

(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
2016年12月8日 (08.12.2016)



(10) 国际公布号
WO 2016/192487 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 47/42 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61K 39/145 (2006.01) A61P 31/16 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2016/080226

(22) 国际申请日: 2016年4月26日 (26.04.2016)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201510296497.0 2015年6月2日 (02.06.2015) CN

(71) 申请人: 长春百克生物科技股份公司
(CHANGCHUN BCI BIOTECHNOLOGY CO.)
[CN/CN]; 中国吉林省长春市高新开发区火炬路
1260号, Jilin 130012 (CN)。

(72) 发明人: 申镇维 (SHEN, Zhenwei); 中国吉林省长春市
高新开发区火炬路 1260 号, Jilin 130012 (CN)。
陈晓辉 (CHEN, Xiaohui); 中国吉林省长春市高新
开发区火炬路 1260 号, Jilin 130012 (CN)。徐菲
(XU, Fei); 中国吉林省长春市高新开发区火炬路
1260 号, Jilin 130012 (CN)。孙瑶 (SUN, Yao); 中国
吉林省长春市高新开发区火炬路 1260 号, Jilin
130012 (CN)。程晓耕 (CHENG, Xiaogeng); 中国吉
林省长春市高新开发区火炬路 1260 号, Jilin 130012
(CN)。朱昌林 (ZHU, Changlin); 中国吉林省长春
市高新开发区火炬路 1260 号, Jilin 130012 (CN)。
姜春来 (JIANG, Chunlai); 中国吉林省长春市高新
开发区火炬路 1260 号, Jilin 130012 (CN)。孔维

(KONG, Wei); 中国吉林省长春市高新开发区火炬
路 1260 号, Jilin 130012 (CN)。

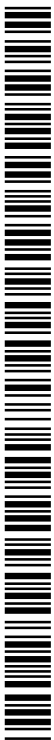
(74) 代理人: 北京北翔知识产权代理有限公司 (PEK-
SUNG INTELLECTUAL PROPERTY LTD.); 中国北
京市海淀区学院路 35 号世宁大厦 908 室, Beijing
100191 (CN)。

(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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB,
GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS,
JP, KE, KG, KN, KP, KR, 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, SM, ST,
SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, 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))。



WO 2016/192487 A1

(54) Title: NON-GELATIN VACCINE PROTECTANT COMPOSITION AND LIVE ATTENUATED INFLUENZA VACCINE

(54) 发明名称: 不含明胶的疫苗保护剂组合物及流感减毒活疫苗

(57) Abstract: Provided in the present invention is a composition serving as a protectant of a live attenuated influenza vaccine. The composition comprises the following components at the following concentrations: 1.0-15.0 g/L of human serum albumin, 15.0-95.0 g/L of sucrose and 0.5-15.0 g/L of sodium glutamate. The invention further provides a method for preparing the live attenuated influenza vaccine by using the composition of the present invention. The method comprises the following steps: sequentially dissolving respective components of the composition of the present invention in a pH buffer solution; adjusting a pH to a designated value; performing filtration and sterilization; and adding a virus stock solution to obtain the live attenuated influenza vaccine. The invention further provides a live attenuated influenza vaccine in the form of an injection or a nasal spray.

(57) 摘要: 本发明提供一种用作流感减毒活疫苗保护剂的组合物, 其中包含的组分及其浓度为: 人血清白蛋白 1.0~15.0g/L、蔗糖 15.0~95.0g/L、谷氨酸钠 0.5~15.0g/L。本发明还提供一种用本发明的组合物制备流感减毒活疫苗的方法, 其包括以下步骤: 将本发明的组合物的各个组分依次溶于 pH 缓冲液中; 将 pH 调节到指定值; 过滤除菌; 加入病毒原液, 即得所述流感减毒活疫苗。本发明还提供用作注射剂或鼻喷雾剂的流感减毒活疫苗。

不含明胶的疫苗保护剂组合物及流感减毒活疫苗

技术领域

5 本发明属于疫苗生产工艺技术领域，具体地，本发明涉及一种不含明胶的液体疫苗保护剂组合物，以及包含所述液体疫苗保护剂组合物的流感减毒活疫苗。

背景技术

10 流行性感胃是由流感病毒引起的一种严重危害人类健康的急性呼吸道感染疾病。流感病毒分为甲（A）、乙（B）、丙（C）三个型别，其中甲型流感病毒的抗原性经常出现变异，在历史上曾多次引起世界性大流行。甲型流感也在猪和禽类中传播，并引起流感流行，造成大量动物死亡。而人乙、丙型流感仅在人与人之间传播。乙型流感病毒对人类致病性较低。丙型流感病毒主要侵袭婴幼儿，一般不引起流感流行。据 WHO 估计，在爆发性流行时，流感病毒可在全世界
15 迅速传播，影响总人口的 10%~20%。即使在非爆发性流行的年份，流感每年也造成 300 万~500 万例严重病例和 25 万~50 万例死亡。

