(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国 际 局

(43) 国际公布日
2021 年 12 月 2 日 (02.12.2021)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2021/238982 A1

(51) 国际专利分类号:
A61K 39/215 (2006.01) *A61P 31/14* (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2021/096048

(22) 国际申请日: 2021 年 5 月 26 日 (26.05.2021)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

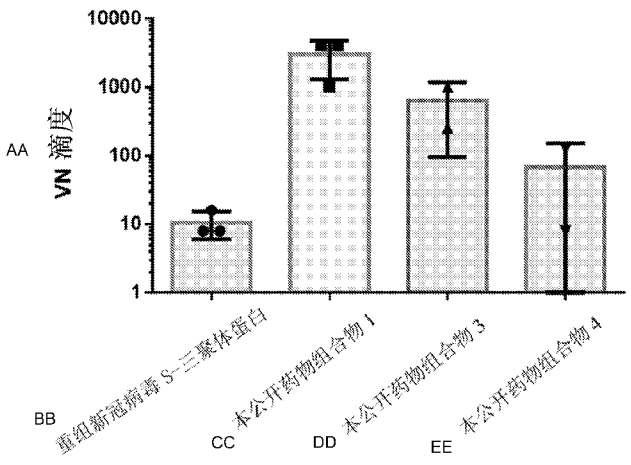
(30) 优先权:
202010475388.6 2020年5月29日 (29.05.2020) CN

(71) 申请人: 辽宁依生生物制药有限公司 (LIAONING YISHENG BIOPHARMA CO., LTD.) [CN/CN]; 中国辽宁省沈阳市新城子区财落镇大辛二村, Liaoning 110131 (CN)。 北京依生兴业科技有限公司 (BEIJING YISHENG XINGYE TECHNOLOGY CO., LTD.) [CN/CN]; 中国北京市大兴区中关村科技园区生物医药产业基地永大路38号2号楼3层302室, Beijing 102600 (CN)。 河南依生药业有限公司 (HENAN YISHENG PHARMA CO., LTD.) [CN/CN]; 中国河南省开封市汴西新区宋城路以南、五号路以东, Henan 475000 (CN)。

(72) 发明人: 张译 (ZHANG, Yi); 中国北京市大兴区中关村科技园区大兴生物医药产业基地永大路38号2号楼3层302室, Beijing 102600 (CN)。 刘媛 (LIU, Yuan); 中国北京市大兴区中关村科技园区大兴生物医药产业基地永大路38号2号楼3层302室, Beijing 102600 (CN)。 张楠 (ZHANG, Nan); 中国北京市大兴区中关村科技

(54) **Title:** PHARMACEUTICAL COMPOSITION COMPRISING POLYNUCLEOTIDES AND USE THEREOF FOR PREVENTION OR TREATMENT OF COVID-19

(54) **发明名称:** 包含聚核苷酸的药物组合物及其用于预防或治疗COVID-19的用途



AA VN titer
BB Recombinant novel coronavirus S-trimer protein
CC Pharmaceutical composition 1 in the present invention
DD Pharmaceutical composition 3 in the present invention
EE Pharmaceutical composition 4 in the present invention

图 5

(57) **Abstract:** The present application relates to a pharmaceutical composition comprising polynucleotides and use thereof for prevention or treatment of COVID-19. More specifically, disclosed in the present application is a composition used for prevention or treatment of COVID-19, comprising a polyriboinosinic-polyribocytidylic acid, an antibiotic or polyamino compound, a positive ion, and an optional antigen derived from novel coronavirus SARS-CoV-2. Also provided is use of the composition in preparation of a drug or vaccine for prevention or treatment of novel coronavirus SARS-CoV-2.

(57) **摘要:** 本申请涉及包含聚核苷酸的药物组合物及其用于预防或治疗COVID-19的用途。更具体地，本申请公开了一种用于预防或治疗COVID-19的组合物，其包含聚核糖肌苷-聚核糖胞苷酸、抗生素或多氨基化合物、正价离子以及任选地源自新型冠状病毒SARS-CoV-2的抗原，还涉及上述组合物在制备预防或治疗新型冠状病毒SARS-CoV-2感染的药物或疫苗中的用途。

WO 2021/238982 A1

[见续页]

园区大兴生物医药产业基地永大路38号2号楼3层302室, Beijing 102600 (CN)。

(74) 代理人: 北京戈程知识产权代理有限公司 (GE CHENG & CO., LTD); 中国北京市东城区东长安街1号东方广场东三办公楼19层程伟 (DavidW.Cheng), Beijing 100738 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

包含聚核苷酸的药物组合物及其用于预防或治疗 COVID-19 的用途

本申请要求 2020 年 05 月 29 日提交的中国专利申请“包含聚核苷酸的药物组合物及其用于预防或治疗 COVID-19 的用途”（申请号 202010475388.6）的优先权。

技术领域

本申请涉及医学领域，尤其是冠状病毒感染的预防或治疗。更具体而言，涉及一种用于预防或治疗冠状病毒感染的药物组合物，其含有：聚核糖肌苷-聚核糖胞苷酸（PIC）、抗生素（或多氨基化合物）、正价离子、以及任选地源自病毒的抗原（例如但不限于：病毒颗粒、蛋白、核酸、肽）；以及该组合物用于预防或治疗冠状病毒感染的用途。

背景技术

新型冠状病毒感染主要是新型冠状病毒（SARS-CoV-2，也作 2019-nCOV）所致。传染途径主要为经呼吸道飞沫传播，亦可通过接触传播。人群普遍易感，老年人及有基础疾病者感染后病情较重，儿童及婴幼儿也有发病。

基于目前的流行病学调查，COVID-19 潜伏期 1-14 天，多为 3-7 天。以发热、干咳、乏力为主要表现。少数患者伴有鼻塞、流涕、咽痛、肌痛和腹泻等症状。重症患者多在发病一周后出现呼吸困难和/或低氧血症，严重者可快速进展为急性呼吸窘迫综合征、脓毒症休克、难以纠正的代谢性酸中毒和出凝血功能障碍及多器官衰竭等。值得注意的是重症、危重症患者病程中可为中低热，甚至无明显发热。轻型患者仅表现为低热、轻微乏力等，无肺炎表现。从目前病例情况看，多数患者预后良好，少数患者病情危重。老年人和有慢性基础疾病者预后较差。儿童病例症状相对较轻。目前所见传染源主要是新型冠状病毒感染的患者。无症状感染者也可能成为传染源。病毒传播能力强，没有有效药物，危害极大。

针对 COVID-19 的治疗，目前没有确认有效的抗病毒治疗方法。大多数候选药物仅限于体外实验，还未在动物或人体中证实其治疗效果。因而，本领域仍需要提供一种有效的抗病毒治疗组合物。

发明内容

免疫组合物

鉴于此，本公开提供了一种免疫组合物，其包含聚核糖肌苷-聚核糖胞苷酸（polyI:C，PIC）、抗生素（或多氨基化合物）、正价离子以及任选源自病毒的抗原；或者，由 PIC、抗生素（或多氨基化合物）、正价离子以及任选病毒抗原组成。

在一些实施方式中，所述的病毒是冠状病毒，例如 SARS-CoV-2（涵盖其变种或亚种）。在一些实施方式中，所述的病毒是灭活粗制的、或者是灭活纯化型的。

在一些实施方式中，适用于本公开的疫苗或免疫组合物，包括但不限于灭活型、亚单位型、基因重组型、多肽型疫苗、核酸型。

在一些实施方式中，适用于本申请的 PIC 可以是市售 PIC，或者是本领域（例如 2006800007767 和 2006800010596）中公开的基于聚肌苷酸-聚胞苷酸的佐剂，其通过引用全部并入此处。

在一些实施方式中，免疫组合物中 PIC 在分子量上是异质的，其分子量为至少 50,000 道尔顿。例如，66,000 道尔顿的数值相当于 6.4S 沉降系数单位（Svedbergs）的分子尺寸。在一些实施方式中，PIC 为 66,000 道尔顿至 1,200,000 道尔顿（相当于 6.4 至 24.0 沉降系数单位）。在其它一些实施方式中，PIC 的分子量是至少 150,000 道尔顿。在其它一些实施方式中，PIC 的分子量是 100,000 至 200,000 道尔顿，或是 300,000 至 4,000,000 道尔顿，或是 500,000 至 1,000,000 道尔顿，或是 1,000,000 至 1,500,000 道尔顿，或是 1,500,000 至 2,000,000 道尔顿，或是 2,000,000 至 2,500,000 道尔顿，或是 2,500,000 至 3,000,000 道尔顿，或是 3,000,000 至 3,500,000 道尔顿，或是 3,500,000 至 4,000,000 道尔顿，或是 4,000,000 至 4,500,000 道尔顿，或是 4,500,000 至 5,000,000 道尔顿。

本公开中所用术语“异质”，是指免疫组合物或疫苗中所含的PIC分

子，在分子量、尺寸或二者皆有的物理特性上不是均一的。

在一些实施方式中，所述 PIC 在免疫组合物/疫苗中浓度为 250 μg/单位剂量至 5000 μg/单位剂量；例如，所述 PIC 在组合物中浓度选自：250 μg/单位剂量、500 μg/单位剂量、1000 μg/单位剂量、1500 μg/单位剂量、2000 μg/单位剂量、3000 μg/单位剂量、4000 μg/单位剂量、5000 μg/单位剂量，以及上述任意两点之间的范围。

在具体的实施方式中，PIC 在免疫组合物/疫苗中浓度为 500 μg/单位剂量至 4000 μg/单位剂量，1000 μg/单位剂量至 3000 μg/单位剂量，或者 1000 μg/单位剂量至 2500 μg/单位剂量。

当本公开的免疫组合物/疫苗适用于人时，PIC 在免疫组合物/疫苗中浓度选自 500 μg/单位剂量、1000 μg/单位剂量、1500 μg/单位剂量、2000 μg/单位剂量以及上述任意两点之间的范围。当本公开的免疫组合物/疫苗适用于未成年人（如儿童）时，PIC 在免疫组合物/疫苗中浓度选自 250 μg/单位剂量、500 μg/单位剂量、1000 μg/单位剂量、1250 μg/单位剂量以及上述任意两点之间的范围。

在具体的实施方式中，所含的抗生素选自：泰百霉素、蒽环霉素、丁苷菌素硫酸盐、庆大霉素、潮霉素、艾米康丝菌素、卡那霉素（或双去氧卡那霉素）、暗霉素、美它酰胺、新霉素、嘌呤霉素、链霉素、链脲霉素及其组合。所述的多氨基化合物选自：亚精氨酸盐、精眯、N-（3-氨基丙基）、N-（3-氨基丙基）-1,4-丁二胺、精碱精素、精素、OS-二甲基胺基硫代磷酸酯、多聚赖氨酸、氨基糖苷及其组合。在一些实施方案中，所述抗生素在组合物中的浓度为 10 单位/ml 至 100,000 单位/ml，优选 100 单位/ml 至 10,000 单位/ml，更优选 500 单位/ml 至 5,000 单位/ml。

在一些实施方案中，抗生素或多氨基化合物在免疫组合物中的浓度可以提及的是 400U/单位剂量至 1200U/单位剂量，例如但不限于 400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200 U/单位剂量。

在另一些实施方案中，抗生素或多氨基化合物在免疫组合物中的浓度可以提及的是 400U/ml 至 1200U/ml，例如但不限于 400、500、600、700、800、900、1000、1100、1200 U/ml。

在一些实施方式中，所含的正价离子为二价正价离子，并且选自：

钙、镉、锂、镁、铈、铯、铬、钴、氘、镓、碘、铁、锌及其组合。在具体的实施方式中，所述的正价离子为钙离子。所述正价离子可以呈任何适当的盐或有机复合物的形式，包括但不限于：氯化物、氟化物、氢氧化物、磷酸盐或硫酸盐。例如，当该正价离子是钙时，则钙离子可呈碳酸钙、氯化钙、氟化钙、氢氧化钙、磷酸钙或硫酸钙的形式。在一些实施方案中，所述的正价离子在组合物中的浓度为 10 μmol 至 10 mmol/ml，例如 50 μmol 至 5 mmol/ml；或者 100 μmol 至 1 mmol/ml。

在一些实施方案中，正价离子在免疫组合物中的浓度为 0.01mg/单位剂量至 0.1mg/单位剂量，例如但不限于 0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1 mg/单位剂量。

在另一些实施方案中，正价离子在免疫组合物中的浓度为 0.01mg/ml 至 0.1mg/ml，例如但不限于 0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1 mg/ml。

在一些实施方式中，源自冠状病毒的抗原是病毒（例如，减毒、灭活病毒、人工组装的病毒载体或病毒颗粒）。

在一些具体的实施方式中，源自冠状病毒的抗原是灭活病毒 SARS-CoV-2、减毒的病毒 SARS-CoV-2、或在受试者中不能繁殖的病毒 SARS-CoV-2。所述病毒相对于 PIC 的比例选自：1 活性单位/50μg、1 活性单位/60μg、1 活性单位/70μg、1 活性单位/80μg、1 活性单位/90μg、1 活性单位/100μg、1 活性单位/125μg、1 活性单位/200μg、1 活性单位/250μg、1 活性单位/300μg、1 活性单位/350μg、1 活性单位/400μg、1 活性单位/450μg、1 活性单位/500μg、1 活性单位/550μg、1 活性单位/600μg、1 活性单位/700μg、1 活性单位/800μg、1 活性单位/1000μg、1 活性单位/1500μg、1 活性单位/2000μg、1 活性单位/2500μg、1 活性单位/3000μg、1 活性单位/4000μg、1 活性单位/5000μg、1 活性单位 6000μg、1 活性单位/7000μg、1 活性单位/8000μg、1 活性单位/9000μg、1 活性单位/10000μg 以及上述任意两点之间的范围。

