(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
2025 年 6 月 5 日 (05.06.2025)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2025/112290 A1

(51) 国际专利分类号:
A61K 39/39 (2006.01) *A61P 31/20* (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01) *A61P 31/22* (2006.01)
A61K 39/12 (2006.01) *A61P 31/14* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2024/091914

(22) 国际申请日: 2024 年 5 月 9 日 (09.05.2024)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202311637774.0 2023年12月1日 (01.12.2023) CN

(71) 申请人:大连理工大学(**DALIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY**) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市高新园区凌工路2号 116024 (CN)。

(72) 发明人:孙冰冰(**SUN, Bingbing**); 中国辽宁省大连市高新园区凌工路2号 116024 (CN)。 李敏(**LI, Min**); 中国辽宁省大连市高新园区凌工路2号 116024 (CN)。 王慧洋(**WANG, Huiyang**); 中国辽宁省大连市高新园区凌工路2号 116024 (CN)。 薛长颖(**XUE, Changying**); 中国辽宁省大连市高新园区凌工路2号 116024 (CN)。

(74) 代理人:大连东方专利代理有限责任公司(**DALIAN EAST PATENT AGENT LTD**); 中国辽宁省大连市西岗区黄河路263号608室 116011 (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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, 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, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, 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, ME, 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))。

(54) **Title:** PREPARATION AND USE OF ALUMINUM HYDROXIDE OXIDE NANO-ADJUVANT BASED ON CALCIUM OR SILICON DOPING

(54) 发明名称: 一种基于钙或硅元素掺杂的羟基氧化铝纳米佐剂的制备及其应用

(57) **Abstract:** A preparation method for and the use of an aluminum hydroxide oxide nano-adjuvant based on calcium and silicon doping. The particle morphology of the AlOOH adjuvant is a 50-800 nm nano-particle, wherein silicon or calcium is doped in AlOOH crystal lattices, and the molar ratio of calcium or silicon to aluminum is 0.01-100:1. The preparation method comprises: synthesizing AlOOH by using an Al source, doping Ca or Si in a reaction solution by using a calcium source or a silicon source, precipitating Al(OH)3 and a dopant by adding an alkaline solution, and preparing a Ca- or Si-doped AlOOH adjuvant by means of a hydrothermal synthesis method. In a hepatitis B surface antigen and varicella-zoster virus glycoprotein E antigen model, the calcium- or silicon-doped AlOOH nano-adjuvant can simultaneously induce efficient humoral immunity and cellular immunity by means of in-vivo experiment verification of mice.

(57) 摘要: 一种基于钙、硅元素掺杂的羟基氧化铝纳米佐剂的制备方法及应用。该AlOOH佐剂颗粒形貌为50-800nm的纳米颗粒，其中，硅、钙元素掺杂在AlOOH晶格中，且钙元素或硅元素与铝元素摩尔比为0.01-100：1。利用Al源合成AlOOH，在反应液中同时使用钙源或硅源进行Ca或Si元素的掺杂，通过加入碱性溶液使Al(OH)3及掺杂物进行沉淀，利用水热合成法制备Ca或Si掺杂的AlOOH佐剂。在乙肝表面抗原和水痘-带状疱疹病毒糖蛋白E抗原模型中，钙或硅元素掺杂的AlOOH纳米佐剂经小鼠体内实验验证可以同时诱导高效的体液免疫和细胞免疫。

WO 2025/112290 A1

说 明 书

一种基于钙或硅元素掺杂的羟基氧化铝纳米佐剂的制备及其应用

技术领域

本发明涉及一种基于钙、硅元素掺杂的 AlOOH 纳米佐剂的制备及其应用，具体而言是将钙、硅元素分别掺杂到 AlOOH 纳米佐剂中的方法，其可以用于疫苗的开发，用于各种传染病的预防和治疗。

背景技术

传染性疾病一直是人类生命健康安全的重大威胁之一，每年有大量病例因传染性疾病死亡。例如，据世界卫生组织（WHO）报道，2019 年有 2.96 亿人感染慢性乙型肝炎，估计导致 82 万人死亡，其中大多数死于肝硬化和肝细胞癌（原发性肝癌），每年有 150 万新感染病例。