迄今为止，接种流感疫苗是防治流感的最有效的手段。疫苗接种不仅可以降低高危人群的发病率和死亡率，也可减轻症状，降低并发症的发生、降低继续传播的机率。

20 流感减毒活疫苗采用鼻粘膜途径进行免疫，具有模拟天然感染的优点。与灭活疫苗相比，流感减毒活疫苗除了能诱导体液免疫外，还能诱导产生局部中和抗体以及细胞免疫应答，并且免疫应答持续时间持久。另外流感减毒活疫苗使用方便，易于进行大规模免疫。

25 流感减毒活疫苗一般为冻干粉针剂型。虽然冷冻干燥技术已经成熟，但还存在一些缺点：首先，冻干粉针剂在使用过程中需要复溶，不便于使用并且增加了污染的机会；其次，生物制品的冷冻干燥工艺复杂、工艺过程耗时长、流感病毒滴度损失较大；第三，真空冷冻干燥设备投资大、能耗高、生产成本低，疫苗生产能力有限，尤其是在流感大爆发时，疫苗生产厂商很难在短时间内生产出足够剂量的疫苗。

30 2003 年，MedImmune 公司的流感减毒活疫苗 FluMist 获得了 FDA 的批准。该产品是一种冷适应三价病毒疫苗，为水针剂型。该产品需要在约 15℃ 及以下储藏、运输，但由于药房或学校通常都没有处理冷冻产品的设备，使得 FluMist

不能大范围使用。

2005年，MedImmune公司提交了名为“冷藏温度稳定的流感疫苗组合物”的专利（专利申请号PCT/US2005/035614），提供了一个可使流感疫苗在4~8℃保持稳定的、含有水解明胶组分的液体制剂组合物。然而，该组合物中的明胶或明胶衍生物可直接引起使被接种者过敏的变态反应和非细胞介导免疫反应。

因此，为克服冷冻干燥技术成本高和水解明胶组分易引起变态反应和免疫反应的缺点，需要开发出含明胶的疫苗液体制剂保护剂以及包含其的流感减毒活疫苗。

10 发明内容

发明人经过研究，发明了一种用作流感减毒活疫苗保护剂的组合物，该组合物中不含明胶成分，对人体的刺激性小，并且用该组合物制备的流感减毒活疫苗在冷藏条件下可保持较好的稳定性和较长有效期。

因此，本发明提供一种用作流感减毒活疫苗保护剂的组合物，其中包含的组分及其浓度为：人血清白蛋白 1.0~15.0 g/L，优选 1.5~12.0 g/L，更优选 2.5~10.0 g/L；蔗糖 15.0~95.0 g/L，优选 40.0~85.0 g/L，更优选 50.0~75.0 g/L；谷氨酸钠 0.5~15.0 g/L，优选 0.5~12.0 g/L，更优选 0.5~10.0 g/L；其中，所述组合物的pH为 5.0~9.0，优选为 pH 5.5~8.5，更优选为 pH 6.0~8.0，最优选为 pH 6.0~7.4。

本发明的组合物中还包括尿素，其浓度为 0~8.0 g/L，优选 0.5~6.0 g/L，更优选 1.0~4.0 g/L；精氨酸，其浓度为 0~10.0 g/L，优选 1.0~10.0 g/L，更优选 1.4~10.0 g/L；组氨酸，其浓度为 0~2.0 g/L，优选为 0.5~1.5 g/L；山梨醇，其浓度为 0~70.0 g/L，优选 15.0~60.0 g/L，更优选 25.0~50.0 g/L；甘氨酸，其浓度为 0~20.0 g/L，优选 3.0~15.0 g/L；甘露醇，其浓度为 0~30.0 g/L，优选 10.0~20.0 g/L。

此外，本发明还提供了本发明的组合物用于提高疫苗稳定性和安全性的用途以及用于制备流感减毒活疫苗的用途。

此外，本发明还提供一种流感减毒活疫苗的制备方法，其特征在于，使用本发明的组合物作为保护剂。

具体实施方式

因此，本发明提供一种用作流感减毒活疫苗保护剂的组合物，其中包含的组分及其浓度为：人血清白蛋白 1.0~15.0 g/L，优选 1.5~12.0 g/L，更优选 2.5~10.0 g/L；蔗糖 15.0~95.0 g/L，优选 40.0~85.0 g/L，更优选 50.0~75.0 g/L；谷氨酸钠

0.5~15.0 g/L, 优选 0.5~12.0 g/L, 更优选 0.5~10.0 g/L; 其中所述组合物的 pH 为 5.0~9.0, 优选为 pH 5.5~8.5, 更优选为 pH 6.0~8.0, 最优选为 pH 6.0~7.4。