在一些实施方式中，当源自冠状病毒的抗原是病毒（例如，减毒、灭活病毒、人工组装的病毒载体或病毒颗粒）时，所述抗原在组合物中的浓度为 0.2 活性单位/单位剂量至 100 活性单位/单位剂量。更具体地，所述病毒或源自病毒的抗原在组合物中的浓度选自 0.2 活性单位/

单位剂量、0.5 活性单位/单位剂量、1.0 活性单位/单位剂量、1.5 活性单位/单位剂量、2.0 活性单位/单位剂量、2.5 活性单位/单位剂量、3.0 活性单位/单位剂量、3.5 活性单位/单位剂量、4.0 活性单位/单位剂量、5.0 活性单位/单位剂量、6.0 活性单位/单位剂量、7.0 活性单位/单位剂量、8.0 活性单位/单位剂量、9.0 活性单位/单位剂量、10.0 活性单位/单位剂量、15.0 活性单位/单位剂量、20.0 活性单位/单位剂量、30.0 活性单位/单位剂量、40.0 活性单位/单位剂量、50.0 活性单位/单位剂量、60.0 活性单位/单位剂量、70.0 活性单位/单位剂量、80.0 活性单位/单位剂量、90.0 活性单位/单位剂量、100.0 活性单位/单位剂量，以及上述任意两点之间的范围。在具体的实施方式中，所述病毒或源自病毒的抗原在组合物中的浓度为 0.5 活性单位/单位剂量至 3.0 活性单位/单位剂量；优选 1.0 活性单位/单位剂量至 2.5 活性单位/单位剂量。

在一些实施方式中，当源自冠状病毒的抗原是病毒（例如，减毒、灭活病毒、人工组装的病毒载体或病毒颗粒）时，所述抗原在组合物中的浓度为 0.05 活性单位/ml 至 40.0 活性单位/ml；优选 0.05 活性单位/ml、0.1 活性单位/ml、0.15 活性单位/ml、0.2 活性单位/ml、0.5 活性单位/ml、1.0 活性单位/ml、2.0 活性单位/ml、3.0 活性单位/ml、4.0 活性单位/ml、5.0 活性单位/ml、10 活性单位/ml、15 活性单位/ml、20 活性单位/ml、25 活性单位/ml、30 活性单位/ml、35 活性单位/ml、40 活性单位/ml。

在一些实施方式中，当所述源自冠状病毒的抗原选自以下时：SARS-CoV-2 的 S 蛋白或其免疫原性片段、M 蛋白或其免疫原性片段、N 蛋白或其免疫原性片段、E 蛋白或其免疫原性片段、依据 SARS-CoV-2 结构设计的蛋白、多肽、DNA、RNA，所述抗原相对于所述 PIC 的比例选自：1μg/10μg 、1μg/20μg、1μg/30μg、1μg/40μg、1μg/50μg、1μg/60μg、1μg/70μg、1μg/80μg、1μg/90μg、1μg/100μg、1μg/125μg、1μg/200μg、1μg/250μg、1μg/300μg、1μg/350μg、1μg/400μg、1μg/450μg、1μg/500μg、1μg/550μg、1μg/600μg、1μg/700μg、1μg/800μg、1μg/1000μg、1μg/1500μg、1μg/2000μg、1μg/2500μg、1μg/3000μg、1μg/4000μg、1μg/5000μg、1μg/6000μg、1μg/7000μg、1μg/8000μg、1μg/9000μg、1μg/10000μg 以及上述任意两点之间的范围。

在一些实施方案中，当所述源自冠状病毒的抗原选自以下时：SARS-CoV-2 的 S 蛋白或其免疫原性片段、M 蛋白或其免疫原性片段、N 蛋白或其免疫原性片段、E 蛋白或其免疫原性片段、依据 SARS-CoV-2 结构设计的蛋白、多肽、DNA、RNA，其在免疫组合物中的浓度为 0.1 μg/单位剂量至 1000.0μg/单位剂量，例如但不限于 0.5μg/单位剂量、1.0 μg/单位剂量、2.0 μg/单位剂量、3.0 μg/单位剂量、4.0μg/单位剂量、5.0 μg/单位剂量、6.0 μg/单位剂量、7.0 μg/单位剂量、8.0 μg/单位剂量、9.0 μg/单位剂量、10.0μg/单位剂量、15.0 μg/单位剂量、20.0 μg/单位剂量、30.0 μg/单位剂量、40.0 μg/单位剂量、50.0 μg/单位剂量、60.0 μg/单位剂量、70.0 μg/单位剂量、80.0 μg/单位剂量、90.0 μg/单位剂量、100.0 μg/单位剂量、200.0 μg/单位剂量、300.0 μg/单位剂量、400.0 μg/单位剂量、500.0 μg/单位剂量、600.0 μg/单位剂量、700.0 μg/单位剂量、800.0 μg/单位剂量、900.0 μg/单位剂量、1000.0 μg/单位剂量，以及上述任意两点之间的范围；或者例如 0.1μg /ml 至 1000.0 μg /ml；优选 1μg /ml、2μg /ml、3μg /ml、5μg /ml、10μg /ml、20μg /ml、30μg /ml、40μg /ml、50μg /ml、100μg /ml、200μg /ml、500μg /ml、1000μg /ml。

在一些实施方式中，源自冠状病毒的抗原是 SARS-CoV-2 刺突蛋白时，抗原在免疫组合物中的浓度是 2.5μg/单位剂量至 20μg/单位剂量。

在一些实施方式中，源自冠状病毒的抗原是 SARS-CoV-2 刺突蛋白多聚体时（例如同源三聚体），抗原在免疫组合物中的浓度是 2.5μg/单位剂量至 20μg/单位剂量。

在一些实施方式中，源自冠状病毒的抗原是 SARS-CoV-2 刺突蛋白的免疫原性片段时，抗原在免疫组合物中的浓度是 2.5μg/单位剂量至 20μg/单位剂量。

在一些实施方式中，源自冠状病毒的抗原是 SARS-CoV-2 刺突蛋白 RBD 区时，抗原在免疫组合物中的浓度是 2.5μg/单位剂量至 20μg/单位剂量。

在一些实施方式中，本公开中所述的单位剂量以体积的形式表示，并且选自：0.1 ml、0.15 ml、0.2 ml、0.5 ml、1.0 ml、1.5 ml、2.0 ml、2.5 ml、3.0 ml、4.0 ml、5.0 ml、10.0 ml、20.0 ml、30.0 ml、40.0 ml、50.0 ml、60.0 ml、70.0 ml、80.0 ml、90.0 ml、100.0 ml，150ml，200ml，

250.00ml，以及上述任意两点之间的范围。技术人员理解，过大或过小的单位剂量导致临床操作不便。因此，当本公开的免疫组合物/疫苗注射施用于人类受试者时，单位剂量优选在 0.5 ml 至 1.0 ml 范围内。当本公开的免疫组合物/疫苗鼻内施用于人类受试者时，单位剂量优选在 0.15 ml 至 0.2 ml 范围内。当本公开的免疫组合物/疫苗静脉注射于人类受试者时，单位剂量优选在 30.0 ml 至 1000 ml 范围内。此处应当理解的是，单位剂量虽然以体积进行表示，但是这并不意味着本公开的免疫组合物/疫苗只能是液体形式。当本公开的免疫组合物/疫苗制备成固体（干粉或冻干粉）时，单位剂量的体积是指干粉或冻干粉重新配制后的体积。

在一些实施方案中，本公开的免疫组合物或疫苗可以包含明胶、蔗糖、白砂糖、乳糖、麦芽糖、海藻糖、葡萄糖、低分子右旋糖苷、山梨醇、聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 80、盐酸精氨酸、甘露醇聚乙二醇、人血白蛋白、重组白蛋白、辛酸钠、尿素、氢氧化铝、酚红、磷酸铝、角鲨烯、皂苷、寡核苷酸、氯化镁、氯化钾、氯化钠、硫代硫酸钠、磷酸二氢钾、抗坏血酸、三氯甲烷、苯酚、硫柳汞。

在一些实施方式中，本公开的免疫组合物或疫苗还可以包含生理上可接受的缓冲液，选自：乙酸盐、Tris、碳酸氢盐、碳酸盐、磷酸盐缓冲液。适用于本公开组合物的缓冲液 pH 值选自：6.50、6.60、6.70、6.80、6.90、7.00、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.30、7.35、7.40、7.45、7.50、7.55、7.60、7.65、7.70、7.75、7.80、7.85、7.90、7.95、8.00 以及上述任意两点之间的范围。在具体的实施方式中，缓冲液是 PBS，并且 pH 值在 7.0 至 8.0 范围之内。

在一些实施方式中，缓冲液在组合物中浓度是 5mM 至 50mM，具体地 5mM 至 20mM。可以提及的示例是 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50mM。

缓冲液在制备成本公开的组合物或疫苗后，不排除其 pH 会随着其他成分的加入而发生变化。鉴于缓冲液的缓冲能力，在一些实施方式中，本公开的免疫组合物或疫苗的 pH 值被控制在适当的范围，例如：

6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.3、7.35、7.4、7.45、7.5、7.55、7.6、7.65、7.7、7.75、7.8、7.85、7.9、7.95、8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9.0 以及上述任意两点之间的范围。在具体的实施方式中，组合物的 pH 值在 7.0 至 8.0 范围之内。

本公开的免疫组合物或疫苗可被制备成为干燥粉末、液态溶液（例如可注射型溶液、水性或生理食盐水溶液，或悬浮液、油膏、液滴、乳剂、凝胶、糖浆或浆液、气雾剂、喷雾剂、滴鼻剂）、片剂、包衣片剂、微胶囊、栓剂、药片、颗粒、糖衣锭、胶囊。制备方法被一般性地叙述在 Stanley A Plotkin 等人，Vaccine 第四版 W.B. Saunders Company 2003 中。优选，本公开的免疫组合物或疫苗被制备成为可注射型溶液。

根据本公开的另一方面，提供一种免疫组合物，其是上述免疫组合物所对应的干粉或冻干粉形式。技术人员能够理解的是，当免疫组合物是干粉或冻干粉形式时，和液体形式的免疫组合物区别仅在于含水量。作为一个示例，当干粉或冻干粉形式的免疫组合物包含 2 mg/ml PIC 时，技术人员知晓这个浓度是指将免疫组合物重新配制成液体形式后 PIC 的浓度。

在一些实施方案中，提供一种免疫组合物，其包含：

源自冠状病毒的抗原、

0.5mg/ml 至 2 mg/ml PIC、

400 单位/ml 至 1200 单位/ml 卡那霉素、

0.01mg/ml 至 0.1mg/ml 氯化钙、

100mM 至 200mM 氯化钠、

5mM 至 20mM 磷酸缓冲液。

在一些实施方案中，提供一种免疫组合物，其包含：

源自冠状病毒的抗原、

0.5mg/ml 至 2 mg/ml PIC、

400 单位/ml 至 1200 单位/ml 卡那霉素、

0.01mg/ml 至 0.1mg/ml 氯化钙、

100mM 至 200mM 氯化钠、

5mM 至 20mM 磷酸缓冲液、

任选地，100mM 至 200mM 盐酸精氨酸、

任选地，0.005% w/v 至 0.05% w/v 聚山梨醇酯 80、

任选地，0.1%w/w 至 1.0%w/w 磷酸铝。

方法和用途

根据本公开的另一方面，提供了上述 PIC、抗生素（或多氨基化合物）以及正价离子的组合在制备预防或治疗冠状病毒感染的药物或疫苗中的用途。

根据本公开的又一方面，提供了 CN103405762A 中所公开的聚核苷酸佐剂组合物在制备预防或治疗冠状病毒感染的药物或疫苗中的用途。

根据本公开的另一方面，提供了 PIC、抗生素（或多氨基化合物）、正价离子和病毒的组合在制备预防或治疗冠状病毒感染的药物或疫苗中的用途。

根据本公开的另一方面，提供了本公开的免疫组合物或疫苗在预防或治疗冠状病毒感染中的用途。

更具体地，提供了本公开的免疫组合物或疫苗在制备预防或治疗冠状病毒感染的药物中的用途。

根据本公开的另一方面，还涉及在宿主动物中刺激免疫反应的方法，该方法包括向该动物给予有效诱导免疫反应的量的本文所述免疫组合物。所述宿主动物较佳是哺乳动物，更佳是猴，仍更佳是人。本发明还涉及使宿主动物针对病毒产生免疫的方法，该方法包括向所述动物给予其量能有效诱导保护性反应的本文所述免疫组合物。所述宿主动物较佳是哺乳动物，更佳是猴，还更佳是人。

对抗原或组合物的“免疫反应”是在对象的体液和/或细胞免疫反应中产生的针对存在于感兴趣的组合物中的分子的反应。“体液免疫反应”指抗体分子介导的免疫反应，而“细胞免疫反应”是由 T-淋巴细胞和/或其它白细胞介导的免疫反应。

在一些具体的实施方案中，本公开的免疫组合物或疫苗能够实现选自以下的任一项或组合：上调共刺激分子（例如 CD80+、CD86+、CD40+）在树突状细胞上的表达、激活树突状细胞、提高细胞因子（例如 TNF-α、IFN-γ、KC、IFN-β）在肺中的表达、提高 IgG 抗体（例如