疫苗作为预防传染性疾病最重要的武器，它的发展经历了几个阶段。1798 年英国医生琴纳研发全球最早的牛痘疫苗，开启了疫苗的应用历史。直到 20 世纪中后期，疫苗的发展进入了黄金时代。作为疫苗中的一种重要组成成分，佐剂在增强抗原的免疫应答方面发挥着极其重要的作用。佐剂的发展经历了由天然成分到人工合成的工程疫苗佐剂两个阶段，其中 1926 年铝盐的佐剂效应的发现具有划时代的意义。至今为止，美国 FDA 批准使用的疫苗当中，有六类佐剂，包括铝盐佐剂，MF59，AS03，AS04，CpG ODN 和 AS01B。其中铝盐在佐剂疫苗的使用极其重要。铝盐佐剂被广泛应用于破伤风、白喉、百日咳、脊髓灰质炎、甲肝、乙肝疫苗等。

然而，单纯的铝盐佐剂一般只能增强体液免疫水平，而不能提高宿主的细胞免疫水平，不能够提供平衡的免疫应答。此外，为改善抗原与佐剂的相互作用通常会在疫苗配方中加入赋性剂，而这一过程又会增加疫苗生产的复杂性。因此，从疫苗佐剂本身出发，设计一种能够工艺简单、配方简单、能够引发强大且平衡的免疫应答的传染性疫苗在传染性疾病预防和治疗方面具有重大意义。

发明内容

为解决现有技术的问题，本发明的目的在于提供了一种能够引发平衡免疫应答的基于钙、硅元素掺杂的羟基氧化铝（AlOOH）纳米佐剂的制备及应用，其以 AlOOH 佐剂合成方法为基础，在制备过程中掺杂钙、硅元素。所制备的 AlOOH 佐剂具有良

好的、平衡的免疫应答，可以诱导更平衡的体液、细胞免疫反应，以更好的设计预防或治疗性疫苗，能够为铝佐剂疫苗设计提供新的平台。

一种基于钙、硅元素掺杂的 AlOOH 纳米佐剂，包括钙、硅元素掺杂和 AlOOH 佐剂，钙或硅原子存在于 AlOOH 晶格中，佐剂主体为 AlOOH 纳米颗粒。利用 Al 源合成 AlOOH，在反应液中同时使用钙源或硅源进行 Ca 或 Si 元素的掺杂，通过加入碱性溶液使 $Al(OH)_3$ 及掺杂物进行沉淀，利用水热合成法制备 Ca 或 Si 掺杂的 AlOOH 佐剂。

进一步地，所述 Al 源为硝酸铝、氯化铝、乙氧基铝等各种无机或有机铝盐，铝元素在反应液中的存在形式为铝离子，铝离子在反应体系中的浓度为 0.01-10 mol/L，优选浓度为 0.01-2 mol/L。

进一步地，所述钙源为氯化钙，硝酸钙，柠檬酸三钙等无机或有机可溶性钙盐，钙元素与铝元素摩尔比为：0.01-100：1，优选为 0.01-40：1；钙元素在反应液中的存在形式为钙离子，浓度为 0.01-10 mol/L，钙元素优选浓度为 0.01-2 mol/L。

进一步地，所述硅源为四乙氧基硅烷等有机硅烷，硅酸或硅酸钠、硅酸钾等可溶性硅酸盐，硅元素与铝元素摩尔比为：0.01-100：1，优选为 0.01-40：1；硅元素在反应液中的存在形式为含硅元素的离子或有机物，硅元素在反应液中的浓度为 0.01-10mol/L，优选浓度为 0.01-2 mol/L。