本发明的组合物中还包括尿素, 其浓度为 0~8.0 g/L, 优选 0.5~6.0 g/L, 更优选 1.0~4.0 g/L; 精氨酸, 其浓度为 0~10.0 g/L, 优选 1.0~10.0 g/L, 更优选 1.4~10.0 g/L; 组氨酸, 其浓度为 0~2.0 g/L, 优选为 0.5~1.5 g/L; 山梨醇, 其浓度为 0~70.0 g/L, 优选 15.0~60.0 g/L, 更优选 25.0~50.0 g/L; 甘氨酸, 其浓度为 0~20.0 g/L, 优选 3.0~15.0 g/L; 甘露醇, 其浓度为 0~30.0 g/L, 优选 10.0~20.0 g/L。

本发明还提供了本发明的组合物用于制备流感减毒活疫苗的用途。

本发明还提供一种流感减毒活疫苗的制备方法, 其特征在于, 使用本发明的组合物作为保护剂。

在一个优选实施方案中, 本发明的流感减毒活疫苗的制备方法包括以下步骤: 将本发明的组合物的各个组分依次溶于 pH 缓冲液中; 将 pH 调节到指定值; 过滤除菌; 加入病毒原液, 即得流感减毒活疫苗。

在一个优选实施方案中, 根据本发明的方法制备的液体流感减毒活疫苗的 pH 为 5.0~9.0, 优选为 pH 5.5~8.5, 更优选为 pH 6.0~8.0, 最优选为 pH 6.0~7.4。

在一个优选实施方案中, 使用磷酸盐缓冲液作为 pH 缓冲液。

本发明还提供一种使用本发明的组合物和/或根据本发明的方法制备的流感减毒活疫苗。

在一个优选实施方案中, 本发明的流感减毒活疫苗为注射剂或鼻喷雾剂。

以下通过实施例对本发明进行进一步说明。

实施例 1:

1. pH 的测定

pH 的测定根据《中华人民共和国药典(2010年版)》(三部)附录 V A 进行。

2. 病毒滴度的测定

细胞系:

MDCK 细胞: 犬肾上皮传代细胞系 (Madin~Daby canine kidney cells), 购自 ATCC。

病毒毒株:

H1N1 型流感病毒毒株: A/17/California/2009/38(H1N1), 由 WHO 提供;

H3N2 型流感病毒毒株：A/17/Perth/09/87(H3N2)，由 WHO 提供；

B 型流感病毒毒株：B/56/Brisbane/60/08，由 WHO 提供。

试剂：

TPCK-Trypsin（购自 Sigma，货号：T1426）溶液；

5 DMEM 细胞培养液（购自 Sigma，货号：D6546）；

胎牛血清（购自 Hyclone，货号：SH30070.03）；

L-谷氨酰胺（购自 Gibco，货号：25030）溶液；

青链霉素（购自 Gibco，货号：15140）；

HEPES（购自吉诺生物，货号：GNM11344）溶液；

10 一抗：Anti-Influenza A Virus Nucleoprotein antibody，购自 Abcam，货号：
[AA5H] ab20343；

Anti-Influenza B Virus Nucleoprotein antibody，购自 Abcam，货号：[B017]
ab20711；

15 二抗：Alexa Fluor[®] 488 Goat Anti-Mouse IgG (H+L) Antibody，购自
Lifetechnologies，货号：A-11001；

标准抗体：

抗 A1 标准抗体：Influenza Anti-A/California/7/2009 (H1N1) - HA serum，购
自 NIBSC，货号：12/108；

20 抗 A3 标准抗体：Influenza Anti-A/Perth/16/2009-Like HA Serum，购自
NIBSC，货号：11/206；

抗 B 标准抗体：Influenza Anti-B/Brisbane/60/2008 HA serum，购自 NIBSC，
货号：11/136。

方法：

（1）样品处理

25 取供试品 3 瓶混合在一起，作为待检样品。

将灭活后的标准抗体分为 3 组，分别为：

G1：抗 A3 标准抗体 1 份+抗 B 标准抗体 1 份+ PBS 3 份；

G2：抗 A1 标准抗体 1 份+抗 B 标准抗体 1 份+ PBS 3 份；以及

G3：抗 A1 标准抗体 1 份+抗 A3 标准抗体 1 份+ PBS 3 份。

30 将 3 组抗体 G1、G2、G3 分别与待检样品按 1:1 比例混合，在 32℃ 水浴静
置 30 分钟，作为病毒样品待用。

（2）滴度检测

将生长状态良好的 MDCK 细胞铺于 96 孔板中培养，待细胞铺满 96 孔板后使用。弃去板中细胞生长液，加入 DMEM 洗板，待用；将病毒样品 10 倍系列稀释至合适浓度，接种于 96 孔板中，放入 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱中孵育，孵育 17~20 h 后取出。用约 20℃ 的 80% (v/v) 丙酮固定细胞；用 0.5% TPBS 5 洗涤两次；之后加入一抗，与细胞在 37℃、5%CO₂ 培养箱中孵育 1 h，取出后用 PBS 洗板；加入二抗，与细胞在 37℃、5%CO₂ 培养箱中再孵育 1 h，取出后用 PBS 洗板，用荧光显微镜观察荧光灶。

