



(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)



1-0043397

(51)^{2020.01} A61K 39/00; A61P 37/04; A61K 9/12; (13) B
A61P 31/20; A61K 39/29; A61K 47/32

(21) 1-2020-02278

(22) 04/10/2018

(86) PCT/JP2018/037172 04/10/2018

(87) WO 2019/070019 A1 11/04/2019

(30) 2017-195262 05/10/2017 JP

(45) 25/02/2025 443

(43) 25/08/2020 389A

(73) 1. TOKO YAKUHI KOGYO CO., LTD. (JP)

14-25, Naniwa-cho, Kita-ku, Osaka-shi, Osaka 530-0022 Japan

2. TOKYO METROPOLITAN INSTITUTE OF MEDICAL SCIENCE (JP)

2-1-6, Kamikitazawa, Setagaya-ku, Tokyo 156-8506 Japan

3. Japan as represented by DIRECTOR GENERAL of National Institute of Infectious Diseases (JP)

23-1, Toyama 1-chome, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640 Japan

4. KAGOSHIMA UNIVERSITY (JP)

21-24, Korimoto 1-chome, Kagoshima-shi, Kagoshima 890-8580 Japan

5. NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION EHIME UNIVERSITY (JP)

10-13, Dogo-himata, Matsuyama-shi, Ehime 790-8577 Japan

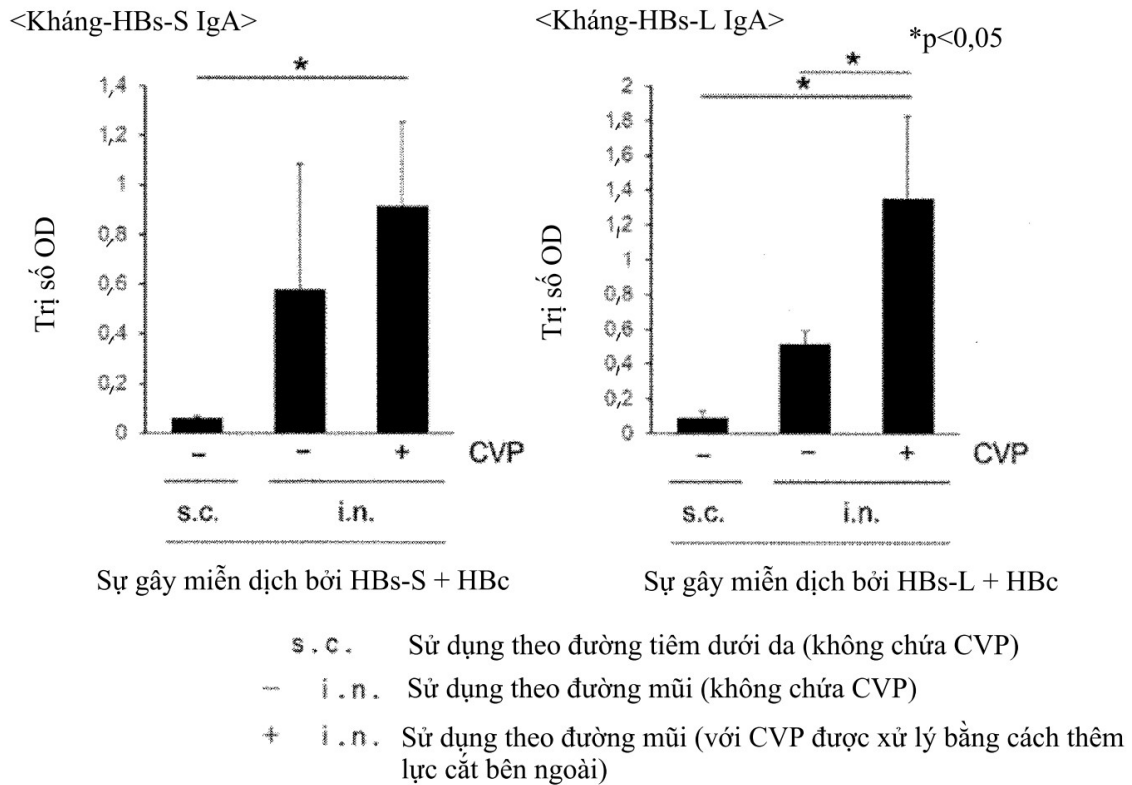
(72) KAMISHITA, Taizou (JP); MIYAZAKI, Takashi (JP); KOHARA, Michinori (JP);
SANADA, Takahiro (JP); HIASA, Yoichi (JP); YOSHIDA, Osamu (JP); KOHARA,
Kyoko (JP); HASEGAWA, Hideki (JP).

(74) Công ty TNHH một thành viên Sở hữu trí tuệ VCCI (VCCI-IP CO.,LTD)

(54) CHẾ PHẨM VACXIN VIÊM GAN B DÙNG QUA ĐƯỜNG MŨI

(21) 1-2020-02278

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm vaccin viêm gan B dùng để phun vào niêm mạc mũi để phòng ngừa và điều trị bệnh viêm gan B, chế phẩm này chứa kháng nguyên viêm gan B và polyme carboxy vinyl.



[Fig. 2]

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

[0001]

Sáng chế đề cập đến chế phẩm vacxin viêm gan B dùng qua đường phun vào niêm mạc mũi để phòng ngừa và điều trị bệnh viêm gan B, và quy trình bào chế chế phẩm này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

[0002]

Bệnh viêm gan B là bệnh viêm gan được gây ra bởi sự lây nhiễm virus viêm gan B (HBV - hepatitis B virus), mà lây nhiễm qua máu hoặc dịch thể. Sự lây nhiễm liên tục của HBV đối với tế bào gan có thể gây ra bệnh viêm gan mạn tính, bệnh xơ gan, ung thư tế bào gan.