进一步地，所述碱性溶液为 NaOH，KOH，氨水等水溶液或各种碱性缓冲液，碱性溶液浓度为 0.01-10mol/L，优选为 0.01-2mol/L。

进一步地，所述钙或硅元素掺杂的 AlOOH 纳米佐剂为纳米颗粒，纳米颗粒的形貌 20 nm-1000 nm（优选为 50-800 nm）的纳米颗粒。

上述基于钙或硅元素掺杂的 AlOOH 纳米佐剂的制备方法，所述制备方法包括以下步骤：

①对于钙元素掺杂的羟基氧化铝的合成：在温度为 20-60℃下，向含有钙源的铝源溶液滴加碱性溶液至 pH 为 4-13，全程搅拌，得到分散体系（反应液）；

对于硅元素掺杂的羟基氧化铝的合成：在温度为 20-60℃下，向铝源溶液滴加含有硅源的碱性溶液后，滴加碱性溶液至 pH 为 4-13，全程搅拌，得到分散体系（反应液）；

②将步骤①的分散体系加入至反应釜中，用水热合成法制备得到反应产物，温度为 50-300℃，优选为 90-250℃，水热时间 2-48h，优选为 4-36h；

③离心步骤②的反应产物，除去上清液，用超纯水离心洗涤后保存或烘干保存。

进一步地，步骤①中，含有硅源的碱性溶液中硅源的浓度为 0.01-10 mol/L，优选为 0.02-5mol/L；所述的含有硅源的碱性溶液的制备方法为：将硅源加入到碱性溶液中，得到含有硅源的碱性溶液。

进一步地，步骤①中，搅拌的速率为 300-1500 rpm，优选为 300-900rpm，搅拌时间为 3 min-3 h。

进一步地，步骤③中，所述洗涤时离心机转速为 8000-15000rpm，优选为 11000rpm；时间为 10-30min，优选为 25min。

本发明还提供上述基于钙或硅元素掺杂的 AlOOH 纳米佐剂在各种预防性和治疗性佐剂疫苗中的应用。

进一步地，所述疫苗佐剂为钙或硅元素掺杂的 AlOOH 纳米佐剂，相应配苗抗原包括但不限于乙肝表面抗原、乙肝核心抗原、人乳头瘤病毒样颗粒、新型冠状病毒刺突蛋白受体结合域、人乳头瘤病毒抗原、水痘带状疱疹病毒重组糖蛋白等。基于以上抗原构建相应的乙肝病毒疫苗、人乳头瘤病毒疫苗、新冠病毒疫苗、带状疱疹病毒疫苗等等。

本发明有益效果为：

本发明中的基于钙或硅元素掺杂的 AlOOH 纳米佐剂经小鼠体内实验验证可以同时诱导高效的体液免疫和细胞免疫。

本发明所述的可以同时诱导高效的体液免疫和细胞免疫的 AlOOH 的制备方法简单，易操作，重复性好，反应条件温和，最终得到分散均匀、粒径均一的疫苗纳米颗粒，在传染病病毒预防和治疗上具有良好的应用前景。

附图说明

本发明附图 9 幅，

图 1 为不同浓度钙、硅元素掺杂的 AlOOH 佐剂（Si/Ca-AlOOH-1/2/3/4）的透射电镜图。其中：标尺为 200nm。

图 2 为不同浓度钙、硅元素掺杂的 AlOOH 佐剂（Si/Ca-AlOOH-1/2/3/4）的 X 射线衍射（XRD）图。

图 3 为不同浓度钙、硅元素掺杂的 AlOOH 佐剂（Si/Ca-AlOOH-1/4）X 射线光电

子能谱（XPS）。

图 4 为不同浓度钙、硅元素掺杂的 AlOOH 佐剂（Si/Ca-AlOOH-1/4）的不同部位元素含量结果对比。使用电感耦合等离子体原子发射光谱仪（ICP）测定体相掺杂元素含量（橙色），使用 XPS 测定表面元素含量（绿色），结果表明硅、钙在 AlOOH 中均匀掺杂。

图 5 为不同浓度钙（A）、硅（B）元素掺杂的 AlOOH 佐剂（Si/Ca-AlOOH-1/2/3/4）的体外免疫评估。

图 6 为不同浓度钙、硅元素掺杂的 AlOOH 佐剂（Si/Ca-AlOOH-1/4）诱导 BMDC 细胞表面 CD86（A）和 MHC II（B）表达及 IL-1β（C）、IL-6（D）、IL-12（E）和 TNF-α（F）细胞因子的释放结果。