IgG1、IgG2a、IgG3）滴度、增加 IL-2 阳性细胞比例、增加 IFN-γ 阳性细胞比例、降低肺部病毒载量。

根据本公开的另一方面，提供了一种预防或治疗冠状病毒感染的方法，其包括向受试者施用预防或治疗有效量的本公开组合物或疫苗。

在一些实施方式中，组合物的施用是系统性的（也作全身性）或局部的。

在一些实施方式中，通过胃肠道外（如肌肉内、腹腔内、静脉内、皮下、皮内）注射来施用本公开的免疫组合物或疫苗。

在其它实施方式中，本公开的免疫组合物或疫苗是以注射以外的方式（例如不以机械装置来破坏上皮细胞障壁的方式）经皮内传输。

在另一些实施方式中，免疫组合物是通过直肠、阴道、鼻、口、舌下、呼吸道、眼、或透皮的途径而施用。

在一些实施方式中，免疫组合物是通过肌肉内施用。

在一些实施方式中，免疫组合物是滴鼻施用。

在一些实施方式中，对于吸入给药，本公开的组合物/疫苗可以用吹入器、雾化器、压力包装或导入气体喷雾的方式。压力包装可以带有合适的推进剂（如二氯二氟甲烷、三氯一氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳）。在用加压气雾剂的情况下，可以通过提供气阀来确定剂量单位。

可选性地，对于吸入或吹入给药，本公开的组合物/疫苗是干粉形式的组合物，例如，调节剂和合适的干粉基质如乳糖或淀粉的粉状混合物。粉状混合物可以以单位剂量的形式装于胶囊和药筒中，或例如明胶包装中，药粉可以借助吸入器或吹入器从这些容器中给药。对于鼻腔给药，抗体可以通过液体喷雾或滴鼻剂型，例如通过一个塑料喷雾器。

在一些实施方式中，按照选自以下的频率向受试者施用本公开的免疫组合物或疫苗：每月 1 次、每月 2 次、每月 3 次、每月 4 次、每月 5 次、每月 6 次、每月 7 次、每月 8 次、每周 1 次、每周 2 次、每周 3 次、每周 4 次、每周 5 次、每周 6 次、每三天 1 次、每三天 2 次、每三天 3 次、每两天 1 次、每两天 2 次、每天 1 次、每天 2 次。

在一些实施方式中，预防或治疗方法包括施用包含 SARS-CoV-2

抗原的本公开的免疫组合物，施用编码 SARS-CoV-2 抗原的核酸的组合物也可行。本领域技术人员熟知核酸疫苗和核酸疫苗技术以及基于蛋白质和多肽的技术的概念、应用、以及有效性。基于核酸的技术能够将裸露的或者包囊化的编码刺突多肽的核酸直接施用至组织和细胞。该技术是基于这些核酸能够被受者生物体的细胞摄取并表达以产生免疫原性决定簇。在单次或者多次注射本公开的免疫组合物（例如含 SARS-CoV-2 的刺突蛋白），这种基于蛋白质的疫苗可诱导中和性、保护性抗体依赖性免疫应答。

根据本公开的另一方面，提供了一种用于实施上述预防或治疗方法的药盒，其包含至少一个容器，所述容器包含本公开的免疫组合物或疫苗。位于不同容器中组合物的组成和/或量可以相同，也可以不同。

在一些实施方式中，本公开的免疫组合物或疫苗配制于无菌液体内，并且装在无菌容器（如管、瓶、安瓿、注射器）内。在另一些实施方式中，本公开的免疫组合物或疫苗以干粉或冻干粉的形式装在容器内。临用前，配制成液体形式。

在一些实施方式中，本公开的药盒还包含选自以下的一项或其组合：针头、注射用水、使用说明书。

附图说明

图 1 本公开药物组合物激活机体 DC 上调共刺激分子产生。

图 2A 至图 2B 滴鼻给予小鼠本公开药物组合物后能够有效提高肺内部细胞因子的浓度。

图 3：IgG 亚型抗体滴度。

图 4：家兔血清中抗新冠病毒 S 蛋白的 IgG 抗体滴度。

图 5：不同的药物组合物所诱导产生的中和抗体滴度不同。

图 6A 至图 6D：表达 IL-2、IFN-γ 的细胞比例。

图 7：小鼠攻毒后，肺部病毒载量。

图 8：小鼠攻毒后，肺部病毒载量。

具体实施方式

“抗原”意指当其入侵宿主时，能够通过被宿主的免疫系统识别

而诱导免疫应答的任何物质（例如，蛋白、肽、癌症细胞、糖蛋白、糖脂、活病毒、杀死的病毒、DNA 等）。抗原可以作为纯化的形式或未纯化的形式提供。本申请中的抗原，包括病原体的蛋白、重组蛋白、肽、多糖、糖蛋白、糖脂和多聚核苷酸、活病毒、重组的病毒、减毒的或灭活的病毒。

免疫原性片段是指前述“抗原”的一部分（例如，当抗原是蛋白或多肽时，免疫原性片段是该蛋白或多肽的非全长肽片段），其仍保留了（全部或部分）被宿主的免疫系统识别而诱导免疫应答的能力。

灭活，是指去除病毒的致病能力和繁殖能力，但是仍然保留了刺激人体产生免疫应答的能力。使病毒灭活的方法为业界所熟知。任何常用方法均可使用以使病毒灭活，且可针对病毒种类而适当地选用。这些使病毒灭活的方法包括但不限于：利用光反应性化合物、氧化剂、辐射（例如 UV 射线；γ-射线）、核黄素和 UV 射线的组合、溶剂-去污剂处理（例如以有机溶剂三-N-丁基-磷酸酯和 Tween 80 去污剂来处理）、聚乙二醇处理、巴斯德灭菌法（热处理）、低 pH 处理、酶处理（胃蛋白酶或胰蛋白酶）、亚甲蓝光处理、以二甲基亚甲蓝和可见光进行处理、以补骨脂内酯衍生物 S-59 和 UVA 照射进行处理。

减毒，减毒的病毒仍然是活的，但是在制造过程中使病毒丧失致病能力，但是仍然保留繁殖能力和刺激人体产生免疫应答的能力。

本文中，术语刺突蛋白（Spike或S蛋白）涵盖其变体范畴。刺突蛋白的变体是指与天然刺突多肽实质上同源的多肽，但由于一个或多个氨基酸的缺失、插入或取代，而具有不同于天然刺突蛋白的氨基酸序列。变体可包含保守性取代的序列，保守性取代是指一种给定的氨基酸残基被具有相似生化特性的残基取代。此类保守性置换是已知的，保守性取代的实例包括脂肪族残基彼此间的置换，例如Ile、Val、Leu、或Ala彼此之间的取代；或者是极性残基彼此之间的置换，例如Lys与Arg之间；Glu与Asp之间；和Gln与Asn之间。本发明也包括天然存在的刺突多肽变体。此类变体的实例是因替代性mRNA剪接事件或因刺突多肽的蛋白酶裂解而产生的蛋白质。可归因于蛋白水解作用的变异包括例如在不同类型的宿主细胞内表达后出现的末端的差异，这是由于自刺突多肽蛋白水解去除了一或多个末端氨基酸所致。

当本公开的SARS-CoV-2抗原是蛋白或多肽时，可以制备成多聚体的形式（同源多聚体或异源多聚体），例如但不限于二聚体、三聚体、四聚体、五聚体，从而提供更多的抗原接触机会。在具体的示例中，技术人员在SARS-CoV-2抗原的N或C端融合一段折叠子，这段折叠子有助于抗原形成多聚体的形式。这样的折叠子在本领域中是公知的且不影响抗原本申请的正确折叠，也不影响免疫原性。作为示例，可用于三聚化的折叠子，当与蛋白质或肽连接（也称为融合）时允许形成三聚体结构。在本公开中，可以使用任何已知的三聚化折叠子/结构域。三聚化折叠子/结构域的例子包括但不限于：HIV-1gp41三聚化结构域、SIV gp41三聚化结构域、埃博拉病毒gp-2三聚化结构域、HTLV-1gp-21三聚化结构域、T4 fibritin三聚化结构域、酵母热休克转录因子三聚化结构域、和人胶原三聚化结构域。再比如，CN111560074A中可通过HP_Ferritin自组装作用形成二十四聚体纳米抗原；CN111607605A借助LTB26可自组装形成五聚体的特性，得到融合蛋白的五聚体。

本公开中所用术语“单位剂量”，是指在实体上呈分离的单位，适合作为使用于受试者个体的单位剂量。各个单位含有预定量的本公开组合物，该预定量呈现足以和药学/生理上可接受的稀释剂、载剂或载体共同产生所需效应的用量。

本文术语，组合物的“有效量””是指无毒但足以提供所需反应（如免疫反应）和产生相应的预防/治疗效果的组合物的量。所需的确切量随受试者不同而不同，依据它们的物种、年龄、对象的总体条件、要治疗的病症的严重程度、以及感兴趣的具体大分子、给药的方式等。在具体的示例中合适的“有效量”可以由本领域的普通技术人员使用常规实验方法进行测定，例如通过动物研究确定人受试者的有效量。

本说明书中所用术语“治疗”是指，获得所需药理和/或生理效应。该效应从完全地和/或部分地防止疾病或其症状的角度来看可以是属于预防性质的，和/或该效应从完全地和/或部分地稳定或治愈疾病和/或疾病所导致的负面效果来看可以是属于医疗性质的。

本说明书中，当描述数值范围时，所用的表述“...至...”、“范围之内”或“范围之间”包含端点值。

本说明书的上下文中，药物组合物、药物、免疫组合物、疫苗可

互换使用。

实施例

如无特别说明，本公开的试验动物操作遵照《实验动物管理条例》、《关于善待实验动物的指导性意见》、国家标准 GB/14925 进行。

实施例 1：本公开药物组合物 1 的制备方法

1. 抗原：重组新冠病毒 S-三聚体蛋白。

2. 按照以下组成制备本公开的组合物：

本公开的组合物 1（单位剂量 1ml）包含：

重组新冠病毒 S-三聚体蛋白（2.5μg、5μg、6μg、10μg 和 20μg）、

PIC（1mg/ml）、

卡那霉素（800 单位/ml）、和

氯化钙（0.0472mg/ml）。

在无菌条件下，将上述组合物配制在生理可接受的缓冲液（氯化钠 150mM、磷酸氢二钠 0.0043M 和磷酸二氢钠 0.0017M）中。

表 1

成分	用量(1ml)	浓度
重组新冠病毒 S-三聚体蛋白	2.5μg、 5μg、 6μg、 10μg、 20μg、	2.5μg/ml、 5μg/ml、 6μg/ml、 10μg/ml、 20μg/ml、
PIC	1mg	1mg/ml
卡那霉素	800 单位	800 单位/ml
氯化钙	0.0472mg	0.0472mg/ml
氯化钠	8.77mg	150 mM
磷酸氢二钠	0.61mg	0.0043 M
磷酸二氢钠	0.204mg	0.0017 M

实施例 2：本公开药物组合物 2 的制备方法

1. 抗原：重组新冠病毒 S-三聚体蛋白。

2. 按照以下组成制备本公开的组合物：

本公开的组合物 2（单位剂量 1ml）包含：

重组新冠病毒 S-三聚体蛋白（2.5μg、5μg、10μg 和 20μg）、

PIC（1mg/ml）、

卡那霉素（800 单位/ml）、

氯化钙（0.0472mg/ml）、

盐酸精氨酸（140mM）、

聚山梨醇酯 80（0.01% w/v）。

在无菌条件下，将上述组合物配制在生理可接受的缓冲液（氯化钠 150mM、磷酸氢二钠 0.0043M 和磷酸二氢钠 0.0017M ）中。

表 2

成分	用量(1ml)	浓度
重组新冠病毒 S-三聚体蛋白	2.5μg、5μg、10μg、20μg、	2.5μg/ml、5μg/ml、10μg/ml、20μg/ml、
PIC	1mg	1mg/ml
卡那霉素	800 单位	800 单位/ml
氯化钙	0.0472mg	0.0472mg/ml
盐酸精氨酸	29.492mg	140mM
聚山梨醇酯 80	0.1mg	0.01%w/v
氯化钠	8.77mg	150mM
磷酸氢二钠	0.61mg	0.0043M
磷酸二氢钠	0.204mg	0.0017M

实施例 3：本公开药物组合物 3 的制备方法

1. 抗原：重组新冠病毒 S1 蛋白。

2. 按照以下组成制备本公开的组合物：

本公开的组合物 3（单位剂量 1ml）包含：

重组新冠病毒 S1 蛋白（2.5μg、5μg、6μg、10μg 和 20μg）、

PIC（1mg/ml）、

卡那霉素（800 单位/ml）、

氯化钙（0.0472mg/ml）。

在无菌条件下，将上述组合物配制在生理可接受的缓冲液（氯化

钠 150mM、磷酸氢二钠 0.0043 和磷酸二氢钠 0.0017M）中。

表 3

成分	用量(1ml)	浓度
重组新冠病毒 S1 蛋白	2.5μg、 5μg、 6μg、 10μg、 20μg、	2.5μg/ml、 5μg/ml、 6μg/ml、 10μg/ml、 20μg/ml、
PIC	1mg	1mg/ml
卡那霉素	800 单位	800 单位/ml
氯化钙	0.0472mg	0.0472mg/ml
氯化钠	8.77mg	150mM
磷酸氢二钠	0.61mg	0.0043M
磷酸二氢钠	0.204mg	0.0017M

实施例 4：本公开药物组合物 4 的制备方法

1. 抗原：重组新冠病毒 RBD 蛋白（即，SARS-CoV-2 的刺突蛋白 RBD 区）。

2. 按照以下组成制备本公开的组合物：

本公开的组合物 4（单位剂量 1ml）包含：

重组新冠病毒 RBD 蛋白（2.5μg、5μg、6μg、10μg 和 20μg）、PIC（1mg/ml）、

卡那霉素（800 单位/ml）、和

氯化钙（0.0472mg/ml）。

在无菌条件下，将上述组合物配制在生理可接受的缓冲液（氯化钠 150mM、磷酸氢二钠 0.0043M 和磷酸二氢钠 0.0017M）中。

表 4

成分	用量(1ml)	浓度
重组新冠病毒RBD 蛋白	2.5μg、 5μg、 6μg、 10μg、 20μg、	2.5μg/ml、 5μg/ml、 6μg/ml、 10μg/ml、 20μg/ml、
PIC	1mg	1mg/ml

