(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
2022 年 1 月 20 日 (20.01.2022)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2022/012030 A1

(51) 国际专利分类号:
A61K 9/107 (2006.01) *A61K 31/715* (2006.01)
A61K 47/32 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
A61K 47/44 (2017.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2021/074740

(22) 国际申请日: 2021 年 2 月 2 日 (02.02.2021)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202010677547.0 2020年7月13日 (13.07.2020) CN

(71) 申请人: 深圳大学(SHENZHEN UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区南海大道3688号, Guangdong 518000 (CN)。

(72) 发明人: 续旭(XU, Xu); 中国广东省深圳市南山区南海大道3688号, Guangdong 518000 (CN)。 李梅婷(LI, Meiting); 中国广东省深圳市南山区南海大道3688号, Guangdong 518000 (CN)。 毕德成(BI, Decheng); 中国广东省深圳市南山区南海大道3688号, Guangdong 518000 (CN)。 姚丽君(YAO, Lijun); 中国广东省深圳市南山区南海大道3688号, Guangdong 518000 (CN)。 杨朋(YANG, Peng); 中国广东省深圳市南山区南海大道3688号, Guangdong 518000 (CN)。 曹珏(CAO, Jue); 中国广东省深圳市南山区南海大道3688号, Guangdong 518000 (CN)。 李文灏(LI, Wenhao); 中国广东省深圳市南山区南海大道3688号, Guangdong 518000 (CN)。 范晓琦(FAN, Xiaoqi); 中国广东省深圳市南山区南海大道3688号, Guangdong 518000 (CN)。 陈嘉怡(CHEN, Jiayi); 中国广东省深圳市南山区南海大道3688号, Guangdong 518000 (CN)。

(74) 代理人: 深圳市精英专利事务所(SHENZHEN TALENT PATENT SERVICE); 中国广东省深圳市福田区深南中路6009号绿景广场B栋20层B, Guangdong 518000 (CN)。

(54) **Title:** W/O/W TYPE UNSATURATED GULURONIC ACID NANOMETER CREAM AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) **发明名称:** 一种W/O/W型不饱和古罗糖醛酸纳米乳及其制备方法

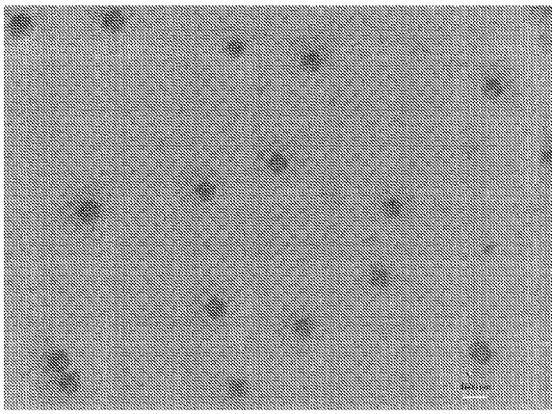


图 3

(57) **Abstract:** W/O/W (water in oil in water) type unsaturated guluronic acid nanometer cream, aiming at solving the technical problem of protecting the oxidation resistance of unsaturated guluronic acid. Also provided is a preparation method for the W/O/W type unsaturated guluronic acid nanometer cream. The cream is prepared by using edible oil, polyglycerol polyricinoleate, polyvinyl alcohol, Span-80, Tween-80 and unsaturated guluronic acid as raw materials, and adopting a high energy emulsification method. The W/O/W type unsaturated guluronic acid nanometer cream prepared by the preparation method is high in entrapment efficiency and good in stability, has a slow release effect, and can effectively prolong the medicine effects.

(57) **摘要:** 一种W/O/W（水包油包水）型不饱和古罗糖醛酸纳米乳，旨在解决保护不饱和古罗糖醛酸抗氧化性的技术问题。还涉及W/O/W型不饱和古罗糖醛酸纳米乳的制备方法，它是以食用油、聚甘油蓖麻醇酯、聚乙烯醇、Span-80、Tween-80、不饱和古罗糖醛酸为原料，通过高能乳化法制备得到的。通过该制备方法获得的W/O/W型不饱和古罗糖醛酸纳米乳包封率高、稳定性好，具有缓释作用，可以有效地延长药效。

WO 2022/012030 A1

[见续页]

(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))。

一种 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳及其制备方法

本申请是以申请号为 202010677547.0 、申请日为 2020 年 7 月 13 日的中国专利申请为基础，并主张其优先权，该申请的全部内容在此作为整体引入本申请中。