图 7 为以 6-8 周 C57BL/6 小鼠为模型检测 Si/Ca-AlOOH-1/4 疫苗诱导的乙肝抗体水平；乙肝抗原免疫策略具体为第 0 天肌内注射含 2 μg 乙肝表面抗原的 Si/Ca-AlOOH-1/4，第 21 天再次注射等量 Si/Ca-AlOOH-1/4，第 42 天取血清和脾脏检测体液免疫和细胞免疫水平。图 7A、图 7B 为血清中特异性抗体水平，分别为总 IgG 和 IgG_1 水平。其中，HBsAg 为单纯的乙肝表面抗原，Alum 为 HBsAg 与商业化的羟基氧化铝佐剂的混合物，所有佐剂的注射量为：铝、钙、硅元素总质量为 50 μg。图 7C-图 7I 分别为 $CD4^+$ T 细胞表面 CD69 的表达（C）、$CD8^+$ T 细胞表面 CD69 的表达（D）、$CD8^+$ T 细胞表面 FasL 的表达（E）、$CD4^+$ T 细胞表面 $CD44^{high}CD62^{low}$ 的表达（F）、$CD8^+$ T 细胞表面 $CD44^{high}CD62^{low}$ 的表达（G）、B 细胞表面 CD69 的表达（H）和 B 细胞表面 CD27 的表达（I）情况。

图 8 为小鼠主要器官的免疫病理分析。

图 9A-图 9C 为以雌性 C57BL/6 小鼠(8 周，n = 6)在第 0、21 天通过肌肉注射接种掺杂 AlOOH 与水痘-带状疱疹病毒糖蛋白 E 抗原（VZV gE）混合物后，第 42 天检测 gE 特异性血清总 IgG（A），（B）IgG_1（B）和 IgG_{2c} 滴度（C）。图 9 D 为功能 T 细胞和 B 细胞激活的雷达图表示。图 9 E-图 9F 为用 gE (2 μg/mL)重新刺激免疫小鼠脾细胞 120 h，用流式细胞术分析 $CD69^+/CD4^+$、$CD69^+/CD8^+$、$FasL^+/CD8^+$、$CD44^{high}CD62^{low}/CD4^+$、$CD44^{high}CD62L^{low}/CD8^+$、$CD69^+/CD19^+$和 $CD27^+/CD19^+$的细胞活化谱，其中图 9E 为 $CD4^+$ T 细胞中 Th1 型(TNF-α、IFN-γ、IL-2)和 Th2 型(IL-4)细胞因子产生的雷达图表示，图 9F 为 $CD8^+$ T 细胞中 Th1 型(TNF-α、IFN-γ、IL-2)和 Th2

型(IL-4)细胞因子产生的雷达图表示。图 9 G、图 9H 为用 gE (2 μg/mL)重新刺激免疫小鼠的脾细胞 24 小时，采用酶联免疫斑点法(ELISPOT)检测 gE 特异性的 IFN-γ（G）和（H）IL-2 产生斑点形成细胞的数量（H）。图 9 I、图 9J 为用 gE (2 μg/mL)重新刺激免疫小鼠脾细胞 5 天后脾细胞分泌 IL-4（I）和 IFN-γ（J）的水平。

具体实施方式

下述非限制性实施例可以使本领域的普通技术人员更全面地理解本发明，但不以任何方式限制本发明。

实施例 1

一种钙元素掺杂的 AlOOH 纳米佐剂的制备方法，所述方法包括如下步骤：

①配制 1.6 mol/L $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ 溶液，0.8 mol/L 无水 $CaCl_2$ 溶液，1 mol/L NaOH 溶液。