卡那霉素	800 单位	800 单位/ml
氯化钙	0.0472mg	0.0472mg/ml
氯化钠	8.77mg	150mM
磷酸氢二钠	0.61mg	0.0043M
磷酸二氢钠	0.204mg	0.0017M

实施例 5：本公开药物组合物 5 的制备方法

本公开的组合物 5（单位剂量 1ml）包含：

PIC（1mg/ml）、

卡那霉素（800 单位/ml）和

氯化钙（0.0472mg/ml）。

在无菌条件下，将上述组合物配制在生理可接受的缓冲液（氯化钠 150mM、磷酸氢二钠 0.0043M 和磷酸二氢钠 0.0017M）中。

表 5

成分	用量(1ml)	浓度
PIC	1mg	1mg/ml
卡那霉素	800 单位	800 单位/ml
氯化钙	0.0472mg	0.0472mg/ml
氯化钠	8.77mg	150mM
磷酸氢二钠	0.61mg	0.0043M
磷酸二氢钠	0.204mg	0.0017M

实施例 6：本公开药物组合物 6 的制备方法

1. 抗原：灭活纯化新冠病毒。

2. 按照以下组成制备本公开的组合物 6（单位剂量 1ml），包含：

灭活纯化新冠病毒（600 活性单位）、

PIC（1 mg/ml）、

卡那霉素（800 单位/ml）、

氯化钙（0.0472mg/ml）、和

磷酸铝（铝含量 0.5%w/w）。

在无菌条件下，将上述组合物配制在生理可接受的缓冲液（氯化钠 150mM、磷酸氢二钠 0.0043M 和磷酸二氢钠 0.0017M）中。

表 6

成分	用量(1ml)	浓度
灭活纯化新冠病毒	600 活性单位	600 活性单位/mL
PIC	1mg	1mg/ml
卡那霉素	800 单位	800 单位/ml
氯化钙	0.0472mg	0.0472mg/ml
磷酸铝	0.005ml	0.5%w/w
氯化钠	8.77mg	150mM
磷酸氢二钠	0.61mg	0.0043M
磷酸二氢钠	0.204mg	0.0017M

测试例 1：本公开药物组合物 5 激活机体树突状细胞上调共刺激分子

方法：通过采用 C57BL/6 小鼠髓源树突状细胞（BMDC）体外与本公开药物组合物 5 共同孵育 18 小时。流式细胞仪检测 CD80+、CD86+和 CD40+细胞的比例和平均荧光强度。

结果：如图 1 所示本公开药物组合物 5 与小鼠 BMDC 作用后 CD80+细胞的比例从 59.82%提升至 90.66%，CD86+细胞的比例从 11.70%提升至 38.66%，CD40+细胞的比例从 16.98%提升至 58.62%，显著地上调共刺激分子产生。

结论：通过本实验证明，本公开药物组合物 5 能够显著诱导机体树突状细胞上调共刺激分子，促进树突状细胞的活化。

测试例 2：本公开药物组合物 5 滴鼻给药后能够有效提高肺内部细胞因子的浓度

方法：小鼠分别通过滴鼻给予 PBS 或本公开药物组合物 5，并在指定时间处死。采集肺部组织，采用 Bio-plex 蛋白阵列系统对样品的 TNF-α、IFN-γ 及 KC 进行重复测试；采用 ELISA 试剂盒检测 IFN-β。

表 7. 实验动物分组

样品	给药剂量	给药方式
PBS	50μl/只	*i.n.*.
本公开药物组合 5	50μl/只	*i.n.*

结果：见图 2A 至图 2B。

结论：滴鼻给予小鼠本公开药物组合物 5 后，小鼠肺部的细胞因子 TNF-α、IFN-γ、KC、IFN-β 显著升高，表明经鼻给药小鼠可有效激活呼吸道的固有免疫，导致免疫细胞产生细胞因子和趋化因子，这些细胞因子和趋化因子与抑制小鼠呼吸道病毒复制有关。

测试例 3：本公开药物组合物 1 可以有效诱导小鼠产生抗新冠病毒 S1 蛋白的 IgG 抗体（IgG1、IgG2a、IgG3）产生

方法：分别采用本公开药物组合物 1 对小鼠进行免疫，取血分离血清，采用 ELISA 法检测小鼠血清中抗新冠病毒 S1 蛋白的 IgG 抗体亚型的滴度。

表 8. 实验动物分组

样品	给药剂量	给药方式	免疫时间	数量（只）
本公开药物组合物 1（抗原 10μg）	0.1 ml/只	*i.m.*	第 0、7、14 天各免疫一次	8

结论：本公开药物组合物可以显著提高血清中抗新冠病毒 S1 蛋白的 IgG 亚型抗体滴度（图 3）。

测试例 4：本公开药物组合物 1 可以有效诱导家兔产生抗新冠病毒 S 蛋白的 IgG 抗体产生

分别采用本公开药物组合物 1 对家兔进行免疫，取血分离血清，采用 ELISA 法检测家兔血清中抗新冠病毒 S 蛋白的 IgG 抗体滴度。

表 9. 实验动物分组

样品	给药剂量	给药方式	免疫时间	数量（只）
本公开药物组合物 1（抗原 5μg）	1 ml/只	*i.m.*	第 0、7 天各免疫一次	5

结论：本公开药物组合物可以显著提高家兔血清中抗新冠病毒 S 蛋白的 IgG 抗体滴度（图 4）。

测试例 5：本公开药物组合物 1、3-4 可以有效诱导家兔产生抗新

冠病毒中和抗体产生

方法：分别采用本公开药物组合物 1、3-4 对家兔进行免，取血分离血清，采用假病毒中和试验检测家兔血清中中和抗体滴度。

表 10. 实验动物分组

样品	给药剂量	给药方式	免疫时间	数量（只）
本公开药物组合物 1（抗原 6μg）	1 ml/只	*i.m.*	第 0、7、14 天各免疫一次	3
本公开药物组合物 3（抗原 6μg）	1 ml/只	*i.m.*	第 0、7、14 天各免疫一次	3
本公开药物组合物 4（抗原 6μg）	1 ml/只	*i.m.*	第 0、7、14 天各免疫一次	3

结论：本公开药物组合物 1、3-4 可显著提高家兔血清中的中和抗体滴度，且不同的药物组合物所诱导产生的中和抗体滴度不同（图 5）。

测试例 6：本公开药物组合物 2 有效诱导小鼠产生新冠病毒特异性细胞免疫反应产生

方法：分别采用本公开药物组合物 2 对小鼠进行免疫，取脾分离脾细胞悬液，采用 Elispot 法检测抗原特应性细胞免疫反应。

表 11. 实验动物分组

样品	给药剂量	给药方式	免疫时间	数量（只）
本公开药物组合物 2（抗原：低剂量 2.5μg、中剂量 5μg 和高剂量 10μg）	0.1 ml/只	*i.m.*	第 0、7、14 天各免疫一次	8

结论：本公开药物组合物 2 可以显著提高小鼠细胞免疫反应，显著增加表达 IL-2、IFN-γ 的细胞比例（结果见图 6A 至图 6D）。

测试例 7：本公开药物组合物 1 有效降低 hACE2 小鼠中的新冠病毒载量

方法：采用本公开药物组合物 1 对 hACE2 转基因小鼠（6 周龄，18-26g，SARS-CoV-2 感染 hACE2 转基因小鼠模型）进行免疫，于初

免后 14 天采用 SARS-CoV-2 进行滴鼻攻毒，于攻毒后 5 天取肺组织检测肺部病毒载量。

表 12. 实验动物分组

样品	给药剂量	给药方式	免疫时间	攻毒时间	攻毒剂量及体积	数量（只）
本公开药物组合物 1（抗原 5μg）	200μl/只	*i.m.*	第 0、7 天各免疫一次	初次免疫后 14 天攻毒	10^5TCID$_{50}$/只 50μl	6

结论：本公开药物组合物 1 可以显著降低小鼠攻毒后肺部病毒载量，一定程度缓解肺部炎症，具有良好的预防效果（结果见图 7）。

测试例 8：本公开药物组合物 2 有效降低 hACE2 小鼠中的新冠病毒载量

方法：采用 SARS-CoV-2 对 hACE2 小鼠进行滴鼻攻毒，同时给予本公开药物组合物 2，于攻毒后 5 天取肺组织检测肺部病毒载量。

表 13. 实验动物分组

样品	给药剂量	给药方式	免疫时间	攻毒时间	攻毒剂量及体积	数量（只）
本公开药物组合物 2（抗原 10 μg）	200μl/只	*i.m.*	攻毒前 5 天连续给药，直至攻毒后第四天停止免疫	首次免疫后的第 6 天	$0.5*10^6$ TCID$_{50}$/只 50μl	6

结论：本公开药物组合物 2 可以显著降低小鼠攻毒后肺部病毒载量，具有良好的治疗效果（结果见图 8）。

测试例 9：本公开药物组合物 2 可以有效诱导食蟹猴产生抗新冠病毒 S 蛋白的 IgG 抗体产生

方法：分别采用本公开药物组合物 2 对食蟹猴进行免疫，取血分离血清，采用 ELISA 法检测食蟹猴血清中抗新冠病毒 S 蛋白的 IgG 抗体滴度。

表 14. 实验动物分组

样品	给药剂量	给药方式	免疫时间	数量（只）
本公开药物组合物 2（低剂量抗原 10μg）	1ml/只	*i.m.*	第 1、8、15、29 天各免疫一次	5
本公开药物组合物 2（高剂量抗原 30μg）	3ml/只	*i.m.*	第 1、8、15、29 天各免疫一次	5

结论：本公开药物组合物可以显著提高食蟹猴血清中抗新冠病毒 S 蛋白的 IgG 抗体滴度。本公开药物组合物 2 低剂量和本公开药物组合物 2 高剂量组动物在第二次免疫后 1 周（D15，第 3 次给药前）可检测出特异性 IgG 抗体，发生率分别为 10/10 和 10/10，抗体滴度范围均为 1:1600 至>1:102400。随给药次数的增加，低剂量和高剂量组动物特异性 IgG 抗体滴度均可见增加。停药恢复 4 周后（D57），低剂量和高剂量组所有动物特异性 IgG 抗体滴度均未见降低。

测试例 10：本公开药物组合物 6 可以有效诱导家兔产生抗新冠病毒中和抗体产生

方法：分别采用本公开药物组合物 6 对家兔进行免疫，取血分离血清，采用 SARS-CoV-2 野毒株中和试验检测家兔血清中的中和抗体滴度。

表 15. 实验动物分组

样品	给药剂量	给药方式	免疫时间	数量（只）
本公开药物组合物 6（抗原：600 活性单位）	1 ml/只	*i.m.*	第 0、7 天各免疫一次	3

结论：本公开药物组合物 6 可诱导家兔血清中的中和抗体滴度。

通过本公开提供的预防和治疗新型冠状病毒 SARS-CoV-2 感染的药物组合，能够达到如下效果：

1. 药效好，疗效显著，本公开药物组合成分可激活干扰素调节因

子 3 及 NF-κB，上调 I 型干扰素及前炎症因子的表达，激活人体的天然免疫和获得性免疫，发挥重要的抗病毒作用。多个动物试验结果显示本公开药物组合成分能够有效降低动物呼吸道病毒滴度载量。

2. 可同时起到预防和治疗效果。

3. 剂型灵活，可采用注射剂型，作用迅速可靠其药液直接注入组织，不受 pH、酶、食物等影响，无首过效应，药物含量不易损失，因此疗效可靠，可用于抢救危机病人。亦可采用喷雾制剂，用药方便，患者易于接受，经粘膜吸收迅速、起效快、患者依从性好。

权利要求书

1. 一种免疫组合物，其包含：

聚核糖肌苷-聚核糖胞苷酸（PIC）、

抗生素或多氨基化合物、

正价离子、以及

任选地，源自冠状病毒的抗原；

所述冠状病毒是 SARS-CoV-2 或其变种；

优选地，所述抗生素选自以下的一项或组合：泰百霉素、蒽环霉素、丁苷菌素硫酸盐、庆大霉素、潮霉素、艾米康丝菌素、卡那霉素、暗霉素、β-内酰胺、美它酰胺、新霉素、嘌呤霉素、链霉素、链脲霉素；

优选地，所述多氨基化合物选自以下的一项或组合：亚精氨酸盐、精眯、N-（3-氨基丙基）、N-（3-氨基丙基）-1,4-丁二胺、精碱精素、精素、OS-二甲基胺基硫代磷酸酯、多聚赖氨酸、氨基糖苷；

优选地，所述正价离子为二价正价离子，更优选地，所述正价离子选自以下的一项或组合：钙、镉、锂、镁、铈、铯、铬、钴、氘、镓、碘、铁、锌；最优选，所述正价离子为钙离子；

优选地，所述源自冠状病毒的抗原选自以下的一项或组合：灭活病毒 SARS-CoV-2、减毒的病毒 SARS-CoV-2、在受试者中不能繁殖的病毒 SARS-CoV-2、SARS-CoV-2 的 S 蛋白或其免疫原性片段、M 蛋白或其免疫原性片段、N 蛋白或其免疫原性片段、E 蛋白或其免疫原性片段、依据 SARS-CoV-2 结构设计的蛋白、多肽、RNA、DNA。

2. 根据权利要求 1 所述的免疫组合物，其中：

当所述源自冠状病毒的抗原是灭活病毒 SARS-CoV-2、减毒的病毒 SARS-CoV-2、或在受试者中不能繁殖的病毒 SARS-CoV-2 时，所述源自冠状病毒的抗原相对于所述 PIC 的比例选自以下的任一项：