技术领域

本申请涉及化学制剂技术领域，尤其涉及一种 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳及其制备方法。

背景技术

褐藻胶寡糖具有抗氧化、抗肿瘤、免疫调节和神经保护等作用。本申请涉及的不饱和古罗糖醛酸是一种褐藻胶寡糖，是由褐藻胶分级后得到均聚古罗糖醛酸（PG），PG 再进一步酶解得到的。不饱和古罗糖醛酸能够调节巨噬细胞和神经小胶质细胞免疫紊乱，抑制脂多糖诱导的 NF-κB 和 MAPK 信号通路的过度激活及下游炎症介质过度分泌，具有良好的免疫调节作用。同时，不饱和古罗糖醛酸具有很好的抗氧化活性，因其含有的不饱和双键而不稳定；同时作为营养因子，在被机体摄入后可能会被胃肠道酸性物质或酶降解，导致其生物利用度降低，限制了其药理作用和营养功能的发挥。

纳米乳是由水、油、表面活性剂和助表面活性剂按适当比例混合形成的热力学稳定体系，因其纳米级的粒径，具有特殊表面效应和小尺寸效应，如显著改善亲脂性化合物的溶解性和生物利用度，具有缓释效果和靶向释放的功能。

常见的纳米乳结构有水包油型纳米乳(O/W)和油包水型纳米乳(W/O)，而将不饱和古罗糖醛酸制成油包水型纳米乳在存储过程中不稳定，且存在水溶性差的问题。

申请内容

本申请所要解决的技术问题是如何利用W/O/W型纳米乳载体来改善不饱和

古罗糖醛酸的不稳定性，保护其生物活性的同时控制其释放，达到缓释的作用。

为了解决上述问题，本申请提出以下技术方案：

一种 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳的制备方法，包括以下步骤：

S1、将油相和不饱和古罗糖醛酸内水相按质量比 5-8：2-5 混合，均质，形成初乳；

S2、将外水相和初乳按质量比 5-8：2-5 混合，均质，形成水包油包水型不饱和古罗糖醛酸纳米乳；

所述油相含有食用油和亲油性表面活性剂；

所述外水相含有聚乙烯醇、亲水性表面活性剂和水。

内水相为不饱和古罗糖醛酸溶于水，过滤后得到。

油相为食用油和亲油性表面活性剂混合均匀得到，可使用磁力搅拌器辅助搅拌均匀。

外水相为聚乙烯醇、亲水性表面活性剂和水混合均匀得到，可使用磁力搅拌器辅助搅拌均匀。

其进一步地技术方案为，所述不饱和古罗糖醛酸内水相为 5~40 μg/mL 的不饱和古罗糖醛酸水溶液。

其进一步地技术方案为，所述亲油性表面活性剂为聚甘油蓖麻醇酯。

其进一步地技术方案为，所述油相中食用油和亲油性表面活性剂的质量比为 7-9：1-3。

其进一步地技术方案为，所述亲水性表面活性剂的 HLB 值为 10。

其进一步地技术方案为，所述亲水性表面活性剂含有 Span-80 和 Tween-80。所述亲水性表面活性剂优选 Span-80/Tween-80 复配。

其进一步地技术方案为，所述外水相中，聚乙烯醇作为稳定剂，其含量为 0.3~2.4%（质量分数），优选 1%。亲水性表面活性剂的质量分数为 10~15%，优选 10%。

其进一步地技术方案为，所述步骤 S1 中，均质速度为 14000 rpm，均质时间为 1.5~2.5 min，优选 2 min。

其进一步地技术方案为，所述步骤 S2 中，均质速度为 8000-14000 rpm，均质时间为 1.5~2.5 min。优选 13000 rpm，2 min。

其进一步地技术方案为，所述的食用油是葵花油、玉米油、大豆油、亚麻籽油、橄榄油的至少一种。

本申请还提供一种 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳，由上述的 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳制备方法制得。

按上述方法制备得到的不饱和古罗糖醛酸纳米乳利用纳米激光粒度分析仪对其粒径、分散指数（PDI）和离心保留率进行了分析，并利用透射电镜对不饱和古罗糖醛酸纳米乳的表面形态进行了研究，发现本申请制得的不饱和古罗糖醛酸纳米乳呈现均一的纳米分散体系。

体外将不饱和古罗糖醛酸以及不饱和古罗糖醛酸纳米乳以一定浓度重悬，用透析袋模拟体内半透膜，探究两者的释放规律。发现不饱和古罗糖醛酸被包裹后，明显减缓了药物的释放，说明本申请制得的不饱和古罗糖醛酸纳米乳有缓释效果。

