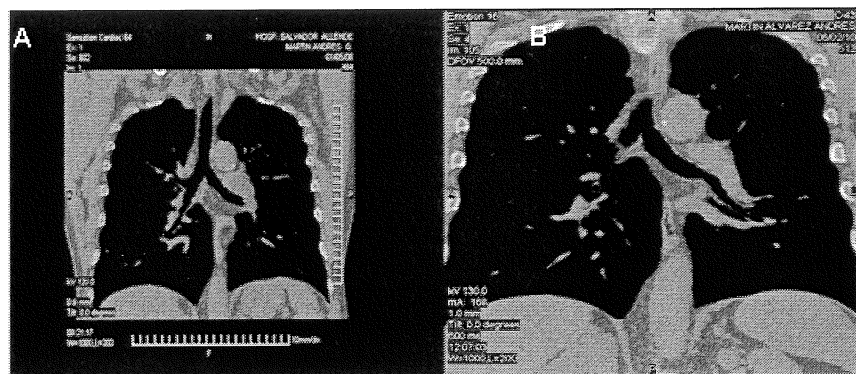


Fig.3

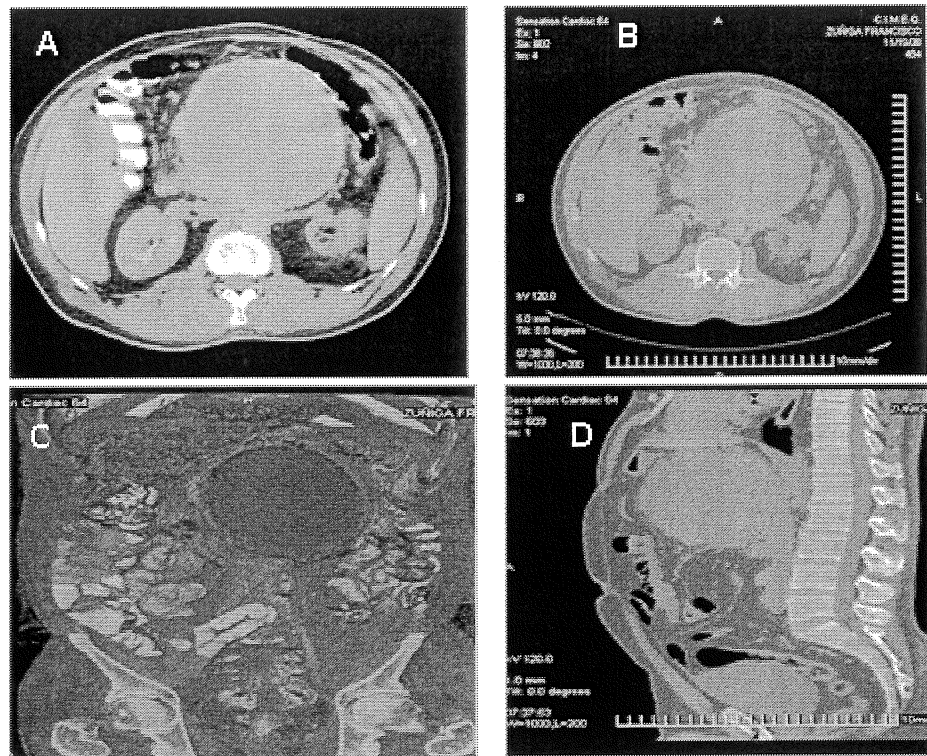


Fig.4