[0003]

Quá trình điều trị bệnh viêm gan B mạn tính (CHB) hiện được tiến hành chủ yếu bằng cách sử dụng chế phẩm interferon (IFN) hoặc chế phẩm tương tự nucleosit (NA - nucleoside analog) như là liệu pháp hàng đầu. Trong liệu pháp IFN, đã có báo cáo là có một số ví dụ hữu hiệu mà gia tăng tính miễn dịch duy trì sự ức chế đối với sự phát triển của virus một cách hữu hiệu, nhưng nói chung, liệu pháp IFN có tốc độ thanh thải HBV thấp và tác dụng phụ mạnh, đây là một nhược điểm lớn. Mặt khác, liệu pháp NA có tốc độ thanh thải HBV cao khoảng 95%, nhưng hiệu quả trị liệu chỉ là tạm thời và nó không thể chữa khỏi bệnh hoàn toàn. Như vậy, cần phải chấp nhận điều trị suốt đời. Do vậy, liệu pháp NA cũng có các nhược điểm lớn về sự tuân thủ và điều kiện kinh tế trong quá trình trị liệu, và sự nảy sinh tình trạng virus kháng thuốc sau khi sử dụng trong thời gian dài đã được báo cáo. Do vậy, đã mong muốn phát triển liệu pháp mới để điều trị bệnh CHB.

[0004]

Để phòng ngừa sự lây nhiễm HBV ở Nhật Bản, những người mà có nguy cơ lây nhiễm cao (ví dụ, các thành viên trong gia đình của người mang HBV, các nhân viên y tế) được tiêm phòng, nhờ đó đã đạt được một số kết quả tốt trong việc giảm mạnh thể

mang HBV. Để điều trị bệnh CHB, liệu pháp miễn dịch bằng vacxin HBV cũng đã được thử nghiệm trong quá khứ, nhưng chưa thực sự thành công trong quá trình điều trị.

[0005]

Để thử liệu pháp miễn dịch, các tác giả sáng chế đã lưu ý đến thực tế rằng có nhiều kháng nguyên trong HBV, và đã chú ý đến kháng nguyên HBs (hepatitis B surface antigen – kháng nguyên bề mặt viêm gan B) trong số các kháng nguyên HBV, mà có thể sinh ra kháng thể trung hòa. Ngoài ra, cùng với sự phát triển nghiên cứu kỹ thuật gần đây, rõ ràng là tính miễn dịch tập nhiễm đối với kháng nguyên HBc (hepatitis B nucleocapsid antigen - kháng nguyên capsit nhân viêm gan B) có thể góp phần vào việc ức chế sự sinh trưởng của HBV và ngăn chặn HBV.

Trong khi đó, Trung tâm kiểm soát dược phẩm, dụng cụ và thiết bị y tế quốc gia của Cuba (Center for the State Control of Medicines, Equipment and Medical Devices (CECMED)) đã phát triển vacxin dùng qua đường mũi để điều trị bệnh viêm gan B mà bao gồm hai loại kháng nguyên, kháng nguyên HBs và kháng nguyên HBc, và sau đó đã thành công trong việc bán sản phẩm ra thị trường dưới tên thương mại: HeberNasvacTM (tài liệu phi sáng chế 1), sau khi tiến hành thử nghiệm lâm sàng ở Bangladesh. Tuy nhiên, trong phương pháp dùng sản phẩm này, bắt buộc phải sử dụng kết hợp với sự tiêm chủng dưới da để đạt được đáp ứng miễn dịch đầy đủ, tức là, đây là sự dùng vacxin hai chu trình, không hoàn toàn là vacxin dùng cho niêm mạc mũi.

[0006]

Như nêu trên, chế phẩm vacxin dùng qua đường mũi rất hữu ích làm vacxin HBV cho sự điều trị và phòng ngừa đã được mong muốn làm vacxin viêm gan B thế hệ tiếp theo, nhưng chế phẩm vacxin này chưa được tạo ra hoàn toàn.

Giải pháp kỹ thuật trước

Tài liệu sáng chế

[0007]

Tài liệu sáng chế 1: WO2007/123193

Tài liệu phi sáng chế

[0008]

Tài liệu phi sáng chế 1: HeberNasvac package insert

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

[0009]

Vấn đề kỹ thuật

Một mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm vaccin viêm gan B để sử dụng dùng qua đường phun vào niêm mạc mũi, mà không cần bất kỳ sự sử dụng song song như sử dụng theo đường tiêm dưới da, và không chứa bất kỳ thành phần phụ trợ có các vấn đề liên quan đến độc tính như tá dược và quy trình bào chế chế phẩm này.

[0010]

Cách thức giải quyết vấn đề

Các tác giả sáng chế đã nghiên cứu kỹ lưỡng về vấn đề được nêu ở trên và đã nhận thấy rằng tổ hợp gồm (i) (chất) nền gel dùng để phun vào niêm mạc mũi chứa polyme carboxy vinyl mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài để bổ sung tính năng phun và (ii) 2 loại kháng nguyên, kháng nguyên HBs và kháng nguyên HBc, để tăng cường sự gây miễn dịch ở người chỉ bằng cách sử dụng theo đường mũi mà không cần tá dược. Dựa vào các phát hiện mới này, sáng chế đã được hoàn thành. Sáng chế có thể có các phương án sau đây.

[0011]

[1] Chế phẩm vaccin viêm gan B dùng qua đường phun vào niêm mạc mũi chứa (i) kháng nguyên bề mặt viêm gan B (kháng nguyên HBs) và/hoặc kháng nguyên capsit nhân viêm gan B (kháng nguyên HBc), và (ii) chất nền gel chứa polyme carboxy vinyl mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài để bổ sung tính năng phun.