②将上述溶液混合稀释得到不同比例、每种 25mL 的钙掺杂铝溶液：将 1.6 mol/L $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ 溶液和 0.8 mol/L 无水 $CaCl_2$ 溶液以不同的体积进行混合、稀释，制备成钙、铝元素摩尔比（Ca/Al）为：0、0.05、0.1、0.15 和 0.2 的混合溶液，其中铝离子浓度为 0.5 mol/L，制备的钙元素掺杂的 AlOOH 纳米佐剂（Ca-AlOOH-1/2/3/4）产物分别记作 AlOOH，Ca-AlOOH-1（钙、铝元素摩尔比为 0.05）、Ca-AlOOH-2（钙、铝元素摩尔比为 0.1）、Ca-AlOOH-3（钙、铝元素摩尔比为 0.15）、Ca-AlOOH-4（钙、铝元素摩尔比为 0.2）。

③向步骤②中混合溶液滴加 NaOH 溶液至 pH= 7，全程 600 rpm 搅拌，反应温度 25 ℃，得到分散体系；

④将步骤③的分散体系加入至反应釜中，用水热法水热制备，温度为 120 ℃，水热时间为 4 h，得到反应产物；

⑤离心步骤④的反应产物，除去上清液，用超纯水离心洗涤后保存或烘干保存，洗涤时离心机转速为 11000rpm，时间为 25min。

实施例 2

一种硅元素掺杂的 AlOOH 纳米佐剂的制备方法，所述方法包括如下步骤：

①配制 1.6 mol/L $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ 溶液，1 mol/L NaOH 溶液；取正硅酸乙酯 TEOS，加入到 1 mol/LNaOH 溶液中，得到含有 0.5 mol/L TEOS 的 NaOH 溶液。

②稀释铝溶液：将 $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ 溶液稀释至 25mL，浓度为 0.5 mol/L。

③向步骤②中稀释的铝溶液滴加不同体积的含有 TEOS 的 NaOH 溶液（原硅酸钠溶液），再滴加 NaOH 溶液至 pH= 7，全程 600rpm 搅拌，反应温度为 25 ℃；根据含有 TEOS 的 NaOH 溶液的加入量不同，制备成硅、铝元素摩尔比（Si/Al）为：0、0.05、0.1、0.15 和 0.2 的溶液，制备的硅元素掺杂的 AlOOH 纳米佐剂（Si-AlOOH-1/2/3/4）产物分别记作 AlOOH，Si-AlOOH-1（硅、铝元素摩尔比为 0.05）、、Si-AlOOH-2（硅、铝元素摩尔比为 0.1）、Si-AlOOH-3（硅、铝元素摩尔比为 0.15）、Si-AlOOH-4（硅、铝元素摩尔比为 0.2）。

④后续水热、洗涤等后续过程与实施例 1 中钙掺杂相同。

实施例 3

一种实施例 1 和 2 所制备的钙、硅元素掺杂的 AlOOH 纳米佐剂物化特性的检测：

AlOOH、Si-AlOOH-1/2/3/4 和 Ca-AlOOH-1/2/3/4 分别在水和 pH=7.4，10mMKNO_3 中的水合粒径（Hydrodynamic size）、Zeta 电位（Zeta potential）见表 1。

表 1

Sample ID	Water			10 mM KNO_3 pH=7.4		
	Hydrodynamic size (nm)	PDI	Zeta potential (mV)	Hydrodynamic size (nm)	PDI	Zeta potential (mV)
AlOOH	164 ± 8	0.28	30 ± 1	226 ± 25	0.20	33 ± 2
Si-AlOOH-1	145 ± 12	0.30	27 ± 3	131 ± 3	0.58	34 ± 2
Si-AlOOH-2	88 ± 2	0.27	23 ± 1	87 ± 4	0.35	23 ± 1
Si-AlOOH-3	101 ± 5	0.24	18 ± 1	94 ± 1	0.38	20 ± 1
Si-AlOOH-4	102 ± 1	0.17	11 ± 1	164 ± 1	0.19	12 ± 1
Ca-AlOOH-1	177 ± 2	0.12	29 ± 2	167 ± 18	0.38	22 ± 3
Ca-AlOOH-2	186 ± 4	0.18	33 ± 1	2432 ± 61	0.15	17 ± 1
Ca-AlOOH-3	152 ± 3	0.17	27 ± 1	3072 ± 256	0.27	14 ± 1
Ca-AlOOH-4	166 ± 4	0.15	30 ± 2	2965 ± 223	0.32	13 ± 1