1 活性单位/50μg、1 活性单位/60μg、1 活性单位/70μg、1 活性单位/80μg、1 活性单位/90μg、1 活性单位/100μg、1 活性单位/125μg、1 活性单位/200μg、1 活性单位/250μg、1 活性单位/300μg、1 活性单位/350μg、1 活性单位/400μg、1 活性单位/450μg、1 活性单位/500μg、1

活性单位/550μg、1 活性单位/600μg、1 活性单位/700μg、1 活性单位/800μg、1 活性单位/1000μg、1 活性单位/1500μg、1 活性单位/2000μg、1 活性单位/2500μg、1 活性单位/3000μg、1 活性单位/4000μg、1 活性单位/5000μg、1 活性单位 6000μg、1 活性单位/7000μg、1 活性单位/8000μg、1 活性单位/9000μg、1 活性单位/10000μg 以及上述任意两点之间的范围；

或者，当所述源自冠状病毒的抗原选自以下的任一项时：SARS-CoV-2 的 S 蛋白或其免疫原性片段、M 蛋白或其免疫原性片段、N 蛋白或其免疫原性片段、E 蛋白或其免疫原性片段、依据 SARS-CoV-2 结构设计的蛋白、多肽、DNA、RNA，所述抗原相对于所述 PIC 的比例选自以下的任一项：

1μg/10μg 、1μg/20μg、1μg/30μg、1μg/40μg、1μg/50μg、1μg/60μg、1μg/70μg、1μg/80μg、1μg/90μg、1μg/100μg、1μg/125μg、1μg/200μg、1μg/250μg、1μg/300μg、1μg/350μg、1μg/400μg、1μg/450μg、1μg/500μg、1μg/550μg 、 1μg/600μg 、 1μg/700μg 、 1μg/800μg 、 1μg/1000μg 、1μg/1500μg、1μg/2000μg、1μg/2500μg、1μg/3000μg、1μg/4000μg、1μg/5000μg、1μg/6000μg、1μg/7000μg、1μg/8000μg、1μg/9000μg、1μg/10000μg 以及上述任意两点之间的范围。

3. 根据权利要求 1 所述的免疫组合物，其中：

所述 PIC 在免疫组合物中的浓度为 250 μg/单位剂量至 5000 μg/单位剂量；

优选，所述 PIC 在免疫组合物中的浓度选自以下的任一项：250μg/单位剂量、500μg/单位剂量、1000μg/单位剂量、1500μg/单位剂量、2000μg/单位剂量、3000μg/单位剂量、4000μg/单位剂量、5000μg/单位剂量。

4. 根据权利要求 1 所述的免疫组合物，其中：

当所述源自冠状病毒的抗原是灭活病毒 SARS-CoV-2、减毒的病毒 SARS-CoV-2、或在受试者中不能繁殖的病毒 SARS-CoV-2 时，所述源自冠状病毒的抗原在免疫组合物中的浓度为 0.1 活性单位/单位剂量至

100.0 活性单位/单位剂量；

优选地，选自以下的任一项：0.5 活性单位/单位剂量、1.0 活性单位/单位剂量、1.5 活性单位/单位剂量、2.0 活性单位/单位剂量、2.5 活性单位/单位剂量、3.0 活性单位/单位剂量、3.5 活性单位/单位剂量、4.0 活性单位/单位剂量、5.0 活性单位/单位剂量、6.0 活性单位/单位剂量、7.0 活性单位/单位剂量、8.0 活性单位/单位剂量、9.0 活性单位/单位剂量、10.0 活性单位/单位剂量、15.0 活性单位/单位剂量、20.0 活性单位/单位剂量、30.0 活性单位/单位剂量、40.0 活性单位/单位剂量、50.0 活性单位/单位剂量、60.0 活性单位/单位剂量、70.0 活性单位/单位剂量、80.0 活性单位/单位剂量、90.0 活性单位/单位剂量、100.0 活性单位/单位剂量，以及上述任意两点之间的范围；

或者，当所述源自冠状病毒的抗原选自以下的任一项时：SARS-CoV-2 的 S 蛋白或其免疫原性片段、M 蛋白或其免疫原性片段、N 蛋白或其免疫原性片段、E 蛋白或其免疫原性片段、依据 SARS-CoV-2 结构设计的蛋白、多肽、DNA、RNA，其在免疫组合物中的浓度为 0.1 μg/单位剂量至 1000.0μg/单位剂量；

优选地，选自以下的任一项：0.5μg/单位剂量、1.0 μg/单位剂量、2.0 μg/单位剂量、3.0 μg/单位剂量、4.0μg/单位剂量、5.0 μg/单位剂量、6.0 μg/单位剂量、7.0 μg/单位剂量、8.0 μg/单位剂量、9.0 μg/单位剂量、10.0μg/单位剂量、15.0 μg/单位剂量、20.0 μg/单位剂量、30.0 μg/单位剂量、40.0 μg/单位剂量、50.0 μg/单位剂量、60.0 μg/单位剂量、70.0 μg/单位剂量、80.0 μg/单位剂量、90.0 μg/单位剂量、100.0 μg/单位剂量、200.0 μg/单位剂量、300.0 μg/单位剂量、400.0 μg/单位剂量、500.0 μg/单位剂量、600.0 μg/单位剂量、700.0 μg/单位剂量、800.0 μg/单位剂量、900.0 μg/单位剂量、1000.0 μg/单位剂量，以及上述任意两点之间的范围。

5. 根据权利要求 3 或 4 所述的免疫组合物，其中

所述单位剂量选自以下的任一项：0.1 ml，0.15 ml，0.2 ml，0.5 ml，1.0 ml，1.5 ml，2.0 ml，2.5 ml，3.0 ml，4.0 ml，5.0 ml，10.0 ml，20.0 ml，30.0 ml，40.0 ml，50.0 ml，60.0 ml，70.0 ml，80.0 ml，90.0 ml，

100.0 ml，150.0ml，200.0ml，250.0ml，以及上述任意两点之间的范围。

6. 根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的免疫组合物，其还包含选自以下的一种或其组合：

明胶、蔗糖、白砂糖、乳糖、麦芽糖、海藻糖、葡萄糖、低分子右旋糖苷、山梨醇、聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 80、盐酸精氨酸、甘露醇聚乙二醇、人血白蛋白、重组白蛋白、辛酸钠、尿素、氢氧化铝、磷酸铝、角鲨烯、皂苷、寡核苷酸、酚红、氯化镁、氯化钾、氯化钠、硫代硫酸钠、磷酸二氢钾、抗坏血酸、三氯甲烷、苯酚、硫柳汞。

7. 根据权利要求 1 至 6 中任一项所述的免疫组合物，其还包含生理上可接受的缓冲液，选自以下的一种或其组合：乙酸盐、三羟甲基氨基甲烷、碳酸氢盐、碳酸盐、磷酸盐缓冲液；

优选地，缓冲液浓度是 5mM 至 50mM，优选 5mM 至 20mM；

优选地，所述免疫组合物的 pH 值为 6 至 9。

8. 根据权利要求 1 至 7 中任一项所述的免疫组合物，可被制备成为固体剂型或液态剂型；

所述液态剂型选自以下的任一项：注射溶液、悬浮液、喷雾剂、气雾剂、滴鼻剂、油膏、乳剂、滴剂、糖浆剂、凝胶剂；

所述固体剂型选自以下的任一项：干粉、冻干粉、片剂、胶囊剂、栓剂、颗粒剂、糖衣锭。

9. 根据权利要求 1 至 8 中任一项所述的免疫组合物，其中：

所述 PIC 在分子量上是异质的，其分子量为 50,000 道尔顿至 1,200,000 道尔顿；或者

所述 PIC 在分子量上是异质的，其沉降系数单位为 5.0 至 24.0。

10. 根据权利要求 1 至 9 中任一项所述的免疫组合物，其中：

所述抗生素或多氨基化合物在免疫组合物中的浓度为 400U/单位剂量至 1200U/单位剂量，优选 400 U/单位剂量、500 U/单位剂量、600

U/单位剂量、700 U/单位剂量、800 U/单位剂量、900 U/单位剂量、1000 U/单位剂量、1100 U/单位剂量、1200 U/单位剂量；

所述正价离子在免疫组合物中的浓度为0.01mg/单位剂量至0.1mg/单位剂量，优选 0.01 mg/单位剂量、0.02 mg/单位剂量、0.03 mg/单位剂量、0.04 mg/单位剂量、0.05 mg/单位剂量、0.06 mg/单位剂量、0.07 mg/单位剂量、0.08 mg/单位剂量、0.09 mg/单位剂量、0.1 mg/单位剂量。

11. 根据权利要求 1 至 10 中任一项所述的免疫组合物，其中所述源自冠状病毒的抗原选自以下的任一项：

2.5μg/单位剂量至 20μg/单位剂量 SARS-CoV-2 刺突蛋白、

2.5μg/单位剂量至 20μg/单位剂量 SARS-CoV-2 刺突蛋白多聚体、

2.5μg/单位剂量至 20μg/单位剂量 SARS-CoV-2 刺突蛋白的免疫原性片段、

2.5μg/单位剂量至 20μg/单位剂量 SARS-CoV-2 刺突蛋白 RBD 区、

300 活性单位/单位剂量至 1000 活性单位/单位剂量灭活的 SARS-CoV-2 病毒体；

优选地，所述多聚体是二聚体、三聚体或四聚体；

优选地，所述多聚体是同源多聚体。

12. 根据权利要求 1 至 11 中任一项所述的免疫组合物，其包含：

源自冠状病毒的抗原、

0.5mg/ml 至 2 mg/ml PIC、

400 单位/ml 至 1200 单位/ml 卡那霉素、

0.01mg/ml 至 0.1mg/ml 氯化钙、

100mM 至 200mM 氯化钠、

5mM 至 20mM 磷酸缓冲液、

任选地，还包含选自以下的任一项或组合：100mM 至 200mM 盐酸精氨酸、0.005%w/v 至 0.05%w/v 聚山梨醇酯 80、0.1%w/w 至 1.0%w/w 磷酸铝。

13. 权利要求 1 至 12 中任一项所述的免疫组合物在制备用于预防

或治疗冠状病毒感染的疫苗或药物中的用途；

优选地，所述冠状病毒是 SARS-CoV-2 或其变种；

优选地，所述疫苗或药物制备成适于选自以下任一施用途径的剂型：肌肉内、腹腔内、静脉内、皮下、透皮、皮内、口服、舌下、呼吸道（鼻、咽、气管、支气管）。

14. 一种预防或治疗冠状病毒 SARS-CoV-2 感染的方法，其包括：

向受试者施用预防或治疗有效量的权利要求 1 至 12 中任一项所述的免疫组合物；

优选地，按照以下的频率向所述受试者施用所述免疫组合物：

每 4 年 1 至 4 次、每 3 年 1 至 3 次、每 2 年 1 至 2 次、每年 1 次、每年 2 次、每年 3 次、每年 4 次、每年 5 次、每年 6 次、每月 1 次、每月 2 次、每月 3 次、每月 4 次、每月 5 次、每月 6 次、每月 7 次、每月 8 次、每周 1 次、每周 2 次、每周 3 次、每周 4 次、每周 5 次、每周 6 次、每三天 1 次、每三天 2 次、每三天 3 次、每两天 1 次、每两天 2 次、每天 1 次、每天 2 次；

每次施用之间的时间间隔是相同的或不同的；

所述施用是选自以下任一项的施用途径：肌肉内、腹腔内、静脉内、皮下、透皮、皮内、口服、舌下、呼吸道（鼻、咽、气管、支气管）。

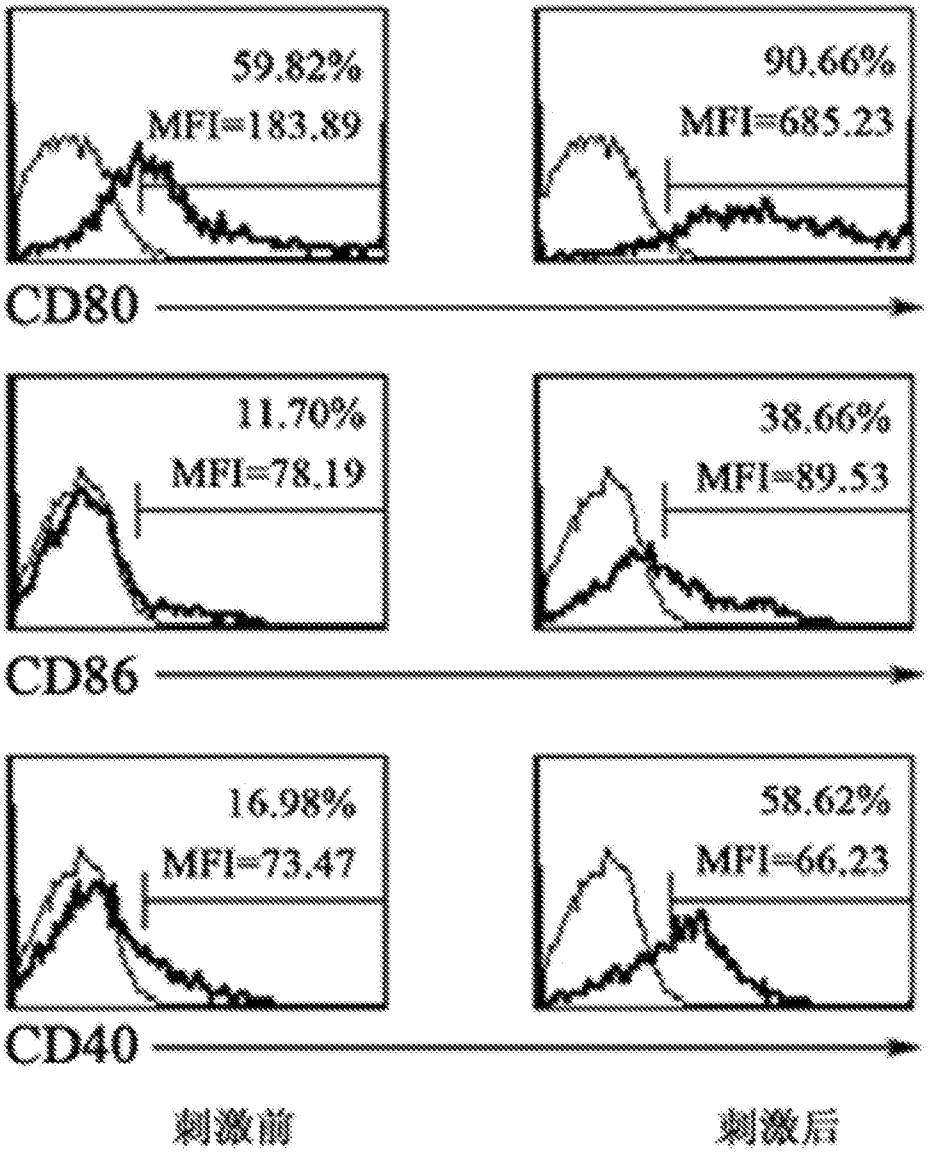

59.82%
MFI=183.89
90.66%
MFI=685.23
CD80
11.70%
MFI=78.19
38.66%
MFI=89.53
CD86
16.98%
MFI=73.47
58.62%
MFI=66.23
CD40
刺激前
刺激后