体外稳定性实验表明，与冰箱 4℃条件相比，室温条件更适合不饱和古罗糖醛酸纳米乳的储藏，而且室温保存 15 天发现体系稳定，没有出现分层。

本申请的有益技术效果是：

1. 本申请首次提供了一种 W/O/W 型（水包油包水型）的多层不饱和古罗糖醛酸纳米乳的制备方法，得到的不饱和古罗糖醛酸纳米乳可以有效地保护不饱和古罗糖醛酸的抗氧化活性。

2. 通过筛选稳定剂浓度、均质速度、均质时间等条件，获得最优处方制得 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳，其平均粒径为 273.9 nm，均为粒度分布均匀的球形粒子，并且通过稳定性实验表明本申请制得的不饱和古罗糖醛酸纳米乳在室温储存即可，且室温下储存 6 天内粒径大小变化不大。

3. 通过比较本申请制得的 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳和不饱和古罗糖醛酸（非纳米乳结构）的体外释放效果，实验表明，与不饱和古罗糖醛酸相比，本申请制得的不饱和古罗糖醛酸纳米乳具有较强的缓释作用，药效更持久。

附图说明

图 1 为不饱和古罗糖醛酸化学结构式；

图 2 为本申请实施例 2 制得的不饱和古罗糖醛酸纳米乳的粒径分布图；

图 3 为本申请实施例 2 制得的不饱和古罗糖醛酸纳米乳的透射电镜图；

图 4 为本申请实施例 2 制得的不饱和古罗糖醛酸纳米乳的储存稳定性实验结果；

图 5 为本申请实施例 2 制得的不饱和古罗糖醛酸纳米乳和不饱和古罗糖醛酸（非纳米乳结构）的体外释放对比图。

具体实施方式

下面将结合本申请实施例中的附图，对实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述，实验中未详述的试验操作均为本领域技术人员所熟知的常规试验操作。

实施例 1 不饱和古罗糖醛酸的制备及聚合度鉴定

将褐藻酸钠溶于 0.5 M HCl 中，于 90℃加热 7 h 后期静置过夜使其分层。然后 3500 rpm 低速离心 10 min 得到沉淀备用。沉淀用 8 % $NaHCO_3$ 溶液溶解后，用 HCl 调 pH 至 2.85，静置分层，3500 rpm 低速离心 10 min 后，收集沉淀，水溶、冻干制备得到 PG。称取一定量 PG 溶解于 PBS 中。加一定量的褐藻胶裂解酶，于 37℃条件下恒温反应 2 h 后，再加入等量酶液，于 37℃继续反应 24 h。待反应结束后 80℃水浴加热 10 min，使酶失活，冷却后用 0.45 μm 微孔滤膜过滤，冷冻干燥得到不饱和古罗糖醛酸。

取不饱和古罗糖醛酸配制成浓度为 1mg/mL 的水溶液，溶于 50% MeOH 和 1 mM NH_4OH。设置 LCMS-IT-TOF 质谱仪检测条件为：Flowrate：7.5 μL/min；Interface：-3.5 kV；Nebulizer gas：0.5 L/min；CDL temperature：200℃。通过 LC/MS-IT-TOF 质谱仪确定不饱和古罗糖醛酸的化学结构如图 1 所示。

实施例 2 制备 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳

将不饱和古罗糖醛酸溶解于水中作为内水相（W_1 相）；

将聚甘油蓖麻醇酯 15%、食用油 85%混合均匀作为油相（O 相）；

将亲水性乳化剂（Span-80/Tween-80 复配，HLB 值为 10）10%、聚乙烯醇

1%和水混合均匀作为外水相（W_2相）；

W_1相与O相按质量比3：7混合，经高速分散器均质（14000 rpm, 2 min）后，制备得到W_1/O型初乳；

将初乳与W_2相按质量比3：7混合，经高速分散器均质（14000 rpm, 2 min），得到复乳，即为本申请提供的W/O/W型不饱和古罗糖醛酸纳米乳。

在单因素考察的基础上，确定以亚麻籽油为油相，并得到影响不饱和古罗糖醛酸纳米乳粒径的3个主要影响因素，即X_1聚乙烯醇浓度（%，g/g）、X_2均质速度（rpm）和X_3均质时间（min）。以上述3个因素为自变量，以粒径为响应值做二次回归正交组合试验。试验设计及结果见表1。