计算病毒滴度：在 100× 镜下观察，病毒滴度 (lg FFU/0.2ml) = 2.8 × 10 × 病毒稀释度 × 该浓度各平行孔中荧光灶平均数。

10 除非另外特别说明，以下实施例中使用的物质或材料、仪器的来源和规格均与实施例 1 相同。

实施例 2

根据下列处方配制本发明的疫苗：

15 分别称取 5.0 g 蔗糖、0.5 g 谷氨酸钠、1.5 ml 人血清白蛋白(质量分数 20%)，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 A1 号疫苗。

20 分别称取 5.0 g 蔗糖、0.5 g 谷氨酸钠、1.5 ml 人血清白蛋白、0.2 g 精氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 A2 号疫苗。

25 分别称取 5.0 g 蔗糖、0.5 g 谷氨酸钠、1.5 ml 人血清白蛋白、0.3 g 甘氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 A3 号疫苗。

30 分别称取 5.0 g 蔗糖、0.5 g 谷氨酸钠、1.5 ml 人血清白蛋白、0.2 g 组氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 A4 号疫苗。

分别称取 5.0 g 蔗糖、0.5 g 谷氨酸钠、1.5 ml 人血清白蛋白、1.0 g 山梨醇，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并

使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 A5 号疫苗。

分别称取 5.0 g 蔗糖、0.5 g 谷氨酸钠、1.5 ml 人血清白蛋白、1.0 g 甘露醇，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并

5 使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 A6 号疫苗。

分别称取 5.0 g 蔗糖、0.5 g 谷氨酸钠、1.5 ml 人血清白蛋白、0.5 g 尿素，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并

10 使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 A7 号疫苗。

将 A1~A7 号疫苗保存于 25℃，分别在第 0、14、21、28 天取样，检查样品外观，并根据实施例 1 的方法测定其 pH 和病毒滴度。

表 1: A1~A7 号疫苗在 25℃ 放置的稳定性结果

样品编号	检验项目		放置时间 (天)			
			0	14	21	28
A1	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.56	6.12	5.68	4.58
		H3N2	7.33	5.67	5.40	4.50
		B	7.26	5.42	5.08	4.20
A2	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.45	6.22	5.36	4.46
		H3N2	7.53	6.00	5.58	4.67
		B	7.3	5.63	5.11	4.32
A3	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.52	5.83	5.28	4.72
		H3N2	7.55	5.71	5.25	4.46
		B	7.16	5.64	5.00	4.21
A4	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色

			色	色	色	色
	滴度	H1N1	7.48	4.12	2.20	0
		H3N2	7.25	3.83	2.00	0
		B	7.24	3.56	2.22	0
A5	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.35	6.04	4.98	4.67
		H3N2	7.58	5.92	5.37	4.58
		B	7.27	5.64	4.92	4.53
A6	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.61	5.42	5.36	4.69
		H3N2	7.50	5.76	5.53	4.63
		B	7.23	5.72	5.23	4.33
A7	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.38	5.53	5.47	4.79
		H3N2	7.42	5.67	5.62	4.67
		B	7.31	6.04	5.16	4.27

实施例 3

根据下列处方配制本发明的疫苗：

5 分别称取 2.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、1.5 ml 人血清白蛋白、0.2 g 精氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 B1 号疫苗；

10 分别称取 2.5 g 蔗糖、0.5 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 B2 号疫苗；

分别称取 2.5 g 蔗糖、1.0 g 谷氨酸钠、5.0 ml 人血清白蛋白、1.0 g 精氨酸，

用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 B3 号疫苗；

5 分别称取 5.0 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、1.0 g 精氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 B4 号疫苗；

10 分别称取 5.0 g 蔗糖、0.5 g 谷氨酸钠、5.0 ml 人血清白蛋白、0.2 g 精氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 B5 号疫苗；

15 分别称取 5.0 g 蔗糖、1.0 g 谷氨酸钠、1.5 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 B6 号疫苗；

分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、5.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 B7 号疫苗；

20 分别称取 7.5 g 蔗糖、0.5 g 谷氨酸钠、1.5 ml 人血清白蛋白、1.0 g 精氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 B8 号疫苗；

25 分别称 7.5 g 蔗糖、1.0 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.2 g 精氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.2，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 B9 号疫苗。