图 1

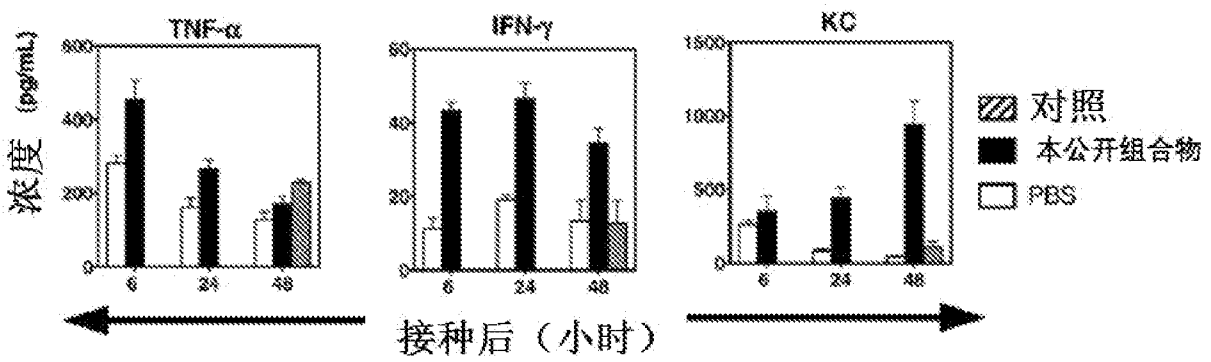

TNF-α
IFN-γ
KC
浓度 (pg/mL)
对照
本公开组合物
PBS
6
24
48
接种后（小时）

图2A

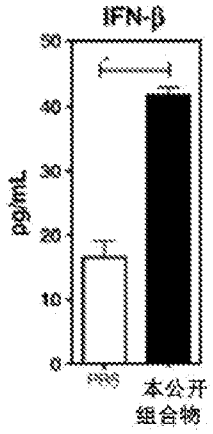

IFN-β
pg/mL
PBS
本公开组合物

图2B

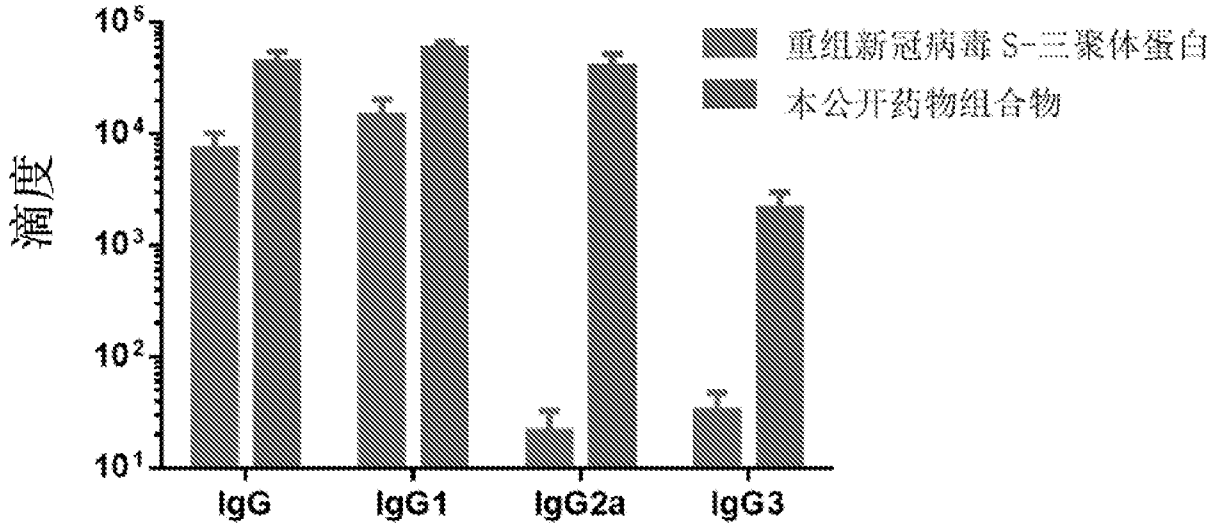

滴度
重组新冠病毒 S-三聚体蛋白
本公开药物组合物
IgG
IgG1
IgG2a
IgG3

图 3

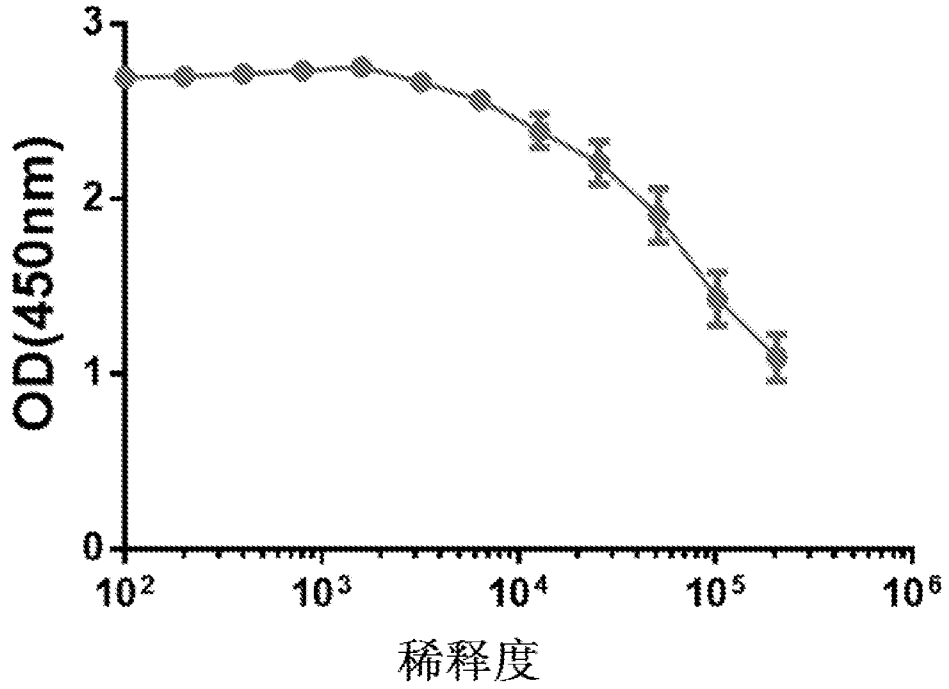

OD(450nm)
3
2
1
0
10^2
10^3
10^4
10^5
10^6
稀释度

图 4

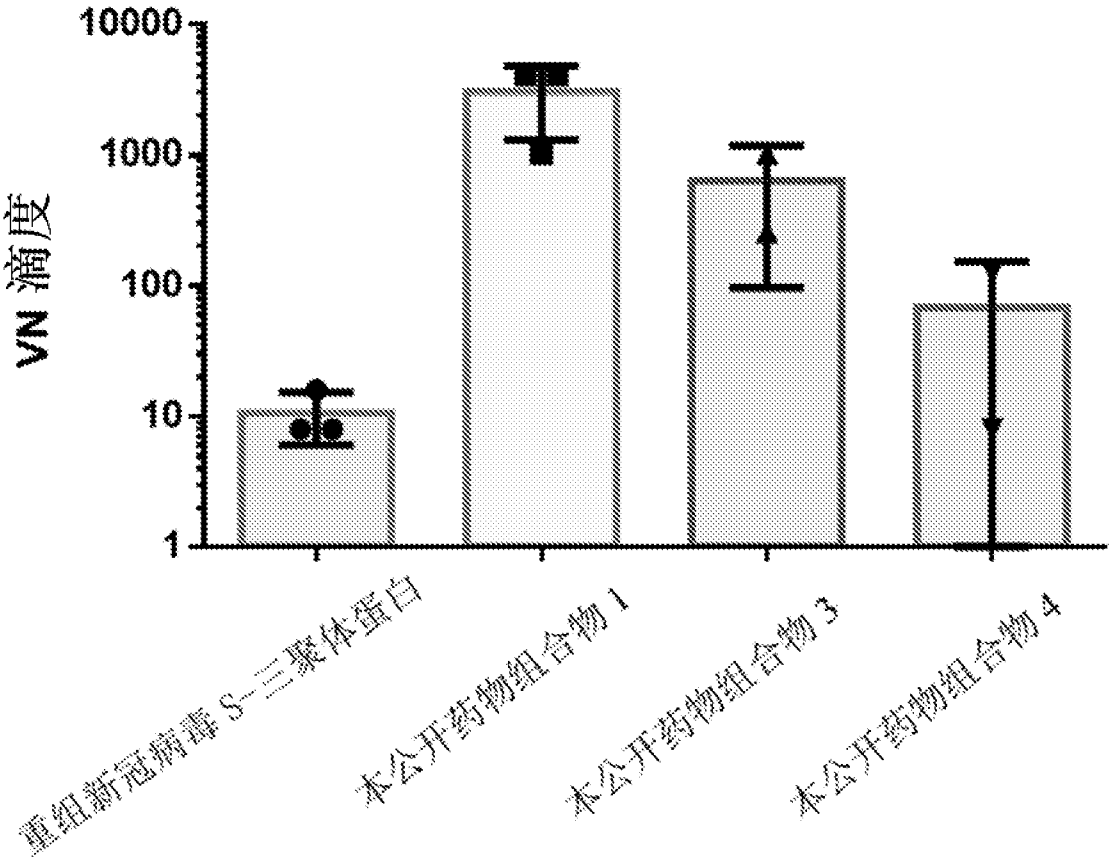

VN 滴度
10000
1000
100
10
1
重组新冠病毒 S-三聚体蛋白
本公开药物组合物 1
本公开药物组合物 3
本公开药物组合物 4

图 5

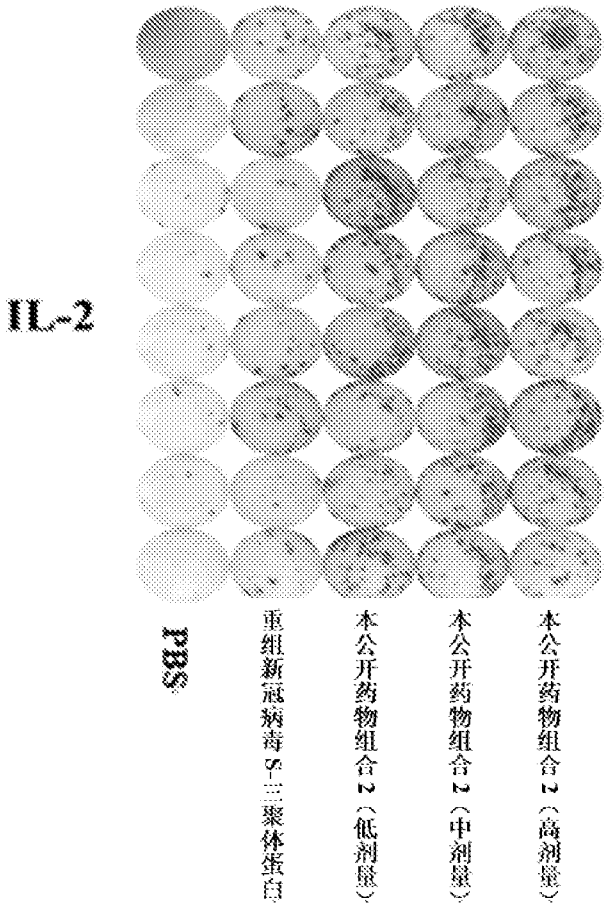

IL-2
PBS
重组新冠病毒S-三聚体蛋白
本公开药物组合2（低剂量）
本公开药物组合2（中剂量）
本公开药物组合2（高剂量）

图 6A

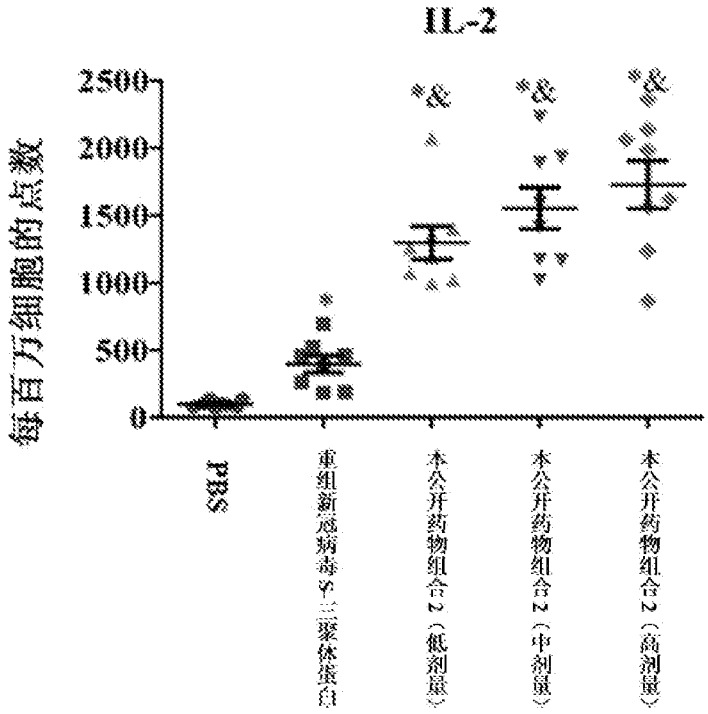

IL-2
每百万细胞的点数
2500
2000
1500
1000
500
0
PBS
重组新冠病毒S-三聚体蛋白
本公开药物组合2（低剂量）
本公开药物组合2（中剂量）
本公开药物组合2（高剂量）