对表1中试验结果进行响应面分析，经过二次回归拟合后，得到不饱和古罗糖醛酸纳米乳的粒径对聚乙烯醇浓度（%，g/g）、均质速度（rpm）和均质时间（min）二次多项回归方程为：$Y=496.28-67.80X_1-249.48X_2-40.87X_3+25.30X_1X_2-48.00X_1X_3-1.15X_2X_3+34.19X_1^2+122.34X_2^2+10.04X_3^2$。

表1 Box-Behnken试验设计表及结果

组别	聚乙烯醇浓度（%, g/g）	均质速度（rpm）	均质时间（min）	平均粒径（nm）
1	0.9	11000	2	419.2
2	1.2	14000	2	358.8
3	0.6	11000	1.5	612.4
4	0.6	11000	2.5	598.2
5	0.9	14000	1.5	406
6	0.9	11000	2	547
7	1.2	11000	2.5	372.6
8	0.9	8000	1.5	904.6
9	0.9	11000	2	528.8
10	0.6	8000	2	997.4

11	0.9	11000	2	490.6
12	0.9	14000	2.5	350.4
13	1.2	8000	2	805.2
14	1.2	11000	1.5	578.8
15	0.6	14000	2	449.8
16	0.9	11000	2	495.8
17	0.9	8000	2.5	853.6

利用 Design expert 7.0 软件对表 1 的结果进行多元线性回归拟合，对模型进行方差分析，结果见表 2。由表 2 可知，模型 P<0.0001，表示模型极显著；说明该模型成立，本实验方法可靠。失拟项 P=0.8675>0.05，不显著，表明回归方程无失拟因素存在，回归式拟合的较好。进一步说明在试验范围内可以用来解释和预测试验结果。模型中的 X_1、X_2、X_3、X_1X_3 的“p”值均小于 0.05，说明其对不饱和古罗糖醛酸纳米乳的粒径有显著影响；相关性 R^2= 0.9824，校正决定系数 R_{Adj}^2=0.9598，仅有约 2%的不饱和古罗糖醛酸纳米乳粒径总变异不能由此模型进行解释。综上表明，此模型拟合度好。

表 2 响应面模型方差分析表

方差	平方和	自由度	均方	F 值	概率>F	
模型	6.313×10^5	9	70143.62	43.44	< 0.0001	显著
X_1	36774.72	1	36774.72	22.78	0.0020	-
X_2	4.979×10^5	1	4.979×10^5	308.37	< 0.0001	-
X_3	13366.12	1	13366.12	8.28	0.0237	-
X_1^2	4920.48	1	4920.48	3.05	0.1244	--
X_2^2	63014.11	1	63014.11	39.03	0.0004	-
X_3^2	424.01	1	424.01	0.2626	0.6241	-
X_1X_2	2560.36	1	2560.36	1.59	0.2483	-
X_1X_3	9216.00	1	9216.00	5.71	0.0482	-
X_2X_3	5.29	1	5.29	0.0033	0.9560	-

残差	11302.30	7	1614.61	-	-	-
失拟项	1698.41	3	566.14	0.2358	0.8675	不显著
纯误差	9603.89	4	2400.97	-	-	-
总差	6.426×10^5	16	-	-	-	-
R^2=0.9824	R_{Adj}^2=0.9598	R_{Pred}^2=0.9344	-	-	-	-

通过响应面设计法优化得到制备不饱和古罗糖醛酸纳米乳的最佳制备条件为：聚乙烯醇浓度为 0.96%、均质速度为 13955 rpm、均质时间 2.12 min，预测所得不饱和古罗糖醛酸纳米乳的粒径为 339.89 nm。经实验验证，在最佳制备条件下获得的纳米乳粒径为 273.93±8.91 nm，PDI 为 0.24，粒径分布图见附图 2。

实施例 3 不饱和古罗糖醛酸纳米乳的粒径检测及电镜观察

将实施例 2 中的不饱和古罗糖醛酸纳米乳用超纯水稀释 10 倍后，滴在覆有支持膜的铜网上，自然挥干，用透射电子显微镜观察纳米乳形态，见附图 3。图中近似圆形的黑点即为不饱和古罗糖醛酸纳米乳液滴，大小均一。

实施例 4 不饱和古罗糖醛酸纳米乳的稳定性实验

将不饱和古罗糖醛酸纳米乳置于西林瓶中，分别放置室温和冰箱 4℃保存，在第 1，2，3，6，9，12，15 天取样观察并测定其粒径，评价其稳定性。结果见图 4，表明与在冰箱 4℃保存 15 天相比，不饱和古罗糖醛酸纳米乳在室温保存粒径变化更小，且无分层现象，所以在室温储存即可。