将 B1~B9 号疫苗保存于 25℃，分别在第 0、14、21、28 天取样，检查样品外观，并根据实施例 1 的方法测定其 pH 和病毒滴度。

30 表 2: B1~B9 号疫苗在 25℃ 放置的稳定性结果

样品编号	检验项目	放置时间 (天)			
		0	14	21	28

B1	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.38	6.06	5.66	3.67
		H3N2	7.42	6.36	5.67	4.08
		B	7.26	6.00	5.46	3.72
B2	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.34	6.24	5.60	4.01
		H3N2	7.58	6.20	5.50	3.90
		B	7.17	6.15	5.60	4.10
B3	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.42	5.98	5.56	3.55
		H3N2	7.33	5.94	5.09	3.50
		B	7.33	5.88	5.39	3.53
B4	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.35	6.39	5.55	4.10
		H3N2	7.25	6.29	5.58	3.92
		B	7.13	6.13	5.47	3.74
B5	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.29	6.14	5.53	3.69
		H3N2	7.34	6.12	5.36	3.82
		B	7.30	6.13	5.50	3.86
B6	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.21	6.16	5.52	3.80
		H3N2	7.11	5.98	5.22	3.75
		B	7.27	5.92	5.43	3.56
B7	外观		微乳白	微乳白	微乳白	微乳白

			色	色	色	色
	滴度	H1N1	7.53	6.19	5.51	3.83
		H3N2	7.42	6.20	5.47	3.90
		B	7.35	6.20	5.63	4.24
B8	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.49	6.02	5.49	3.62
		H3N2	7.21	6.15	5.41	3.83
		B	7.29	5.82	5.35	3.49
B9	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.27	6.32	5.46	4.19
		H3N2	7.12	6.41	5.75	4.10
		B	7.36	6.17	5.67	4.13

实施例 4

根据下列处方配制本发明的疫苗：

5 分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 6.8，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 C1 号疫苗。

10 分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸、2.5 g 山梨醇、1.0 g 甘露醇、0.4 g 尿素，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 6.8，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 C2 号疫苗。

15 分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸、5.0g 山梨醇、2.0 g 甘露醇、0.8 g 尿素，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 6.8，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 C3 号疫苗。

分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸、1.0 g 甘露醇、0.8 g 尿素，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1

N HCl 将 pH 调到 7.3, 并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌, 加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml, 配制成 C4 号疫苗。

5 分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白, 0.5 g 精氨酸、2.5 g 山梨醇、2.0 g 甘露醇, 用适量磷酸盐缓冲液溶解后, 再定容至 70 ml, 用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.3, 并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌, 加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml, 配制成 C5 号疫苗。

10 分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白, 0.5 g 精氨酸、5.0 g 山梨醇、0.4 g 尿素, 用适量磷酸盐缓冲液溶解后, 再定容至 70 ml, 用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.3, 并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌, 加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml, 配制成 C6 号疫苗。

分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白, 0.5 g 精氨酸、2.0 g 甘露醇、0.4 g 尿素, 用适量磷酸盐缓冲液溶解后, 再定容至 70 ml, 用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.8, 并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌, 加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml, 配制成 C7 号疫苗。

15 分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白, 0.5 g 精氨酸、2.5 g 山梨醇、0.8 g 尿素, 用适量磷酸盐缓冲液溶解后, 再定容至 70 ml, 用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.8, 并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌, 加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml, 配制成 C8 号疫苗。

20 分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白, 0.5 g 精氨酸、5.0 g 山梨醇、1.0 g 甘露醇, 用适量磷酸盐缓冲液溶解后, 再定容至 70 ml, 用 0.1 N HCl 将 pH 调到 7.8, 并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌, 加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml, 配制成 C9 号疫苗。

将 C1~C9 号疫苗保存于 25℃, 分别在第 0、14、21、28 天取样, 检查样品外观, 并根据实施例 1 的方法测定其 pH 和病毒滴度。

25 表 3: C1~C9 号疫苗在 25℃ 放置的稳定性结果

样品编号	检验项目	放置时间 (天)				
		0	14	21	28	
C1	外观	微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色	
	滴度	H1N1	7.49	7.03	6.15	5.82
		H3N2	7.03	6.83	6.12	5.67
		B	7.29	6.22	5.83	5.22

C2	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.63	7.12	6.37	6.34
		H3N2	7.5	6.91	6.26	6.08
		B	7.32	6.93	6.48	6.15
C3	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.27	6.96	6.15	5.76
		H3N2	7.42	6.75	5.92	5.58
		B	7.22	6.55	5.64	5.37
C4	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.45	6.92	5.73	5.62
		H3N2	7.25	6.23	5.58	5.50
		B	7.33	6.87	5.83	5.57
C5	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.30	6.82	5.66	5.54
		H3N2	7.17	6.72	5.67	5.57
		B	7.29	6.76	6.00	5.39
C6	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.13	6.88	5.65	5.54
		H3N2	7.00	6.01	5.55	5.42
		B	7.16	6.36	5.77	5.25
C7	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.44	5.5	4.16	3.55
		H3N2	7.42	5.53	2.92	2.51
		B	7.31	5.67	3.98	3.3
C8	外观		微乳白	微乳白	微乳白	微乳白