[0012]

[2] Chế phẩm vaccin viêm gan B dùng qua đường phun vào niêm mạc mũi theo mục [1], trong đó lượng của (i) vaccin viêm gan B nằm trong khoảng từ 0,01 đến 10mg/mL trên

mỗi kháng nguyên.

[0013]

[3] Chế phẩm vacxin viêm gan B dùng qua đường phun vào niêm mạc mũi theo mục [1] hoặc [2], mà chứa từ 0,1% trọng lượng/thể tích đến 1,0% trọng lượng/thể tích của polyme carboxy vinyl.

[0014]

[4] Chế phẩm vacxin viêm gan B dùng qua đường phun vào niêm mạc mũi theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [3], trong đó tính năng phun là để điều chỉnh (1) mức phân bố theo cỡ hạt của chế phẩm phun, (2) mức đồng đều của mật độ phun, và/hoặc (3) góc phun.

[0015]

[5] Chế phẩm vacxin viêm gan B dùng qua đường phun vào niêm mạc mũi theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [4], trong đó chế phẩm vacxin viêm gan B được bào chế bằng cách xử lý chất nền gel chứa từ 0,5% trọng lượng/thể tích đến 2,0% trọng lượng/thể tích của polyme carboxy vinyl bằng cách thêm lực cắt bên ngoài để điều chỉnh (1) mức phân bố theo cỡ hạt của chế phẩm phun, (2) mức đồng đều của mật độ phun, và/hoặc (3) góc phun, như là tính năng phun, để tạo ra chất nền gel, và sau đó

trộn chất nền gel thu được với dung dịch gốc virut chứa kháng nguyên HBs và/hoặc kháng nguyên HBc đồng nhất trong thời gian ngắn mà không cần ứng suất.

[0016]

[6] Chế phẩm vacxin viêm gan B dùng qua đường phun vào niêm mạc mũi theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [5], chế phẩm này được bào chế với chất nền gel chứa polyme carboxy vinyl mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài để bổ sung tính năng phun mà để điều chỉnh (1) về mức phân bố theo cỡ hạt của chế phẩm phun, kích cỡ hạt trung bình nằm trong khoảng từ 50 μ m đến 120 μ m, và mức phân bố hạt từ 10 μ m đến 100 μ m là bằng hoặc lớn hơn 50%,

(2) mật độ phun là đồng đều để tạo thành dạng hình nón hoàn chỉnh đồng nhất, và

(3) góc phun được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 30° đến 70°.

[0017]

[7] Chế phẩm vacxin viêm gan B dùng qua đường phun vào niêm mạc mũi theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [5], chế phẩm này được bào chế với chất nền gel chứa polyme carboxy vinyl mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài để bổ sung tính năng phun mà dùng để điều chỉnh (1) về mức phân bố theo cỡ hạt của chế phẩm phun, kích cỡ hạt trung bình nằm trong khoảng từ 70µm đến 100µm, và mức phân bố hạt từ 10µm đến 100µm là bằng hoặc lớn hơn 60%,

(2) mật độ phun là đồng đều để tạo thành dạng hình nón hoàn chỉnh đồng nhất, và

(3) góc phun được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 40° đến 60°.

[0018]

[8] Chế phẩm vacxin viêm gan B dùng qua đường phun vào niêm mạc mũi theo mục bất kỳ trong số các mục từ [1] đến [7] mà chứa chất nền gel dùng để phun chứa polyme carboxy vinyl mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài để điều chỉnh (1) mức phân bố theo cỡ hạt của chế phẩm phun, (2) mức đồng đều của mật độ phun, và (3) góc phun, để cho phép thiết bị phun mà không có chức năng bơm mà không có chức năng bơm thực hiện sự phun.

[0019]

Hiệu quả của sáng chế

Sáng chế có thể gây ra đáp ứng miễn dịch hữu hiệu với lượng nhỏ của kháng nguyên trong chế phẩm vacxin chứa kháng nguyên HBs và kháng nguyên HBc làm hoạt chất, do vậy sáng chế có thể tạo ra chế phẩm vacxin viêm gan B dùng để phun vào niêm mạc mũi, mà không cần bất kỳ sự sử dụng song song như sử dụng theo đường tiêm dưới da, và không cần bất kỳ tá dược nào. Ngoài ra, sáng chế có thể tạo ra phương pháp dễ sử dụng, có tác dụng phụ thấp, và có thể mang lại sự đáp ứng miễn dịch đầy đủ, như vậy sáng chế có thể được sử dụng không chỉ để phòng ngừa bệnh viêm gan B, mà còn điều trị

bệnh viêm gan B, cụ thể là, hữu ích để điều trị dứt điểm CHB thông qua việc sử dụng liên tục chế phẩm vaccin có hoạt tính tiềm tàng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

[0020]

Fig. 1 thể hiện các kết quả đáp ứng miễn dịch, tức là, các kết quả về độ chuẩn kháng thể trung hòa mà được đo một tuần sau lần tiêm chủng sau cùng. Trong các đồ thị này, s.c. (subcutaneous-inoculation) là sự tiêm chủng dưới da, và i.n. (nasal-inoculation) là sự tiêm chủng qua mũi. Chất nền thể hiện CVP mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài, trong đó (-) là chất nền mà không chứa CVP, và (+) là chất nền mà chứa CVP.

Fig. 2 thể hiện các kết quả đáp ứng miễn dịch, tức là, các kết quả về độ chuẩn kháng thể IgA mà được đo một tuần sau lần tiêm chủng sau cùng. Trong các đồ thị này, s.c. là sự tiêm chủng dưới da, và i.n. là sự tiêm chủng qua mũi. Chất nền thể hiện CVP mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài, trong đó (-) là chất nền mà không chứa CVP, và (+) là chất nền mà chứa CVP.