图 6B

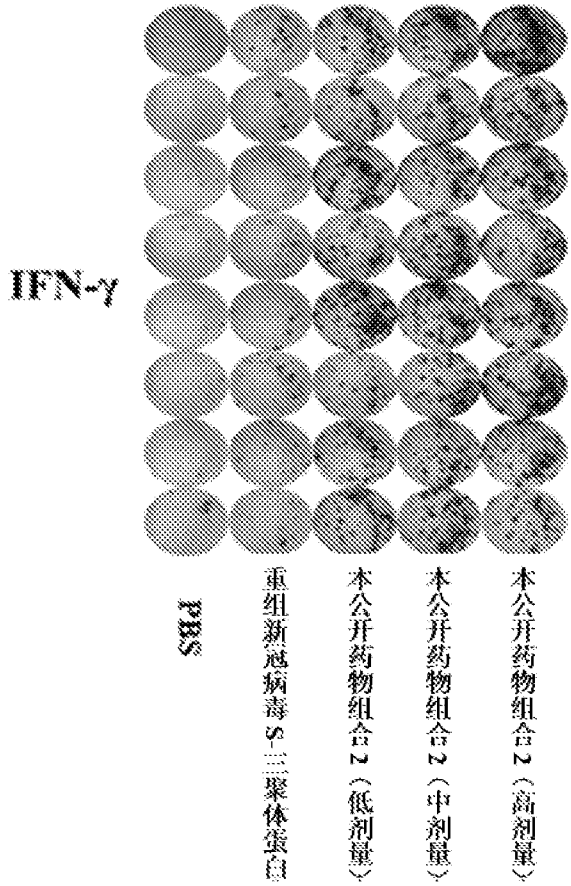

IFN-γ
PBS
重组新冠病毒S三聚体蛋白
本公开药物组合2（低剂量）
本公开药物组合2（中剂量）
本公开药物组合2（高剂量）

图 6C

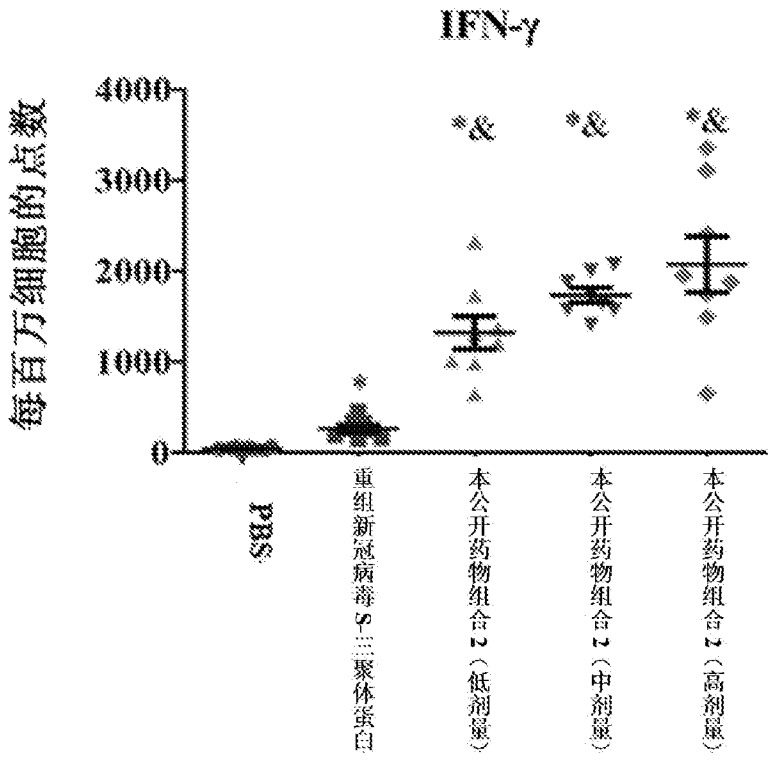

IFN-γ
每百万细胞的点数
4000
3000
2000
1000
0
*&
PBS
重组新冠病毒S三聚体蛋白
本公开药物组合2（低剂量）
本公开药物组合2（中剂量）
本公开药物组合2（高剂量）

图 6D

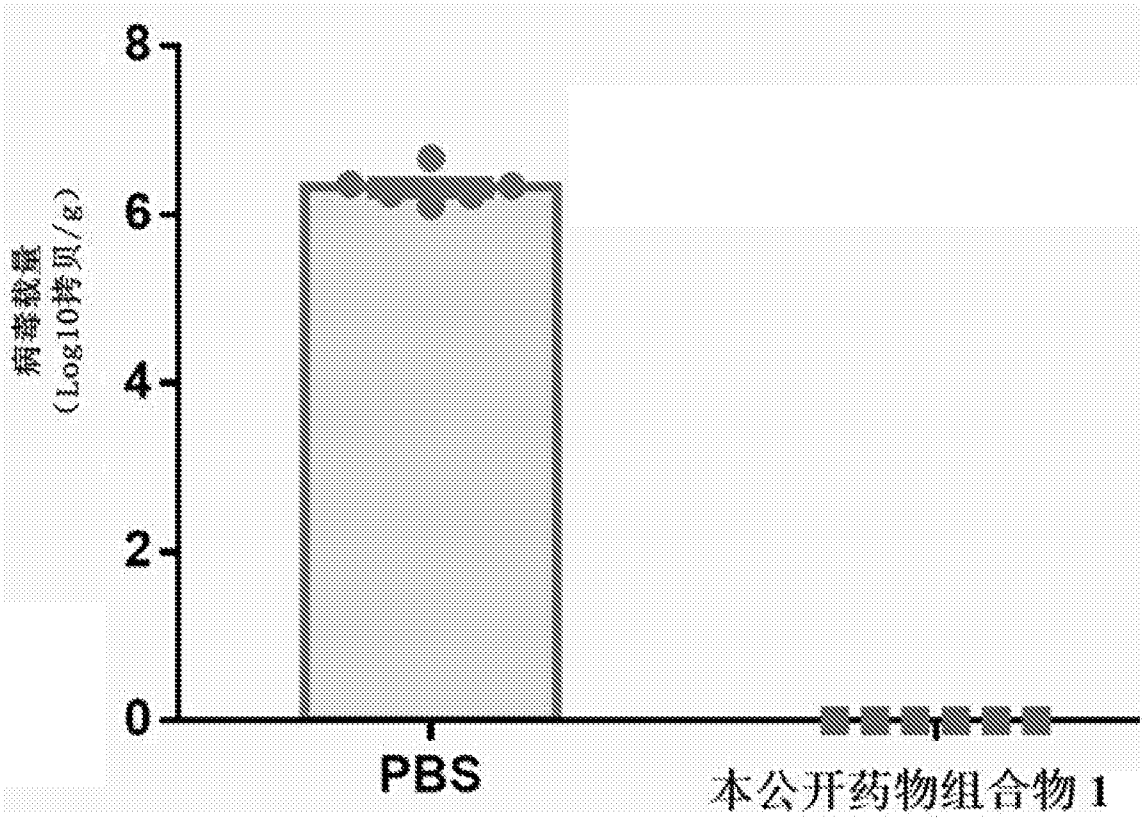

病毒载量
（Log10拷贝/g）
8
6
4
2
0
PBS
本公开药物组合物 1

图 7

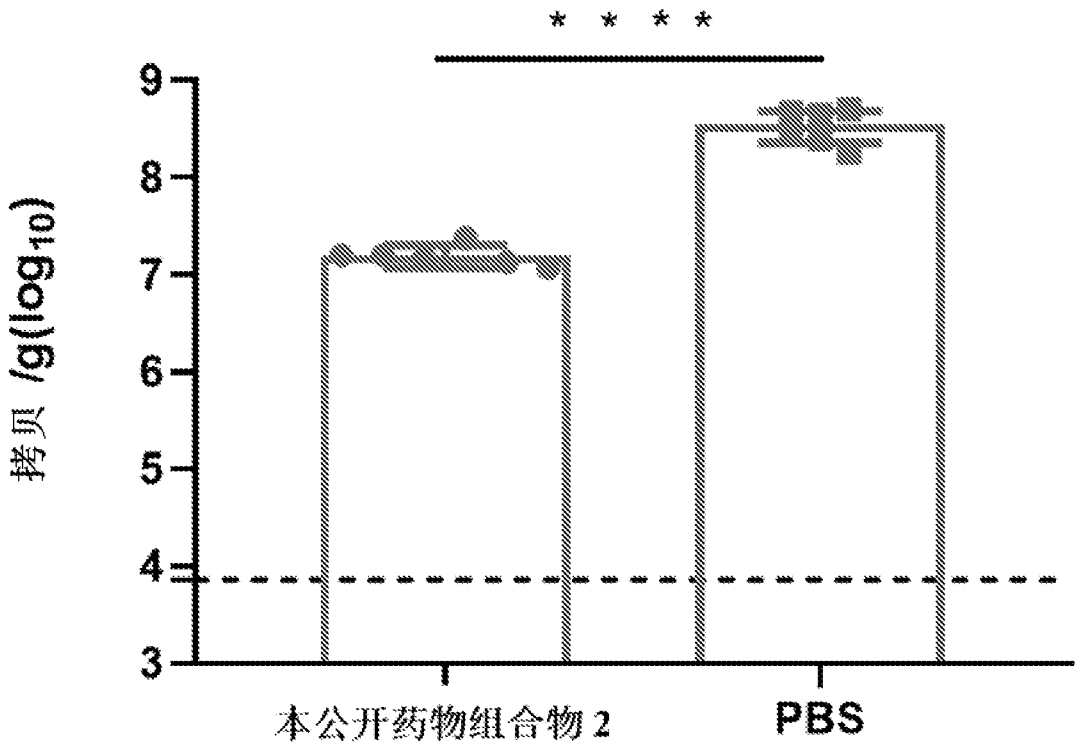

* * * *
拷贝 /g(log10)
9
8
7
6
5
4
3
本公开药物组合物 2
PBS

图 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2021/096048

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 39/215(2006.01)i; A61K 39/39(2006.01)i; A61P 31/14(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K39/-; A61P31/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CNTXT, VEN, DWPI, USTXT, EPTXT, WOTXT, CNKI, web of science, 读秀, DUXIU, 万方, WANFANG, 百度, BAIDU, 百度学术, BAIDU XUESHU; 辽宁依生, 北京依生, 河南依生, 张译, 刘媛, 张楠, 林海祥, 新冠, 新型冠状, COVID 19, COVID-19, SARS-COV-2, 2019-nCOV, 聚肌胞, 皮卡, PIKA, PICKCa, PIC, 皮氨钙, 疫苗, 佐剂, 免疫, vaccine?, adjuvant?, immun+

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	科学中国人 (Scientific Chinese). "新冠疫苗出新 (Non-official translation: New Crown Vaccine) 依生生物官宣突破 (Non-official translation: Yisheng Biological Official Proclaims Breakthrough)" *腾讯网 (Tencent),* 10 June 2020 (2020-06-10), p. 1	1-13
PX	Jiao Tong et al. "Potent Neutralization Antibodies Induced by a Recombinant Trimeric Spike Protein Vaccine Candidate Containing PIKA Adjuvant for COVID-19" *Vaccines,* Vol. 3, No. 9, 22 March 2021 (2021-03-22), ISSN: 0264-410X, section 2.2	1-13
X	CN 110944662 A (YISHENG BIOPHARMA SINGAPORE PTE LTD.) 31 March 2020 (2020-03-31) description, paragraphs [0020]-[0052], and claims 1-25	1, 3, 5-10
X	CN 103405762 A (YISHENG BIOPHARMA SINGAPORE PTE LTD.) 27 November 2013 (2013-11-27) description, paragraphs [0067]-[0186]	1, 5-10

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
27 July 2021	**16 August 2021**
Name and mailing address of the ISA/CN **China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)** **No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088** **China** Facsimile No. **(86-10)62019451**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2021/096048