通过透射电镜（TEM）检测实施例 1、2 中的产物的形貌（如图 1 所示），结果表明，随着硅铝比的增加，材料的形态由棒状向叶状转变。随着钙铝比的增加，其形貌由棒状变为颗粒状。

XRD 分析（如图 2 所示）表明，随着 Si 和 Ca 元素的增加，掺杂的 AlOOH 的 XRD 谱没有出现除 AlOOH 外的杂峰，说明 Si 和 Ca 均匀分布在 AlOOH 结构中。

XPS 分析（如图 3 所示）进一步证明了硅和钙的成功掺杂。用 XPS 和 ICP（如图 4 所示）对硅和钙元素进行了定量，结果表明材料表面和体相中元素的掺杂量相似，表明 AlOOH 颗粒中均匀掺杂硅、铝。

实施例 4

采用 MTS 法测定不同浓度（分别为 0、100、200、300、400 和 500μg/mL）的纳米材料处理后骨髓来源树突状细胞（BMDCs）的细胞活力。实验结果(如图 5 所示)表明佐剂具有良好的生物相容性。分析了 BMDC 细胞激活和细胞因子的产生(如图 6 所示)。结果表明随着硅含量的增加，掺杂的佐剂诱导了更高的 IL-12 和 IL-6 的产生，这表明掺杂硅诱导了 Th1 和 Th2 型细胞因子的释放。随着钙含量的增加，掺杂佐剂诱导 IL-12 升高，IL-6 细胞因子不变，提示掺杂钙诱导 Th1 型细胞因子释放增强，而非 Th2 型细胞因子释放增强。

实施例 5

以 6-8 周 C57BL/6 小鼠为动物模型，检测实施例 1 和 2 中制备的 Si-AlOOH-1/2/3/4 和 Ca-AlOOH-1/2/3/4 诱导体液免疫和细胞免疫水平，所述方法包括如下步骤：第 0 天小鼠肌内注射 50 μL 疫苗，其中有乙肝表面抗原（HBV）2 μg，铝、硅和钙总和为 50 μg，疫苗分散在生理盐水体系中。第 21 天再次注射等量上述疫苗，第 42 天取血清和脾脏，检测血清中的总 IgG、IgG_1 水平以及脾细胞成熟分化情况。其中，加入对照组：生理盐水组（每只小鼠注射 50 μL 生理盐水），HBV 组（每只小鼠只注射 2 μg 的乙肝表面抗原），HBV+Alum 组（每只小鼠注射含 2 μg HBV 与含 50 μg 铝元素的商业化的羟基氧化铝佐剂（Alhydrogel® adjuvant 2%，InvivoGen）的混合物，简写为 Alum 组），每组实验小鼠数量为 6 只。

血清中的总 IgG 和 IgG_1 如图 7 A-图 7B 所示。

脾细胞成熟分化情况如图 7 C-图 7I 所示。

如图 7 所示，实施例 5 的表征结果表明，抗体滴度实验结果表明掺杂的铝佐剂能够产生更高的 IgG、IgG_1 抗体滴度，证明掺杂的 AlOOH 能产生更高的体液免疫水平。脾细胞成熟分化结果表明，掺杂的铝佐剂能够促进 $CD4^+$、$CD8^+$细胞活化及 CTL 细胞杀伤介质高表达。

此外，主要器官的免疫病理分析(如图 8 所示)表明掺杂的铝佐剂具有良好的生物

安全性，具有很强的应用潜力。

实施例 6

雌性 C57BL/6 小鼠(8 周，n = 6)在第 0、21 天通过肌肉注射接种掺杂 AlOOH 与水痘-带状疱疹病毒糖蛋白 E 抗原（VZV gE）混合物。每剂含有 5 μggE 和 50 μg 当量 Al (实施例 1 制备的 Si-AlOOH-4 或实施例 2 制备的 Ca-AlOOH-4)或 100 μg 当量 Al (实施例 1 制备的 Si-AlOOH-4，记作 Si-AlOOH-4-H，或实施例 2 制备的 Ca-AlOOH-4，记作 Ca-AlOOH-4-H)。以 gE (5 μg)为对照。第 42 天检测 gE 特异性血清。