Mô tả chi tiết sáng chế

[0021]

Sáng chế đề xuất chế phẩm vaccin viêm gan B dùng để phun vào niêm mạc mũi, chứa chất nền gel chứa polyme carboxy vinyl mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài để bổ sung tính năng phun, và bệnh viêm gan B kháng nguyên.

[0022]

"Chất nền gel chứa polyme carboxy vinyl mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài để bổ sung tính năng phun" được sử dụng ở đây có nghĩa là, ví dụ, "chất nền gel chứa tác nhân bám dính lên da/niêm mạc" được bộc lộ trong WO 2007/123193, là chất nền chứa polyme carboxy vinyl và tùy ý bao gồm gồm gellan, mà có độ nhớt được điều chỉnh bằng cách thêm lực cắt bên ngoài. Lực cắt bên ngoài thực được bộc lộ trong WO 2007/123193 không đơn giản là sự khuấy hoặc rung lắc, tức là, quá trình tạo ra lực cắt ở đây có thể được thực hiện bằng thiết bị đã biết bởi người có hiểu biết trung bình

trong lĩnh vực này, ví dụ, thiết bị tạo nhũ kiểu quay tốc độ cao, thiết bị tạo nhũ kiểu nghiền keo, thiết bị tạo nhũ cao áp, thiết bị tạo nhũ kiểu nghiền lăn, thiết bị tạo nhũ kiểu siêu âm và thiết bị tạo nhũ kiểu màng có thể được sử dụng là thiết bị tạo ra lực cắt. Đặc biệt, thiết bị tạo nhũ kiểu máy trộn đồng nhất, thiết bị tạo nhũ kiểu hình lược, và thiết bị tạo nhũ kiểu tạo dòng tia gián đoạn, thiết bị tạo nhũ kiểu quay tốc độ cao là được ưu tiên. Chất nền khác biệt ở chỗ độ nhớt của nó có thể được điều chỉnh đến các độ nhớt khác nhau bằng cách bổ sung lực cắt bên ngoài, và góc phun từ bình phun và mật độ phun có thể được điều chỉnh để phù hợp với mục đích.

[0023]

Thiết bị được sử dụng theo cách phun không bị giới hạn miễn là thiết bị này là thiết bị phun vào mũi thường được sử dụng, và nó cũng có thể bao gồm thiết bị phun không có chức năng bơm. Ví dụ, bình phun kiểu không có không khí giảm áp suất phía trên được bộc lộ trong WO 2007/123193 (xem các fig. 1 và fig. 2) và WO 2007/123207 (xem các fig. 1 – fig. 11) dưới dạng bình phun đa liều có thể được sử dụng cho mục đích này bởi vì bình phun này có thể được thiết lập để được phun ở góc bất kỳ hoặc khoảng góc bất kỳ và có thể được sử dụng cho đến khi không còn gì trong bình chứa, thích hợp để chủng cho nhiều ngựa ở các nước đang phát triển. Và, về thiết bị dùng một lần được sử dụng cho chỉ một người cần được dùng vaccin, vòi phun mũi được bộc lộ trong WO 2015/199130 (xem các fig. 1 – fig. 4) có thể được sử dụng. Trong sáng chế, kháng nguyên viêm gan B được sử dụng cùng với thiết bị dung để phun có thể được lan rộng vào niêm mạc mũi trong khoảng thời gian dài, nhờ đó khả năng sinh miễn dịch của vaccin có thể được tăng cường.

[0024]

Polyme carboxy vinyl mà là một thành phần nguyên liệu của chất nền gel trong sáng chế là polyme có thể hút nước được điều chế bằng cách polyme hóa axit acrylic như là thành phần chính. Chất nền gel có thể được bổ sung các thành phần bất kỳ mà có thể được chọn từ các chất phụ gia được mà thường được sử dụng để điều chế chất gel dạng

nước mà không có bất kỳ sự giới hạn nào.

Hàm lượng của chất nền gel chứa polyme carboxy vinyl mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài để bổ sung tính năng phun nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1,0% trọng lượng/thể tích, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,3 đến 0,7% trọng lượng/thể tích làm hàm lượng của polyme carboxy vinyl.

[0025]

Vaccin của sáng chế khác biệt ở chỗ chứa kháng nguyên viêm gan B kiểu bề mặt và/hoặc kiểu nhân (kháng nguyên HBs, kháng nguyên HBc) làm kháng nguyên. Kháng nguyên viêm gan B được sử dụng ở đây có nghĩa là kháng nguyên bề mặt viêm gan B và kháng nguyên capsit nhân viêm gan B mà được bào chế trong nấm men nhờ công nghệ ADN tái tổ hợp.

Về kháng nguyên viêm gan B nêu trên, dung dịch gốc virus của nó được sử dụng ở đây, mà được tinh chế hoặc được cô để được trộn với chất nền gel dùng để phun vào niêm mạc mũi. Đối với vaccin theo sáng chế, nồng độ của mỗi kháng nguyên virus viêm gan B tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,01 đến 10mg/mL, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 0,05 đến 5mg/mL.

Kháng nguyên bề mặt viêm gan B (HBsAg) mang dạng hạt (đường kính: khoảng 50 đến 60nm) trong đó có nhiều protein kháng nguyên trên màng lipid. Các protein kháng nguyên bao gồm ba vùng ban đầu (S, Pre-S1, Pre-S2). Các protein kháng nguyên được phân biệt như sau: kháng nguyên có cả ba vùng là HBsAg L-protein, kháng nguyên thiếu Pre-S1 là HBsAg M-protein, và kháng nguyên thiếu Pre-S1 và Pre-S2 là HBsAg S-protein. Tất cả các kháng nguyên này có thể được bào chế bằng cách sử dụng nấm men tái tổ hợp.