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 105396130 A (LIN, Haixiang) 16 March 2016 (2016-03-16) description, paragraphs [0011] and [0050]-[0066]	1, 5-8
X	CN 107198777 A (YISHENG BIOPHARMA SINGAPORE PTE LTD.) 26 September 2017 (2017-09-26) description, paragraphs [0012]-[0110]	1, 3, 5-10
X	CN 1095951 A (LIN, Haixiang) 07 December 1994 (1994-12-07) claim 1	1, 3, 5-10
X	CN 101166559 A (NEWBIOMED PIKA PTE LTD.) 23 April 2008 (2008-04-23) description, page 11, line 30 to page 17, line 15	1, 3, 5-10
X	CN 106075431 A (LIN, Haixiang) 09 November 2016 (2016-11-09) claims 1-5	1, 3, 5-9
Y	CN 110974950 A (GUANGZHOU NBIOMED PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY CO., LTD.) 10 April 2020 (2020-04-10) the abstract	1-13
Y	CN 110944662 A (YISHENG BIOPHARMA (SINGAPORE) PTE LTD.) 31 March 2020 (2020-03-31) description, paragraphs [0020]-[0052], and claims 1-25	1-13
Y	CN 103405762 A (YISHENG BIOPHARMA (SINGAPORE) PTE LTD.) 27 November 2013 (2013-11-27) description, paragraphs [0067]-[0186]	1-13
Y	CN 105396130 A (LIN, Haixiang) 16 March 2016 (2016-03-16) description, paragraphs [0011]-[0066]	1-13
X	Shirin Kalimuddin et al. "A Phase II Randomized Study to Determine the Safety and Immunogenicity of the Novel PIKA Rabies Vaccine Containing the PIKA Adjuvant Using an Accelerated Regimen" *Vaccine,* Vol. 35, No. 51, 22 November 2017 (2017-11-22), ISSN: 0261-410X, the abstract	1, 3, 5-10
X	林海祥等 (LIN, Haixiang et al.). "皮卡佐剂及其治疗性疫苗作用机理 (Mechanisem of Action of PICKCa Adjuvant and Its Therapeutic Vaccines)" *自然科学 (Natural Science),* Vol. 3, No. 3, 21 August 2015 (2015-08-21), ISSN: 1671-5500, page 78, the last paragraph	1, 3, 5-10
A	CN 110951756 A (GUANGZHOU NBIOMED MEDICINE TECHNOLOGY CO., LTD.) 03 April 2020 (2020-04-03) entire document	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2021/096048

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☑ Claims Nos.: **14**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

[1] The subject matter of claim 14 relates to a method of treatment of the human or animal body by therapy and therefore does not warrant an international search according to the criteria set out in PCT Rule 39.1(iv).

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2021/096048

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 110944662 A	31 March 2020	KR 20200047524 A	07 May 2020
		EP 3664840 A1	17 June 2020
		WO 2019032046 A1	14 February 2019
		US 2020222529 A1	16 July 2020
		PH 12020500176 A1	14 September 2020
		CA 3070935 A1	14 February 2019
		AU 2018313636 A1	26 March 2020
		BR 112020002627 A2	28 July 2020
		SG 11202000347U A	27 February 2020
		CU 20200009 A7	30 November 2020
		HK 40015475 A0	28 August 2020
		VN 72867 A	25 September 2020
		IN 202017010239 A	28 August 2020
CN 103405762 A	27 November 2013	None	
CN 105396130 A	16 March 2016	WO 2017080098 A1	18 May 2017
CN 107198777 A	26 September 2017	SG 11201806562X A	30 August 2018
		CA 3015986 A1	05 October 2017
		US 2019083611 A1	21 March 2019
		ZA 201804603 B	31 July 2019
		BR 112018067461 A2	18 June 2019
		PH 12018501624 A1	03 June 2019
		EP 3436073 B1	27 January 2021
		CU 20180110 A7	04 April 2019
		WO 2017171653 A1	05 October 2017
		RU 2018137058 A	12 May 2020
		RU 2728175 C2	28 July 2020
		MX 2018010378 A	28 March 2019
		RU 2018137058 A3	12 May 2020
		AU 2017240702 A1	02 August 2018
		EP 3436073 A1	06 February 2019
		KR 20180125967 A	26 November 2018
		IN 201817031709 A	04 January 2019
		VN 61353 A	25 January 2019
		ID 201810964 A	05 October 2018
CN 1095951 A	07 December 1994	CN 1056315 C	13 September 2000
CN 101166559 A	23 April 2008	ZA 200806339 B	31 March 2010
		JP 2009523721 A	25 June 2009
		MY 150706 A	28 February 2014
		CA 2632415 A1	19 July 2007
		US 2009175902 A1	09 July 2009
		TW 200800258 A	01 January 2008
		AU 2006335367 A1	19 July 2007
		CN 101166559 B	22 August 2012
		BR PI0621181 A2	22 November 2011
		US 2013115244 A1	09 May 2013
		US 2011212123 A1	01 September 2011
		US 8303966 B2	06 November 2012
		AU 2006335367 B2	30 August 2012
		CU 23810 A3	15 April 2012

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2021/096048

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				US	2007166800	A1	19 July 2007
				NZ	570379	A	27 July 2012
				RU	2462264	C2	27 September 2012
				WO	2007081287	A1	19 July 2007
				TW	I503125	B	11 October 2015
				EP	1971402	A4	14 July 2010
				HK	1112863	A1	19 September 2008
				IL	192746	D0	11 February 2009
				WO	2007081287	A9	21 December 2007
				RU	2008133217	A	20 February 2010
				KR	20080091106	A	09 October 2008
				EP	1971402	A1	24 September 2008
				ZA	200806339	A	31 March 2010
				VN	10012163	B	27 January 2014
				MX	316753	B	07 January 2014
				MX	2008008966	A1	31 July 2008
				SG	143619	B	31 March 2011
				SG	143619	A1	29 July 2008
				IN	300041	B	31 August 2018
				PH	12008501440	B1	05 March 2015
CN	106075431	A	09 November 2016	WO	2017161950	A1	28 September 2017
CN	110974950	A	10 April 2020	CN	110974950	B	07 August 2020
CN	110951756	A	03 April 2020	CN	110951756	B	04 August 2020
				WO	2021000968	A2	07 January 2021
				WO	2021000968	A3	18 February 2021

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2021/096048

A. 主题的分类

A61K 39/215(2006.01)i；A61K 39/39(2006.01)i；A61P 31/14(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61K39/-；A61P31/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用））

CNABS，CNTXT，VEN，DWPI，USTXT，EPTXT，WOTXT，CNKI，web of science，读秀，万方，百度，百度学术；辽宁依生，北京依生，河南依生，张译，刘媛，张楠，林海祥，新冠，新型冠状，COVID 19，COVID-19，SARS-COV-2，2019-nCOV，聚肌胞，皮卡，PIKA，PICKCa，PIC，皮氨钙，疫苗，佐剂，免疫，vaccine?，adjuvant?，immun+

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
PX	科学中国人scichi. "新冠疫苗出新！依生生物官宣突破" 腾讯网, 2020年 6月 10日 (2020-06-10), 第1页	1-13
PX	Jiao Tong et al. "Potent Neutralization Antibodies Induced by a Recombinant Trimeric Spike Protein Vaccine Candidate Containing PIKA Adjuvant for COVID-19" vaccines, 第3卷，第9期，2021年 3月 22日 (2021-03-22), ISSN：0264-410X, 第2.2节	1-13
X	CN 110944662 A (依生生物制药新加坡私人有限公司) 2020年 3月 31日 (2020-03-31) 说明书第20-52段，权利要求1-25	1，3，5-10
X	CN 103405762 A (依生生物制药新加坡私人有限公司) 2013年 11月 27日 (2013-11-27) 说明书第67-186段	1，5-10
X	CN 105396130 A (林海祥) 2016年 3月 16日 (2016-03-16) 说明书第11、50-66段	1，5-8

☑ 其余文件在C栏的续页中列出。　☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：
"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件
"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利
"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）
"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件
"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件
"T" 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件
"X" 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性
"Y" 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性
"&" 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2021年 7月 27日	2021年 8月 16日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	受权官员 许慧 电话号码 (86-28)62968520

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 107198777 A (依生生物制药新加坡私人有限公司) 2017年 9月 26日 (2017-09-26) 说明书第12-110段	1，3，5-10
X	CN 1095951 A (林海祥) 1994年 12月 7日 (1994-12-07) 权利要求1	1，3，5-10
X	CN 101166559 A (申益皮卡生物技术有限公司) 2008年 4月 23日 (2008-04-23) 说明书第11页第30行至17页第15行	1，3，5-10
X	CN 106075431 A (林海祥) 2016年 11月 9日 (2016-11-09) 权利要求1-5	1，3，5-9
Y	CN 110974950 A (广州恩宝生物医药科技有限公司) 2020年 4月 10日 (2020-04-10) 摘要	1-13
Y	CN 110944662 A (生生物制药新加坡私人有限公) 2020年 3月 31日 (2020-03-31) 第20-52段，权利要求1-25	1-13
Y	CN 103405762 A (生生物制药新加坡私人有限公) 2013年 11月 27日 (2013-11-27) 第67-186段	1-13
Y	CN 105396130 A (林海祥) 2016年 3月 16日 (2016-03-16) 第11-66段	1-13
X	Shirin Kalimuddin et al. "A phase II randomized study to determine the safety and immunogenicity of the novel PIKA rabies vaccine containing the PIKA adjuvant using an accelerated regimen" Vaccine, 第35卷，第51期，2017年 11月 22日 (2017-11-22), ISSN：0261-410X, 摘要	1，3，5-10
X	林海祥等. "皮卡佐剂及其治疗性疫苗作用机理" 自然科学，第3卷，第3期，2015年 8月 21日 (2015-08-21), ISSN：1671-5500, 第78页最后1段	1，3，5-10
A	CN 110951756 A (广州恩宝生物医药科技有限公司) 2020年 4月 3日 (2020-04-03) 全文	1-13

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2021/096048

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	110944662	A	2020年 3月 31日	KR	20200047524	A	2020年 5月 7日
				EP	3664840	A1	2020年 6月 17日
				WO	2019032046	A1	2019年 2月 14日
				US	2020222529	A1	2020年 7月 16日
				PH	12020500176	A1	2020年 9月 14日
				CA	3070935	A1	2019年 2月 14日
				AU	2018313636	A1	2020年 3月 26日
				BR	112020002627	A2	2020年 7月 28日
				SG	11202000347U	A	2020年 2月 27日
				CU	20200009	A7	2020年 11月 30日
				HK	40015475	A0	2020年 8月 28日
				VN	72867	A	2020年 9月 25日
				IN	202017010239	A	2020年 8月 28日
CN	103405762	A	2013年 11月 27日		无		
CN	105396130	A	2016年 3月 16日	WO	2017080098	A1	2017年 5月 18日
CN	107198777	A	2017年 9月 26日	SG	11201806562X	A	2018年 8月 30日
				CA	3015986	A1	2017年 10月 5日
				US	2019083611	A1	2019年 3月 21日
				ZA	201804603	B	2019年 7月 31日
				BR	112018067461	A2	2019年 6月 18日
				PH	12018501624	A1	2019年 6月 3日
				EP	3436073	B1	2021年 1月 27日
				CU	20180110	A7	2019年 4月 4日
				WO	2017171653	A1	2017年 10月 5日
				RU	2018137058	A	2020年 5月 12日
				RU	2728175	C2	2020年 7月 28日
				MX	2018010378	A	2019年 3月 28日
				RU	2018137058	A3	2020年 5月 12日
				AU	2017240702	A1	2018年 8月 2日
				EP	3436073	A1	2019年 2月 6日
				KR	20180125967	A	2018年 11月 26日
				IN	201817031709	A	2019年 1月 4日
				VN	61353	A	2019年 1月 25日
				ID	201810964	A	2018年 10月 5日
CN	1095951	A	1994年 12月 7日	CN	1056315	C	2000年 9月 13日
CN	101166559	A	2008年 4月 23日	ZA	200806339	B	2010年 3月 31日
				JP	2009523721	A	2009年 6月 25日
				MY	150706	A	2014年 2月 28日
				CA	2632415	A1	2007年 7月 19日
				US	2009175902	A1	2009年 7月 9日
				TW	200800258	A	2008年 1月 1日
				AU	2006335367	A1	2007年 7月 19日
				CN	101166559	B	2012年 8月 22日
				BR	PI0621181	A2	2011年 11月 22日
				US	2013115244	A1	2013年 5月 9日
				US	2011212123	A1	2011年 9月 1日
				US	8303966	B2	2012年 11月 6日
				AU	2006335367	B2	2012年 8月 30日
				CU	23810	A3	2012年 4月 15日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2021/096048

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
				US	2007166800	A1	2007年 7月 19日
				NZ	570379	A	2012年 7月 27日
				RU	2462264	C2	2012年 9月 27日
				WO	2007081287	A1	2007年 7月 19日
				TW	I503125	B	2015年 10月 11日
				EP	1971402	A4	2010年 7月 14日
				HK	1112863	A1	2008年 9月 19日
				IL	192746	D0	2009年 2月 11日
				WO	2007081287	A9	2007年 12月 21日
				RU	2008133217	A	2010年 2月 20日
				KR	20080091106	A	2008年 10月 9日
				EP	1971402	A1	2008年 9月 24日
				ZA	200806339	A	2010年 3月 31日
				VN	10012163	B	2014年 1月 27日
				MX	316753	B	2014年 1月 7日
				MX	2008008966	A1	2008年 7月 31日
				SG	143619	B	2011年 3月 31日
				SG	143619	A1	2008年 7月 29日
				IN	300041	B	2018年 8月 31日
				PH	12008501440	B1	2015年 3月 5日
CN	106075431	A	2016年 11月 9日	WO	2017161950	A1	2017年 9月 28日
CN	110974950	A	2020年 4月 10日	CN	110974950	B	2020年 8月 7日
CN	110951756	A	2020年 4月 3日	CN	110951756	B	2020年 8月 4日
				WO	2021000968	A2	2021年 1月 7日
				WO	2021000968	A3	2021年 2月 18日