实施例 5 不饱和古罗糖醛酸纳米乳和空白纳米乳的体外释放

以超纯水作为释放介质，分别将 2 mL W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳和不饱和古罗糖醛酸（非纳米乳结构）加入透析袋中，然后将透析袋两头封紧，放进装有 35 mL 释放介质的锥形瓶中。将锥形瓶放入摇床中，37°C, 100 rpm, 模拟体液环境。选择特定时间间隔（0.5，1，2，4，8，12，24，36，48 h），取 1

mL 释放介质于 1.5 mL EP 管中，并加入等量新的释放介质于锥形瓶中。EP 管中样品不饱和古罗糖醛酸的含量使用硫酸咔唑法定量分析。如图 5 所示，不饱和古罗糖醛酸（非纳米乳结构）在前 8 个小时基本释放完毕，而 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳以一个较平缓、持续的速率释放，这个现象表明包裹在纳米乳中的不饱和古罗糖醛酸体外释放药物要比寡糖本身单独释放缓慢的多，这是 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳的缓释作用，是由于纳米乳最外层的稳定剂具有保护作用。

小结：

通过筛选稳定剂浓度、均质速度、均质时间等条件，获得最优处方制得 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳，其平均粒径为 273.9 nm，均为粒度分布均匀的球形粒子，而且稳定性好，在室温条件下储存即可。

通过 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳和不饱和古罗糖醛酸（非纳米乳结构）的体外释放实验表明，与不饱和古罗糖醛酸相比，本申请提供的 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳具有较强的缓释作用，这对不饱和古罗糖醛酸功效性的提高具有重要意义，同时利用纳米乳载体实现了对不饱和古罗糖醛酸抗氧化性的保护作用。

在上述实施例中，对各个实施例的描述都各有侧重，某个实施例中没有详细描述的部分，可以参见其他实施例的相关描述。

以上所述，为本申请的具体实施方式，但本申请的保护范围并不局限于此，任何熟悉本技术领域的技术人员在本申请揭露的技术范围内，可轻易想到各种等效的修改或替换，这些修改或替换都应涵盖在本申请的保护范围之内。因此，本申请的保护范围应以权利要求的保护范围为准。

权利要求书

1、一种 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳的制备方法，其特征在于，包括以下步骤：

S1、将油相和不饱和古罗糖醛酸内水相按质量比 5-8：2-5 混合，均质，形成初乳；

S2、将外水相和初乳按质量比 5-8：2-5 混合，均质，形成水包油包水型不饱和古罗糖醛酸纳米乳；

所述油相含有食用油和亲油性表面活性剂；食用油和亲油性表面活性剂的质量比为 7-9：1-3；

所述外水相含有聚乙烯醇、亲水性表面活性剂和水；其中，聚乙烯醇的质量分数为 0.3~2.4%、亲水性表面活性剂的质量分数为 10~15%；

所述亲油性表面活性剂为聚甘油蓖麻醇酯；

所述不饱和古罗糖醛酸内水相为 5~40 μg/mL 的不饱和古罗糖醛酸水溶液；

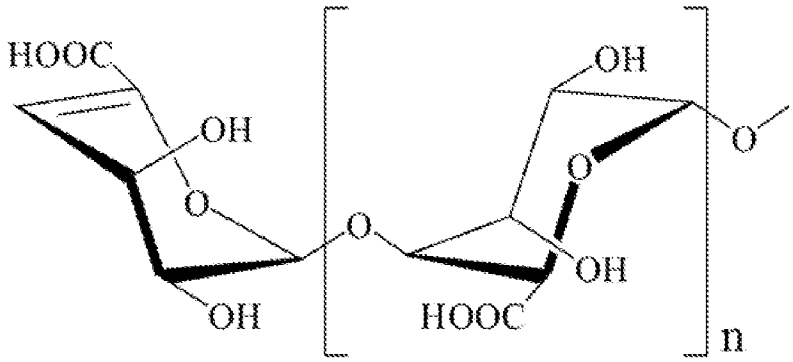
所述亲水性表面活性剂的 HLB 值为 10。

2、如权利要求 1 所述的 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳的制备方法，其特征在于，所述亲水性表面活性剂含有 Span-80 和 Tween-80。

3、如权利要求 1 所述的 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳的制备方法，其特征在于，所述步骤 S1 中，均质速度为 14000 rpm，均质时间为 1.5~2.5 min。