[0026]

Tá được là thuật ngữ chung về chất có hoạt tính điều biến đáp ứng miễn dịch như tăng cường và ức chế, và được sử dụng làm tác nhân tiềm tàng miễn dịch cần được bổ sung vào vaccin để tăng cường khả năng sinh miễn dịch của kháng nguyên. Cho đến nay,

rất nhiều tá dược đã được nghiên cứu. Sử dụng tá dược gia tăng hiệu quả miễn dịch của vaccin, nhưng nó có nhược điểm là có các tác dụng phụ như gây viêm. Một số tá dược có thể được chọn làm chất được sử dụng trong vaccin dùng qua đường mũi, nhưng chưa có bất kỳ vaccin dùng qua đường mũi chứa tá dược được chấp thuận bởi vì chưa có tá dược nào có sự an toàn.

[0027]

Cụm từ "mà không cần ứng suất" được sử dụng ở bước trộn chất nền gel với dung dịch gốc virus có nghĩa là việc trộn được tiến hành mà không cần nhiệt, áp suất, v.v. và không cần sự khuấy tốc độ cao.

[0028]

Các tác giả sáng chế đã nhận thấy rằng có thể bào chế vaccin có hiệu lực cao và tác dụng phụ thấp cho dù không chứa tá dược và mức kháng nguyên thấp, không cần phải kết hợp với đường sử dụng khác như tiêm chủng vaccin dưới da, khi chất nền gel mà có tính năng phun hữu ích nêu trên như tính chất bám dính cao vào niêm mạc mũi được sử dụng cùng với vaccin viêm gan B nêu trên. Ngoài ra, các tác giả sáng chế cũng đã nhận thấy rằng sử dụng thiết bị mà có thể phun chất nền gel có độ nhớt cao, chế phẩm vaccin viêm gan B có thể được phun vào niêm mạc mũi, trong đó kích cỡ hạt trung bình của chế phẩm phun nằm trong khoảng thích hợp từ 50 μ m đến 120 μ m (tốt hơn là nằm trong khoảng từ 70 μ m đến 100 μ m), mức phân bố theo cỡ hạt từ 10 μ m đến 100 μ m là bằng hoặc lớn hơn 50% (tốt hơn là, bằng hoặc lớn hơn 60%), góc phun từ thiết bị được thiết lập nằm trong khoảng từ 30° đến 70° (tốt hơn là, nằm trong khoảng từ 40° đến 60°) sao cho chế phẩm có thể được phân phối đến vị trí mong muốn trong khoang mũi, và mật độ phun là đồng đều để tạo thành dạng hình nón hoàn chỉnh đồng nhất. Hơn nữa, các tác giả sáng chế cũng phát hiện ra quy trình sản xuất chế phẩm này và phương pháp phòng ngừa và điều trị bệnh viêm gan B bằng cách sử dụng chế phẩm này. Dựa vào các phát hiện mới này, sáng chế đã được hoàn thành.

[0029]

Thuật ngữ "dạng hình nón hoàn chỉnh" mà được sử dụng để biểu thị mật độ phun đồng đều và không lệch là một trong số các mẫu phun, và dạng hình nón hoàn chỉnh có nghĩa là một vòng tròn hoàn chỉnh đồng nhất. Từ trái nghĩa là "hình nón rỗng" mà có dạng hình xuyên.

[0030]

Vacxin theo sáng chế có thể chứa (các) chất mang được dụng bổ sung ngoài các kháng nguyên virus viêm gan B và chất nền gel dùng để phun vào niêm mạc mũi. Chất mang được sử dụng ở đây có thể là chất mang mà thường được sử dụng trong quy trình bào chế vaccin hoặc chế phẩm sử dụng trong khoang mũi, mà bao gồm, ví dụ, nước muối, nước muối đậm, dextroza, nước, glycerin, dung dịch đậm đặc trưng chứa nước, và hỗn hợp của chúng. Và, vaccin theo sáng chế có thể tùy ý chứa chất bảo quản (ví dụ, thimerosal), chất đẳng trương, chất điều chỉnh độ pH, chất hoạt động bề mặt, chất làm ổn định (ví dụ, dinatri edetat hydrat), và chất làm mất hoạt tính (ví dụ, formalin).

[0031]

Liều dùng của vaccin được quyết định theo độ tuổi, giới tính và thể trọng của đối tượng, và nói chung vaccin có thể được dùng với liều lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 100µg trên một loại kháng nguyên, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10µg, một lần, hai lần, hoặc nhiều lần. Tốt hơn là, vaccin được dùng nhiều lần. Trong trường hợp này, khoảng thời gian sử dụng tốt hơn là từ 1 đến 4 tuần.

Ví dụ thực hiện sáng chế

[0032]

Sau đây, sáng chế được giải thích dựa vào các ví dụ, nhưng không bị giới hạn ở đó.

[0033]

Theo các phương pháp được thể hiện dưới đây, các chất nền gel và dung dịch gốc virus viêm gan B được điều chế, và mỗi chất nền gel và mỗi dung dịch gốc virus được trộn như được biểu hiện dưới đây để tạo thành các chế phẩm vaccin viêm gan B.