			色	色	色	色
	滴度	H1N1	7.28	5.45	3.49	2.79
		H3N2	7.36	5.42	4.08	3.52
		B	7.28	5.56	2.75	2.45
C9	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.37	5.86	4.75	3.63
		H3N2	7.08	5.75	4.33	3.59
		B	7.32	5.73	4.05	3.34

实施例 5

分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸、1.0 g 甘露醇、2.5 g 山梨醇、0.1 g 尿素、0.3 g 甘氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 6.0，并使用 0.22 μ m 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 D1 号疫苗；

分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸、1.0 g 甘露醇、3.5 g 山梨醇、0.2 g 尿素、0.9 g 甘氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 6.0，并使用 0.22 μ m 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 D2 号疫苗；

分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸、1.0 g 甘露醇、5.0 g 山梨醇、0.4 g 尿素、1.5 g 甘氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 6.0，并使用 0.22 μ m 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 D3 号疫苗；

分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸、1.0 g 甘露醇、2.5 g 山梨醇、0.2 g 尿素、1.5 g 甘氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 6.3，并使用 0.22 μ m 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 D4 号疫苗；

5 分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸、1.0 g 甘露醇、3.5 g 山梨醇、0.4 g 尿素、0.3 g 甘氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 6.3，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 D5 号疫苗；

10 分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸、1.0 g 甘露醇、5.0 g 山梨醇、0.1 g 尿素、0.9 g 甘氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 6.3，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10ml，配制成 D6 号疫苗；

15 分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸、1.0 g 甘露醇、2.5 g 山梨醇、0.4 g 尿素、0.9 g 甘氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 6.7，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10ml，配制成 D7 号疫苗；

20 分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸、1.0 g 甘露醇、3.5 g 山梨醇、0.1 g 尿素、1.5 g 甘氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 6.7，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10 ml，配制成 D8 号疫苗；

25 分别称取 7.5 g 蔗糖、0.1 g 谷氨酸钠、3.0 ml 人血清白蛋白、0.5 g 精氨酸、1.0 g 甘露醇、5.0 g 山梨醇、0.2 g 尿素、0.3 g 甘氨酸，用适量磷酸盐缓冲液溶解后，再定容至 70 ml，用 0.1 N HCl 将 pH 调到 6.7，并使用 0.22 μm 滤器过滤除菌，加入 H1N1 型、H3N2 型及 B 型流感病毒原液各 10ml，配制成 D9 号疫苗。

将 D1~D9 号疫苗保存于 25℃，分别在第 0、14、21、28 天取样，检查样品外观，并根据实施例 1 的方法测定其 pH 和病毒滴度。

表 4: D1~D9 号疫苗在 25℃ 放置的稳定性结果

样品编号	检验项目	放置时间 (天)			
		0	14	21	28
D1	外观	微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色

		H1N1	7.26	7.20	7.09	6.96
	滴度	H3N2	7.35	7.26	7.18	7.01
		B	7.35	7.19	7.04	6.88
D2	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.29	7.27	7.16	6.90
		H3N2	7.32	7.29	7.17	7.04
		B	7.36	7.35	7.24	7.11
D3	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.18	7.16	7.05	6.95
		H3N2	7.48	7.3	7.11	7.02
		B	7.30	7.21	7.01	6.92
D4	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.30	7.24	7.08	6.92
		H3N2	7.54	7.42	7.31	6.97
		B	7.28	7.17	7.09	6.84
D5	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.35	7.33	7.28	6.94
		H3N2	7.38	7.32	7.3	6.89
		B	7.32	7.20	7.04	6.86
D6	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.32	7.26	7.15	6.88
		H3N2	7.45	7.31	7.26	6.96
		B	7.26	7.15	7.04	6.89
D7	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.36	7.22	7.06	6.97

		H3N2	7.28	7.13	7.05	6.61
		B	7.22	7.08	6.95	6.53
D8	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.27	7.24	7.04	6.86
		H3N2	7.35	7.22	7.16	6.81
		B	7.26	7.12	6.95	6.76
D9	外观		微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.33	7.23	6.98	6.65
		H3N2	7.39	7.28	7.12	7.00
		B	7.34	7.21	7.09	6.93

将 D1~D9 号疫苗保存于 33℃，分别在第 0 天和第 10 天取样，检查样品外观，并根据实施例 1 的方法测定其 pH 和病毒滴度。

表 5: D1~D9 号疫苗在 33℃放置的稳定性结果

样品编号	检验项目		放置时间 (天)	
			0	10
D1	外观		微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.26	6.62
		H3N2	7.35	6.64
		B	7.35	6.47
D2	外观		微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.29	6.44
		H3N2	7.32	6.73
		B	7.36	6.72
D3	外观		微乳白色	微乳白色
	滴度	H1N1	7.18	6.56