4、如权利要求 1 所述的 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳的制备方法，其特征在于，所述步骤 S2 中，均质速度为 8000-14000 rpm，均质时间为 1.5~2.5 min。

5、一种 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳，其特征在于，由权利要求 1-4 任一项所述的 W/O/W 型不饱和古罗糖醛酸纳米乳制备方法制得。


HOOC
OH
O
OH
O
O
OH
O
OH
HOOC
n

n=1-7

图 1

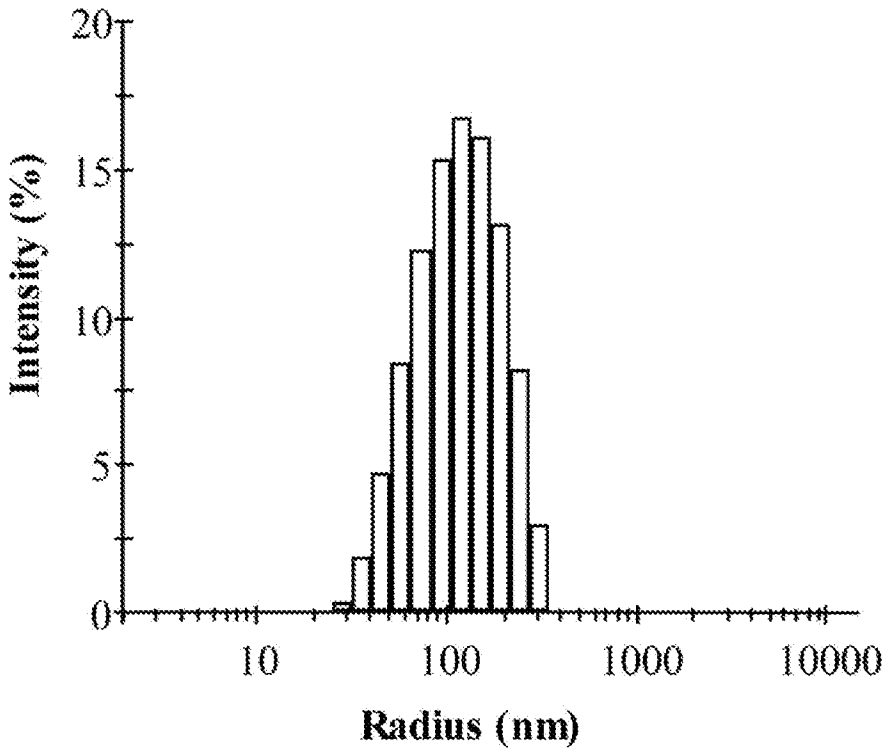

20
15
10
5
0
Intensity (%)
10
100
1000
10000
Radius (nm)