血清中 gE 特异性总 IgG, IgG_1 和 IgG_{2c} 滴度如图 9 A-图 9C 所示。结果表明，掺杂硅和钙的 AlOOH 纳米佐剂均可诱导佐剂剂量依赖性的 gE 特异性抗体反应的增加。

脾细胞成熟分化情况如图 9D 所示。与 gE 组相比，Si 掺杂可诱导更高的 $CD69^+/CD4^+$、$CD69^+/CD8^+$、$FasL^+/CD8^+$、$CD62L^{low}CD44^{high}/CD4^+$、$CD69^+/CD19^+$和 $CD27^+/CD19^+$细胞百分比，并且随着佐剂含量的增加，$FasL^+/CD8^+$和 $CD27^+/CD19^+$细胞进一步增加。结果表明，Si-AlOOH-4 诱导了 CTL 细胞和记忆 B 细胞激活的剂量依赖性增强，以及其他功能性 T 和 B 细胞的非剂量依赖性的激活。与 gE 组相比，Ca 掺杂诱导的 $CD69^+/CD4^+$、$CD69^+/CD8^+$、$FasL^+/CD8^+$、$CD62L^{low}CD44^{high}/CD4^+$、$CD62L^{low}CD44^{high}/CD8^+$、$CD69^+/CD19^+$、$CD27^+/CD19^+$细胞比例较高，且随着佐剂含量的增加，$CD69^+/CD4^+$、$CD69^+/CD8^+$、$FasL^+/CD8^+$、$CD69^+/CD19^+$细胞比例进一步升高。这提示了 Ca-AlOOH-4 诱导 $CD4^+$ T 细胞、$CD8^+$ T 细胞、CTL 细胞和 B 细胞的激活增强呈剂量依赖性，而记忆 T 和 B 细胞的激活呈非剂量依赖性。

用 gE (2 μg/mL)重新刺激免疫小鼠脾细胞 120 h，用流式细胞术分析 $CD69^+/CD4^+$、$CD69^+/CD8^+$、$FasL^+/CD8^+$、$CD44^{high}CD62^{low}/CD4^+$、$CD44^{high}CD62L^{low}/CD8^+$、$CD69^+/CD19^+$和 $CD27^+/CD19^+$的细胞活化谱。

$CD4^+$ T 细胞内 Th1 型(TNF-α， IFN-γ， IL-2)和 Th2 型(IL-4)细胞因子产生如图 9 E 所示。细胞内细胞因子分析显示，与 gE 组相比，Si-AlOOH-4 和 Si-AlOOH-4-H 诱导 $CD4^+$ T 细胞内 IL-4、IFN-γ、IL-2 和 TNF-α 的比例更高，表明 Si 掺杂 AlOOH 纳米佐剂诱导 $CD4^+$ T 细胞产生 Th2 和 Th1 型细胞因子，其与佐剂剂量无关。与 gE 组相比，Ca-AlOOH-4 诱导 $CD4^+$ T 细胞内 IFN-γ 和 TNF-α 的比例更高;与 Ca-AlOOH-4 组相比，

Ca-AlOOH-4-H 诱导 $CD4^+$ T 细胞内 IL-4 和 IL-2 的比例更高。结果表明，Ca-AlOOH-4 具有诱导 $CD4^+$ T 细胞内产生 Th2 和 Th1 型细胞因子的潜力，其水平由佐剂剂量决定。

$CD8^+$ T 细胞内 Th1 型(TNF-α、IFN-γ、IL-2)和 Th2 型(IL-4)细胞因子产生如图 9 F 所示。Si-AlOOH-4 增强 $CD8^+$ T 细胞中细胞内 IFN-γ、IL-2 和 TNF-α 的产生。与 Si-AlOOH-4 相比，Si-AlOOH-4-H 诱导 $CD8^+$ T 细胞中 IFN-γ 增加。Ca-AlOOH-4 纳米佐剂诱导细胞内含 IFN-γ 和 TNF-α 的 $CD8^+$ T 细胞的比例增加，Ca-AlOOH-4-H 诱导胞内含 IL-4 的 $CD8^+$ T 细胞的比例增加。这些结果表明，$CD8^+$ T 细胞内 Th2 和 Th1 型细胞因子的产生是由 Ca-AlOOH-4 纳米佐剂的剂量决定的。