		H3N2	7.48	6.62
		B	7.30	6.58
D4	外观		微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.30	6.34
		H3N2	7.54	6.49
		B	7.28	6.28
D5	外观		微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.35	6.55
		H3N2	7.38	6.31
		B	7.32	6.43
D6	外观		微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.32	6.40
		H3N2	7.45	6.46
		B	7.26	6.33
D7	外观		微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.36	6.66
		H3N2	7.28	6.24
		B	7.22	6.25
D8	外观		微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.27	6.38
		H3N2	7.35	6.26
		B	7.26	6.25
D9	外观		微乳白 色	微乳白 色
	滴度	H1N1	7.33	6.08
		H3N2	7.39	6.60

		B	7.34	6.58
--	--	----------	------	------

将 D1~D9 号疫苗保存于 2~8℃，分别在第 0、1、3、6 个月末时，检查样品外观，并根据实施例 1 的方法测定其 pH 和病毒滴度。

表 6: D1~D9 号疫苗在 2~8℃放置的稳定性结果

样品编号	检验项目	放置时间 (月)				
		0	1	3	6	
D1	外观	微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色	
	pH	6.5	6.5	6.5	6.5	
	滴度	H1N1	7.26	7.21	7.17	6.96
		H3N2	7.35	7.30	7.25	7.10
B		7.35	7.28	7.16	6.85	
D2	外观	微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色	
	pH	6.5	6.5	6.5	6.5	
	滴度	H1N1	7.29	7.19	7.10	6.94
		H3N2	7.32	7.28	7.23	7.02
B		7.36	7.3	7.13	6.88	
D3	外观	微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色	
	pH	6.5	6.5	6.5	6.5	
	滴度	H1N1	7.24	7.20	7.12	6.89
		H3N2	7.48	7.38	7.32	7.06
B		7.34	7.30	7.22	6.80	
D4	外观	微乳白色	微乳白色	微乳白色	微乳白色	
	pH	6.7	6.7	6.7	6.7	
	滴度	H1N1	7.32	7.28	7.18	7.00
		H3N2	7.54	7.34	7.26	6.94
B		7.28	7.26	7.08	6.74	

D5	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	pH		6.7	6.7	6.7	6.7
	滴度	H1N1	7.37	7.24	7.16	6.92
		H3N2	7.38	7.33	7.24	6.98
B		7.32	7.25	7.15	6.71	
D6	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	pH		6.7	6.7	6.7	6.7
	滴度	H1N1	7.37	7.22	7.15	6.98
		H3N2	7.45	7.36	7.19	7.00
B		7.26	7.28	7.22	6.86	
D7	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	pH		6.9	6.9	6.9	6.9
	滴度	H1N1	7.31	7.15	7.08	6.93
		H3N2	7.28	7.13	7.05	6.74
B		7.22	7.2	7.09	6.80	
D8	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	pH		6.9	6.9	6.9	6.9
	滴度	H1N1	7.41	7.17	7.09	6.90
		H3N2	7.35	7.32	7.10	6.82
B		7.26	7.23	6.94	6.77	
D9	外观		微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色	微乳白 色
	pH		6.9	6.9	6.9	6.9
	滴度	H1N1	7.33	7.26	7.14	6.92
		H3N2	7.39	7.29	7.22	7.03
B		7.34	7.27	7.05	6.72	

显然，根据本发明的上述内容，按照本领域的普通技术知识和惯用手段，在不脱离本发明上述基本技术思想前提下，还可以进行其它多种形式的修改、替换或变更。本领域人员能够理解，本申请所描述的本发明技术方案的各个特征均可根据需要进行适当的组合。

权 利 要 求 书

1. 一种用作流感减毒活疫苗保护剂的组合物,其中包含的组分及其浓度为:
人血清白蛋白 1.0~15.0 g/L, 优选 1.5~12.0 g/L, 更优选 2.5~10.0 g/L; 蔗糖
5 15.0~95.0 g/L, 优选 40.0~85.0 g/L, 更优选 50.0~75.0 g/L; 谷氨酸钠 0.5~15.0 g/L,
优选 0.5~12.0 g/L, 更优选 0.5~10.0 g/L; 其中, 所述组合物的 pH 为 5.0~9.0,
优选为 pH 5.5~8.5, 更优选为 pH 6.0~8.0, 最优选为 pH 6.0~7.4。

2. 根据权利要求 1 所述的组合物, 其中还包括尿素, 其浓度为 0~8.0 g/L,
优选 0.5~6.0 g/L, 更优选 1.0~4.0 g/L; 精氨酸, 其浓度为 0~10.0 g/L, 优选 1.0~10.0
10 g/L, 更优选 1.4~10.0 g/L; 组氨酸, 其浓度为 0~2.0 g/L, 优选为 0.5~1.5 g/L;
山梨醇, 其浓度为 0~70.0 g/L, 优选 15.0~60.0 g/L, 更优选 25.0~50.0 g/L; 甘氨酸,
其浓度为 0~20.0 g/L, 优选 3.0~15.0 g/L; 甘露醇, 其浓度为 0~30.0 g/L,
优选 10.0~20.0 g/L。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的组合物用于制备流感减毒活疫苗的用途。