图 2

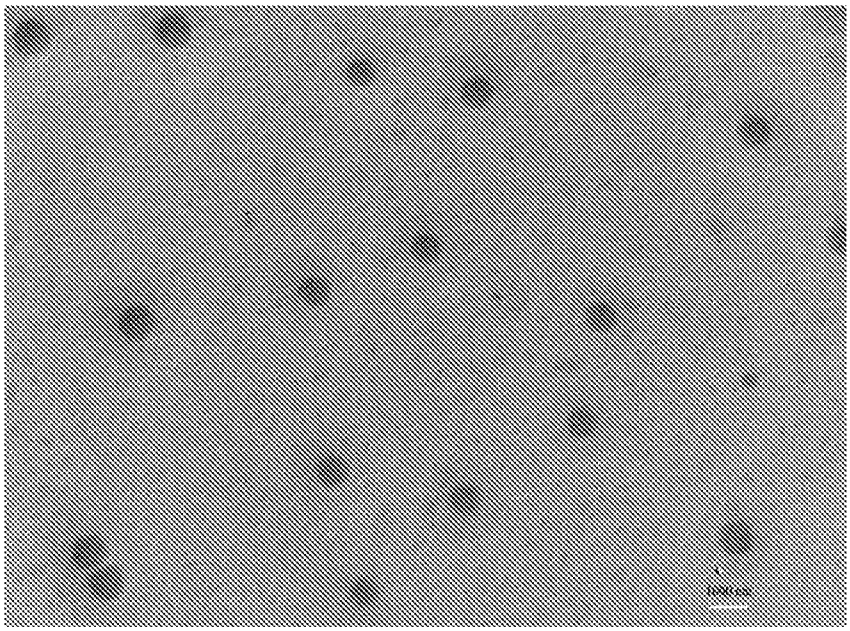


图 3

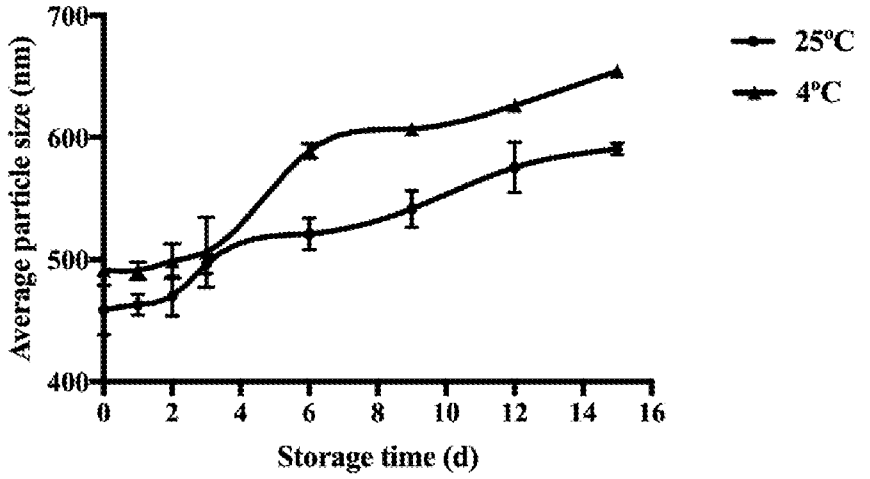

700
600
500
400
Average particle size (nm)
0
2
4
6
8
10
12
14
16
Storage time (d)
25°C
4°C

图 4

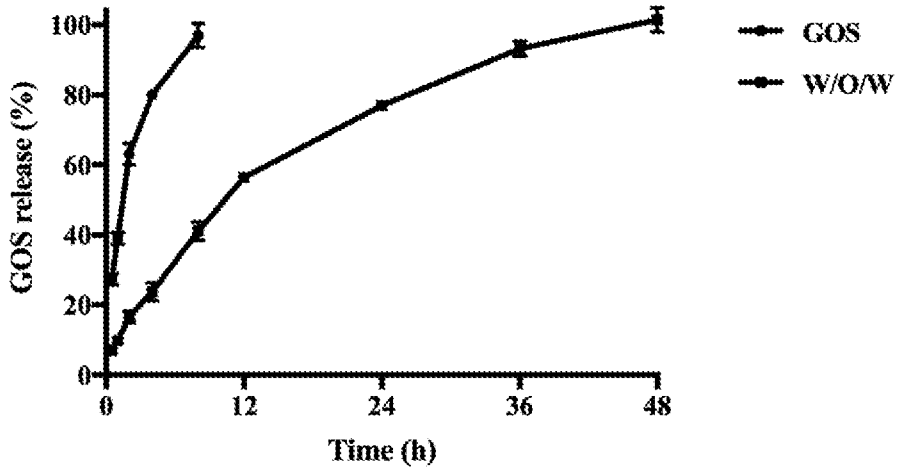

100
80
60
40
20
0
GOS release (%)
0
12
24
36
48
Time (h)
GOS
W/O/W

图 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2021/074740

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 9/107(2006.01)i; A61K 47/32(2006.01)i; A61K 47/44(2017.01)i; A61K 31/715(2006.01)i; A61P 29/00(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)

A61K; A61P

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)

DWPI; CNABS; TWABS; CNTXT; EPTXT; USTXT; WOTXT; CNKI; STNext: 纳米乳, 褐藻胶寡糖, 古罗糖醛酸, 水包油包水, 水相, 油相, 聚甘油蓖麻醇酯, 聚乙烯醇, 深圳大学, 续旭, 李梅婷, 毕德成, 姚丽君, 杨朋, 曹珏, 李文灏, 范晓琦, 陈嘉怡, nano emulsion, sodium alginate, guluronic acid, W/O/W, oil phase, aqueous phase, polyglycerol polyricinoleate, polyvinyl alcohol, SHENZHEN UNIVERSITY, XUXu, LIMeiting, BIDecheng, YAOLijun, YANGPeng, CAOJue, LIWenhao, FANXiaoqi, CHENJiayi.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 111658613 A (SHENZHEN UNIVERSITY) 15 September 2020 (2020-09-15) entire document	1-5
A	CN 111214441 A (SHENZHEN UNIVERSITY) 02 June 2020 (2020-06-02) entire document	1-5
A	CN 111297801 A (JIANGSU AGRI-ANIMAL HUSBANDRY VOCATIONAL COLLEGE) 19 June 2020 (2020-06-19) entire document	1-5
A	CN 106139162 A (SOUTH CHINA NORMAL UNIVERSITY) 23 November 2016 (2016-11-23) entire document	1-5
A	WO 2018130390 A1 (BLUME Gabriele) 19 July 2018 (2018-07-19) entire document	1-5