Bào chế chất nền gel

Ví dụ về chất nền gel (1)

Thành phần	Lượng	Quy trình bào chế
Polyme carboxy vinyl	11,0mg	Mỗi thành phần được thể hiện ở cột bên trái được trộn với tỷ lệ tương ứng với từng lượng được thể hiện, và được khuấy cho đến khi đồng nhất. Sau đó, hỗn hợp được thêm một lực cắt bên ngoài bằng cách quay tốc độ cao với thiết bị tạo nhũ kiểu quay tốc độ cao kiểu tạo dòng tia gián đoạn. Chất nền thu được mà có độ nhớt được điều chỉnh thích hợp bằng lực cắt bên ngoài được gia nhiệt ở 90°C trong 20 phút để tạo ra chất nền gel.
L-arginin	24,0mg	
Glyxerin đặc	20,0mg	
Nước tinh khiết	lượng vừa đủ	
Tổng	1,0mL	Về bề ngoài: chất nền gel trong và không màu, gần như không mùi. Độ pH: 7,29 Độ nhớt: 3800mPa·s

[0034]

Bào chế dung dịch gốc virus chứa kháng nguyên virus viêm gan B

Ví dụ về dung dịch gốc virus (1)

Thành phần	Lượng
HBsAg S-protein	0,2mg
HbcAg	0,2mg
Natri clorua	8,0mg
Kali clorua	0,2mg
Dinatri hydrophosphat (khan)	1,15mg
Natri dihydrophosphat (khan)	0,2mg
Nước tinh khiết	Tổng 1mL

[0035]

Ví dụ về dung dịch gốc virus (2)

Thành phần	Lượng
HBsAg L-protein	0,2mg
HBcAg	0,2mg
Natri clorua	8,0mg
Kali clorua	0,2mg
Dinatri hydrophosphat (khan)	1,15mg
Natri dihydrophosphat (khan)	0,2mg
Nước tinh khiết	Tổng 1mL

[0036]

Hỗn hợp của chất nền gel và dung dịch gốc virus

Ví dụ về dung dịch gốc virus (1) hoặc Ví dụ về dung dịch gốc virus (2), và ví dụ về

chất nền gel (1) nêu trên được trộn theo tỷ lệ 1:1 dưới điều kiện có khuấy để tạo ra chế phẩm vaccin viêm gan B đồng nhất dùng qua đường mũi (ví dụ 1 hoặc ví dụ 2). Quá trình trộn dưới điều kiện có khuấy có thể được hoàn thành một cách nhẹ nhàng và trong thời gian ngắn mà không cần tác dụng ứng suất như nhiệt và áp suất lên kháng nguyên vaccin viêm gan B. Lượng của mỗi thành phần trong chế phẩm vaccin viêm gan B thu được, các tính chất vật lý của nó, và tính năng phun của nó bắt nguồn bằng cách phun chế phẩm bằng thiết bị thích hợp cũng được thể hiện.

[0037]

Ví dụ 1

Thành phần	Lượng	Tính chất vật lý/tính năng phun
HBsAg L-protein	0,10mg	Độ pH: 7,16
HBcAg	0,10mg	Độ nhớt: 505mPa·s
Polyme carboxy vinyl	5,50mg	Tính năng phun khi phun 250μL dung dịch bằng thiết bị phun mà không có chức năng bơm:
L-arginin	12,00mg	·Cỡ hạt trung bình của chế phẩm được phun: 88,2μm
Glycerin đặc	10,00mg	·Tỷ lệ cỡ hạt giữa 10μm và 100μm: 66,3%
Natri clorua	4,00mg	·Góc phun từ thiết bị: 55°
Kali clorua	0,10mg	·Mật độ phun: tỏa tròn đều hình nón hoàn chỉnh
Dinatri hydrophosphat (khan)	5,75mg	
Natri dihydrophosphat (khan)	0,10mg	
Nước tinh khiết	lượng vừa đủ	
Tổng	1,0mL	

[0038]

Ví dụ 2

Thành phần	Lượng	Tính chất vật lý/tính năng phun
HBsAg S-protein	0,10mg	Độ pH: 7,16
HBcAg	0,10mg	Độ nhớt: 503mPa·s
Polyme carboxy vinyl	5,50mg	Tính năng phun khi phun 250μL dung dịch bằng thiết bị phun mà không có chức năng bơm:
L-arginin	12,00mg	·Cỡ hạt trung bình của chế phẩm được phun: 84,5μm
Glycerin đặc	10,00mg	·Tỷ lệ cỡ hạt giữa 10μm và 100μm: 65,9 %
Natri clorua	4,00mg	·Góc phun từ thiết bị: 53°
Kali clorua	0,10mg	·Mật độ phun: tỏa tròn đều hình nón hoàn chỉnh
Dinatri hydrophosphat (khan)	5,75mg	
Natri dihydrophosphat (khan)	0,10mg	
Nước tinh khiết	lượng vừa đủ	
Tổng	1,0mL	

[0039]

Chế phẩm vaccin viêm gan B dùng qua đường mũi không chứa chất nền gel được bào chế theo các bảng được thể hiện dưới đây.

Ví dụ so sánh 1

Thành phần	Lượng
HBsAg L-protein	0,10mg
HBcAg	0,10mg
Natri clorua	8,0mg
Kali clorua	0,2mg
Dinatri hydrophosphat (khan)	1,15mg
Natri dihydrophosphat (khan)	0,2mg
Nước tinh khiết	lượng vừa đủ
Tổng	1,0mL

[0040]

Ví dụ so sánh 2

Thành phần	Lượng
HBsAg S-protein	0,10mg
HBcAg	0,10mg
Natri clorua	8,0mg
Kali clorua	0,2mg
Dinatri hydrophosphat (khan)	1,15mg
Natri dihydrophosphat (khan)	0,2mg
Nước tinh khiết	lượng vừa đủ
Tổng	1,0mL

[0041]

Nghiên cứu đáp ứng miễn dịch

Đối với các chế phẩm vaccin viêm gan B dùng qua đường mũi mà được bào chế trong các ví dụ 1 và 2 và các ví dụ so sánh 1 và 2, mỗi khả năng sinh kháng thể được đánh giá bằng các động vật thử nghiệm, chuột chũi, như được thể hiện dưới đây.