4. 一种流感减毒活疫苗的制备方法, 其特征在于, 在配制过程中采用权利
15 要求 1 或 2 所述的组合物作为保护剂。

5. 根据权利要求 4 所述的方法, 其包括以下步骤:

- 1) 将权利要求 1 或 2 的组合物的各个组分依次溶于 pH 缓冲液中;
- 2) 将 pH 调节到指定 pH 值;
- 20 3) 过滤除菌;
- 4) 加入病毒原液, 即得流感减毒活疫苗。

6. 根据权利要求 5 所述的方法, 其中使用磷酸盐缓冲液作为 pH 缓冲液。

7. 根据权利要求 5 或 6 所述的方法, 其中所述指定 pH 值为 5.0~9.0, 优选
为 pH 5.5~8.5, 更优选为 pH 6.0~8.0, 最优选为 pH 6.0~7.4。

8. 一种流感减毒活疫苗, 其特征在于, 包含权利要求 1 或 2 的组合物。

9. 根据权利要求 8 所述的流感减毒活疫苗, 其特征在于, 其 pH 为 5.0~9.0,
优选为 pH 5.5~8.5, 更优选为 pH 6.0~8.0, 最优选为 pH 6.0~7.4。

10. 根据权利要求 8 或 9 所述的流感减毒活疫苗, 其可用作注射剂或鼻喷雾
剂。

30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2016/080226

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 47/42 (2006.01) i; A61K 39/145 (2006.01) i; A61K 9/00 (2006.01) i; A61P 31/16 (2006.01) i; A61P 31/16 (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, G01N

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)

CNMED; CPRSABS; CNABS, CNKI, WPI, EPODOC, Embase: albumin, sucrose, glutamic

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CN 101537186 A (CHANGCHUN BCHT BIOTECHNOLOGY CO.), 23 September 2009 (23.09.2009), description, page 2, lines 6-17	1-10
Y	CN 103472235 A (BIOLOGY INSTITUTE OF HEBEI ACADEMY OF SCIENCES), 25 December 2013 (25.12.2013), claim 1	1-10

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>“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)</p> <p>“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” document member of the same patent family</p>
---	---

Date of the actual completion of the international search
21 June 2016 (21.06.2016)

Date of mailing of the international search report
29 June 2016 (29.06.2016)

Name and mailing address of the ISA/CN:
State Intellectual Property Office of the P. R. China
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao
Haidian District, Beijing 100088, China
Facsimile No.: (86-10) 62019451

Authorized officer
LEI, Yaolong
Telephone No.: (86-10) **62412194**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2016/080226

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 101537186 A	23 September 2009	WO 2010124428 A1	04 November 2010
		CN 101537186 B	06 April 2011
CN 103472235 A	25 December 2013	None	

<p>A. 主题的分类</p> <p>A61K 47/42(2006.01)i; A61K 39/145(2006.01)i; A61K 9/00(2006.01)i; A61P 31/16(2006.01)i; A61P 31/16(2006.01)i</p> <p>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</p>											
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>A61K, A61P, G01N</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>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))</p> <p>CNMED; CPRSABS; CNABS, CNKI, WPI, EPODOC, Embase, 白蛋白, 蔗糖, 谷氨酸, albumin, sucrose, glutamic</p>											
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>CN 101537186 A (长春百克生物科技有限公司) 2009年 9月 23日 (2009 - 09 - 23) 说明书第2页第6-17行</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>CN 103472235 A (河北省科学院生物研究所) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 权利要求1</td> <td>1-10</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	Y	CN 101537186 A (长春百克生物科技有限公司) 2009年 9月 23日 (2009 - 09 - 23) 说明书第2页第6-17行	1-10	Y	CN 103472235 A (河北省科学院生物研究所) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 权利要求1	1-10
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求									
Y	CN 101537186 A (长春百克生物科技有限公司) 2009年 9月 23日 (2009 - 09 - 23) 说明书第2页第6-17行	1-10									
Y	CN 103472235 A (河北省科学院生物研究所) 2013年 12月 25日 (2013 - 12 - 25) 权利要求1	1-10									
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>											
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“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)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“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</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>											
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p>2016年 6月 21日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p>2016年 6月 29日</p>									
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p> <p>传真号 (86-10)62019451</p>		<p>受权官员</p> <p>雷耀龙</p> <p>电话号码 (86-10)62412194</p>									

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号 PCT/CN2016/080226

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	101537186	A	2009年 9月 23日	WO	2010124428	A1	2010年 11月 4日
				CN	101537186	B	2011年 4月 6日

CN	103472235	A	2013年 12月 25日	无			