☑ 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
20 April 2021	**29 April 2021**

Name and mailing address of the ISA/CN	Authorized officer
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) **No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088** **China**	
Facsimile No. **(86-10)62019451**	Telephone No.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 105997870 A (NANJING AGRICULTURAL UNIVERSITY) 12 October 2016 (2016-10-12) entire document	1-5
A	EP 3639859 A1 (ICURE BNP Co. Ltd.) 22 April 2020 (2020-04-22) entire document	1-5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2021/074740

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 111658613 A	15 September 2020	CN 111658613 B	09 February 2021
CN 111214441 A	02 June 2020	None	
CN 111297801 A	19 June 2020	None	
CN 106139162 A	23 November 2016	CN 106139162 B	15 January 2019
WO 2018130390 A1	19 July 2018	EP 3568123 A1	20 November 2019
		DE 102017000368 A1	19 July 2018
CN 105997870 A	12 October 2016	CN 105997870 B	25 January 2019
EP 3639859 A1	22 April 2020	KR 101895237 B1	07 September 2018
		CN 110740755 A	31 January 2020
		JP 2020522580 A	30 July 2020
		WO 2018230788 A1	20 December 2018

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2021/074740

A. 主题的分类

A61K 9/107(2006.01)i; A61K 47/32(2006.01)i; A61K 47/44(2017.01)i; A61K 31/715(2006.01)i; A61P 29/00(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)

A61K; A61P

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）)

DWPI; CNABS; TWABS; CNTXT; EPTXT; USTXT; WOTXT; CNKI; STNe-xt: 纳米乳，褐藻胶寡糖，古罗糖醛酸，水包油包水，水相，油相，聚甘油蓖麻醇酯，聚乙烯醇，深圳大学，续旭，李梅婷，毕德成，姚丽君，杨朋，曹珏，李文灏，范晓琦，陈嘉怡，nano emulsion, sodium alginate, guluronic acid, W/O/W, oil phase, aqueous phase, polyglycerol polyricinoleate, polyvinyl alcohol, SHENZHEN UNIVERSITY, XUXu, LIMeiting, BIDecheng, YAOLijun, YANGPeng, CAOJue, LIWenhao, FANXiaoqi, CHENJiayi。

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	CN 111658613 A (深圳大学) 2020年 9月 15日 (2020-09-15) 全文	1-5
A	CN 111214441 A (深圳大学) 2020年 6月 2日 (2020-06-02) 全文	1-5
A	CN 111297801 A (江苏农牧科技职业学院) 2020年 6月 19日 (2020-06-19) 全文	1-5
A	CN 106139162 A (华南师范大学) 2016年 11月 23日 (2016-11-23) 全文	1-5
A	WO 2018130390 A1 (BLUME Gabriele) 2018年 7月 19日 (2018-07-19) 全文	1-5
A	CN 105997870 A (南京农业大学) 2016年 10月 12日 (2016-10-12) 全文	1-5

☑ 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 4月 20日	2021年 4月 29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 孔越 电话号码 86-(10)-53961866

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2021/074740

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
A	EP 3639859 A1 (ICURE BNP Co. Ltd.) 2020年 4月 22日 (2020-04-22) 全文	1-5

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2021/074740

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	111658613	A	2020年 9月 15日	CN	111658613	B	2021年 2月 9日
CN	111214441	A	2020年 6月 2日		无		
CN	111297801	A	2020年 6月 19日		无		
CN	106139162	A	2016年 11月 23日	CN	106139162	B	2019年 1月 15日
WO	2018130390	A1	2018年 7月 19日	EP	3568123	A1	2019年 11月 20日
				DE	102017000368	A1	2018年 7月 19日
CN	105997870	A	2016年 10月 12日	CN	105997870	B	2019年 1月 25日
EP	3639859	A1	2020年 4月 22日	KR	101895237	B1	2018年 9月 7日
				CN	110740755	A	2020年 1月 31日
				JP	2020522580	A	2020年 7月 30日
				WO	2018230788	A1	2018年 12月 20日