Sự sinh kháng thể đối với kháng thể

Chuột chũi (*Tupaia belangeri*, mua tại Kunming Institute of Zoology) được sử dụng làm động vật thử nghiệm được chia ngẫu nhiên thành 4 nhóm (2 nhóm mà mỗi nhóm gồm 4 con và 2 nhóm mà mỗi nhóm gồm 3 con). Hai nhóm mà mỗi nhóm gồm 4 con được cho sinh kháng thể bằng các chế phẩm của các ví dụ 1 và 2 thông qua đường mũi, và hai nhóm mà mỗi nhóm gồm 3 con được cho sinh kháng thể bằng các chế phẩm của các ví dụ so sánh 1 và 2 qua đường mũi. Đường phun vào mũi được thực hiện từ lỗ

mũi với ống tiêm cao áp và thiết bị phun chất lỏng. Các chế phẩm vaccin được chủng vào trong từng con chuột chũi ở lượng 0,05mL cho một lỗ mũi (tổng là 10 μ g của từng kháng nguyên cho cả hai lỗ mũi). Sau lần chủng vaccin đầu tiên, sự chủng vaccin được tiến hành mỗi 2 tuần, tổng số là 5 lần chủng, và sau đó, sau khoảng thời gian 4 tuần, sự chủng vaccin được tiến hành thêm một lần nữa. Máu được thu thập ở thời điểm của mỗi lần chủng vaccin và một tuần sau lần chủng sau cùng, và độ chuẩn kháng thể trung hòa được đánh giá với mỗi mẫu máu được thu thập.

Ngoài ra, 2 nhóm mới mà mỗi nhóm gồm 3 con chuột chũi được thành lập, và các ví dụ so sánh 1 và 2 được tiêm dưới da vào lưng của từng con chuột chũi với lượng 0,1mL (10 μ g của từng kháng nguyên). Sau đó, các con chuột chũi này được xử lý theo cách giống như thử nghiệm dùng qua đường mũi nêu trên (bao gồm sự dùng liên tục, thu thập máu, và đánh giá).

[0042]

Đo độ chuẩn kháng thể trung hòa và kháng thể IgA huyết thanh

Chất lỏng virus được sử dụng trong quá trình đo độ chuẩn kháng thể trung hòa được bào chế bằng cách gây nhiễm tế bào gan sơ cấp của người (PXB cell, do PhoenixBio Company sản xuất) với kiểu gen C của virus viêm gan B (C_JPNAT) và sau đó nuôi cấy nó. Thử nghiệm trung hòa được tiến hành với các tế bào HepG2-NTCP30, và độ chuẩn kháng thể trung hòa được đo theo cách thông thường.

Ngoài ra, kháng thể IgA huyết thanh đối với từng kháng nguyên được đo bằng phương pháp ELISA.

[0043]

Kết quả

Một tuần sau lần chủng sau cùng, độ chuẩn kháng thể trung hòa và độ chuẩn kháng thể IgA được đo và các kết quả được thể hiện ở bảng 1 và các Fig. 1 và 2. Các kết quả cho thấy rằng khả năng sinh kháng thể bằng cách chủng qua mũi là cao hơn so với khả năng sinh kháng thể của sự tiêm chủng dưới da, và cũng thể hiện rằng các chế phẩm

của các ví dụ 1 và 2 chứa polyme carboxy vinyl (CVP) mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài có thể đem lại khả năng sinh kháng thể cao hơn nhiều so với các chế phẩm của các ví dụ so sánh 1 và 2 mà không chứa CVP.

Bảng 1

		Độ chuẩn kháng thể trung hòa huyết thanh		Độ chuẩn kháng thể IgA huyết thanh (trị số OD)	
		HBs-S + HBc	HBs-L + HBc	Kháng-HBs-S IgA	Kháng-HBs-L IgA
Dưới da	Không có CVP	320	1280	0,062	0,133
		640	640	0,052	0,061
		80	160	0,067	0,082
Mũi	Không có CVP	2560	640	1,145	0,590
		1280	1280	0,169	0,435
		2560	640	0,417	0,515
	Chứa CVP mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài	5120	10240	1,171	1,430
		2560	5120	0,499	1,785
		10240	10240	1,208	0,676
		5120	10240	0,782	1,519

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm vacxin viêm gan B dùng để phun vào niêm mạc mũi chứa (i) kháng nguyên bề mặt viêm gan B (kháng nguyên HBs) và/hoặc kháng nguyên capsit nhân viêm gan B (kháng nguyên HBc), và (ii) chất nền gel chứa polyme carboxy vinyl mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài để bổ sung tính năng phun.
2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó lượng của (i) vacxin viêm gan B nằm trong khoảng từ 0,01 đến 10mg/mL trên mỗi kháng nguyên.
3. Chế phẩm theo điểm 1 hoặc 2, mà chứa từ 0,1% trọng lượng/thể tích đến 1,0% trọng lượng/thể tích của polyme carboxy vinyl.
4. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó tính năng phun là để điều chỉnh (1) mức phân bố theo cỡ hạt của chế phẩm phun, (2) mức đồng đều của mật độ phun, và/hoặc (3) góc phun.
5. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, chế phẩm này được bào chế bằng cách xử lý chất nền gel chứa từ 0,5% trọng lượng/thể tích đến 2,0% trọng lượng/thể tích của polyme carboxy vinyl bằng cách thêm lực cắt bên ngoài để điều chỉnh (1) mức phân bố theo cỡ hạt của chế phẩm phun, (2) mức đồng đều của mật độ phun, và/hoặc (3) góc phun, như là tính năng phun, để tạo ra chất nền gel, và sau đó
trộn chất nền gel thu được với dung dịch gốc virus chứa kháng nguyên HBs và/hoặc kháng nguyên HBc đồng nhất trong thời gian ngắn mà không cần ứng suất.
6. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, chế phẩm này được bào chế với chất nền gel chứa polyme carboxy vinyl mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài để bổ sung tính năng phun mà để điều chỉnh (1) về mức phân bố theo cỡ hạt của chế phẩm phun, kích cỡ hạt trung bình nằm trong khoảng từ 50µm đến 120µm, và mức phân bố hạt từ 10µm đến 100µm là bằng hoặc lớn hơn 50%,
(2) mật độ phun là đồng đều để tạo thành dạng hình nón hoàn chỉnh đồng nhất, và
(3) góc phun được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 30° đến 70°.
7. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, chế phẩm này được bào chế

với chất nền gel chứa polyme carboxy vinyl mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài để bổ sung tính năng phun mà để điều chỉnh (1) về mức phân bố theo cỡ hạt của chế phẩm phun, kích cỡ hạt trung bình nằm trong khoảng từ 70 μ m đến 100 μ m, và mức phân bố hạt từ 10 μ m đến 100 μ m là bằng hoặc lớn hơn 60%,

(2) mật độ phun là đồng đều để tạo thành dạng hình nón hoàn chỉnh đồng nhất, và

(3) góc phun được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 40° đến 60°.

8. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7 mà chứa chất nền gel dùng để phun chứa polyme carboxy vinyl mà được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài để điều chỉnh (1) mức phân bố theo cỡ hạt của chế phẩm phun, (2) mức đồng đều của mật độ phun, và (3) góc phun, để cho phép thiết bị phun mà không có chức năng bơm thực hiện sự phun.

Fig. 1

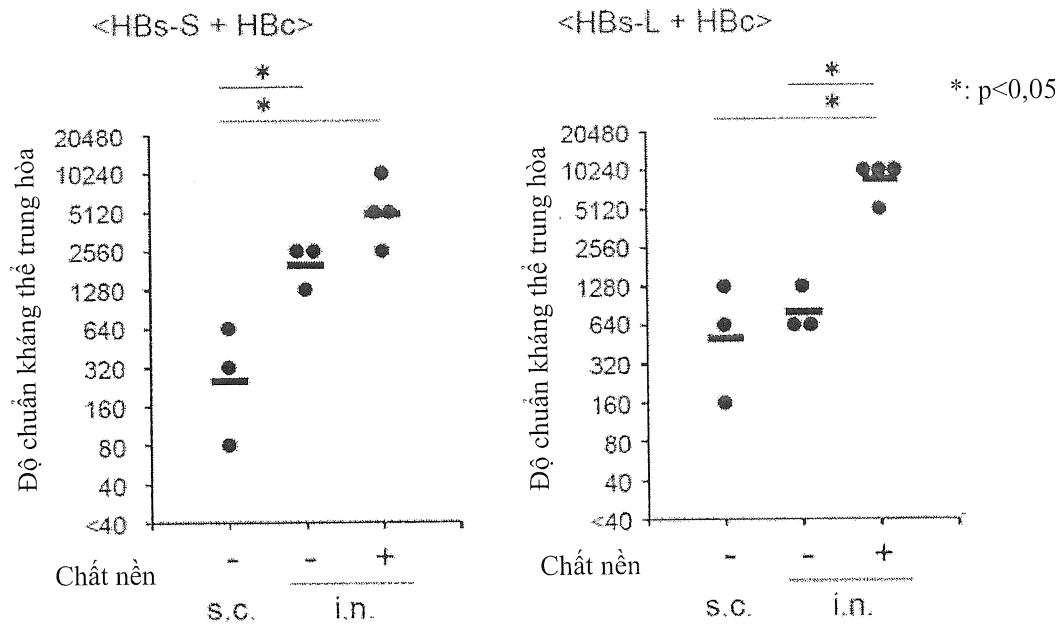
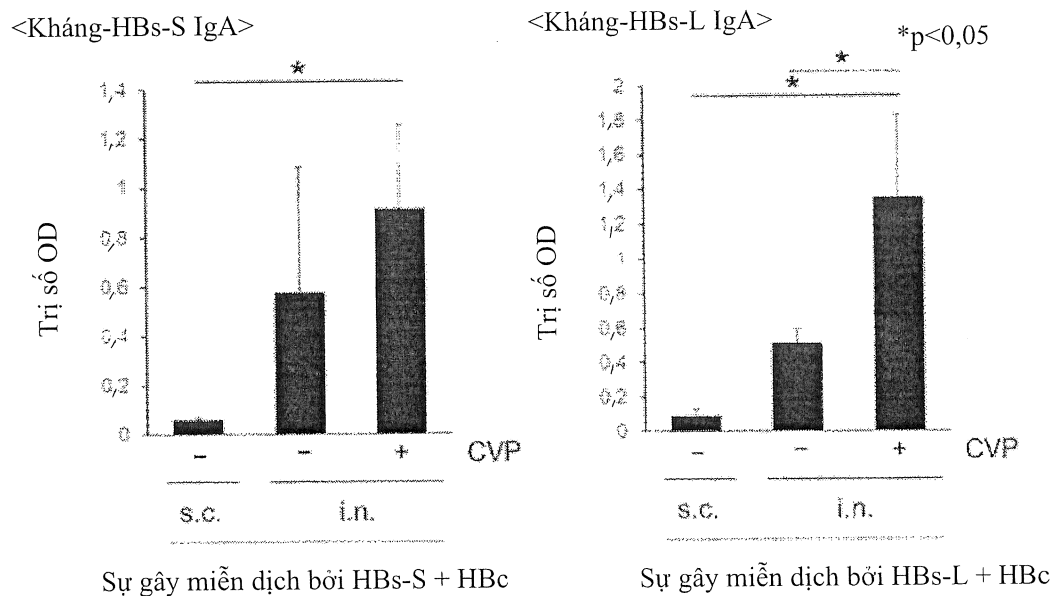


Fig. 2



- s.c. Sử dụng theo đường tiêm dưới da (không chứa CVP)
- i.n. Sử dụng theo đường mũi (không chứa CVP)
- + i.n. Sử dụng theo đường mũi (với CVP được xử lý bằng cách thêm lực cắt bên ngoài)