在 VZV gE 抗原(2 μg/mL)体外重新刺激激免疫小鼠的脾细胞 24 小时后，通过 IFN-γ 和 IL-2 酶联免疫斑点（ELISPOT）实验检测 gE 特异性 T 细胞反应如图 9 G-图 9H 所示。结果表明，与 gE 组相比，高剂量的 Ca-AlOOH-4 组具有更多的 IFN-γ 和 IL-2 斑点形成细胞，说明 Ca 元素的掺杂可促进 IFN-γ 和 IL-2 产生细胞的剂量依赖性增加。然而，无论佐剂的剂量高低，Si-AlOOH-4 并没有引起细胞因子释放量的显著增加，说明 Si- AlOOH-4 纳米佐剂诱导的 T 细胞反应并不显著。

用 gE (2 μg/mL)重新刺激免疫小鼠脾细胞 5 天后从脾细胞中分泌到细胞外的 IL-4 和 IFN-γ 的水平如图 9I-图 9J 所示。结果表明，与 gE 组相比，Si-AlOOH-4 诱导 IL-4 和 IFN-γ 分泌量增加至 6.0 倍和 1.7 倍，而随着 Si-AlOOH-4 剂量的增加，IL-4 和 IFN-γ 分泌减少至 2.1 倍和 1.0 倍。与 gE 组比较，Ca-AlOOH-4 和 Ca-AlOOH-4-H 诱导的 IL-4 分泌增加至 11.6 倍和 7.1 倍，其增加幅度随 Ca-AlOOH-4 剂量的增加而降低。此外，Ca-AlOOH-4 和 Ca-AlOOH-4-H 诱导 IFN-γ 分泌量增加至 3.3 倍和 7.6 倍，说明 Ca-AlOOH-4 诱导的 IFN-γ 释放量增加具有佐剂剂量依赖性。

在乙肝表面抗原和水痘-带状疱疹病毒糖蛋白 E 抗原模型中，本发明钙或硅元素掺杂的 AlOOH 纳米佐剂经小鼠体内实验验证可以同时诱导高效的体液免疫和细胞免疫。

权 利 要 求 书

1、一种基于钙或硅元素掺杂的羟基氧化铝纳米佐剂，其特征在于：利用 Al 源合成羟基氧化铝，在反应液中使用钙源或硅源进行 Ca 或 Si 元素的掺杂，通过加入碱性溶液使 $Al(OH)_3$ 及掺杂物进行沉淀，利用水热合成法制备 Ca 或 Si 掺杂的羟基氧化铝佐剂。

2、根据权利要求 1 所述的一种基于钙或硅元素掺杂的羟基氧化铝纳米佐剂，其特征在于：所述钙源为无机或有机可溶性钙盐，所述无机或有机可溶性钙盐包括但不限于氯化钙，硝酸钙或柠檬酸三钙，钙元素与铝元素的摩尔比为 0.01-100：1，钙元素在反应液中的浓度为 0.01-100 mol/L。

3、根据权利要求 1 所述的一种基于钙或硅元素掺杂的羟基氧化铝纳米佐剂，其特征在于：所述硅源为有机硅烷、硅酸或可溶性硅酸盐，所述有机硅烷包括四乙氧基硅烷，所述可溶性硅酸盐包括硅酸钠或硅酸钾，硅元素与铝元素的摩尔比为 0.01-100：1。

4、根据权利要求 1 所述的一种基于钙或硅元素掺杂的羟基氧化铝纳米佐剂，其特征在于：所述碱性溶液包括 NaOH，KOH 或氨水的水溶液或缓冲液，浓度为 0.01-10mol/L。

5、根据权利要求 1 所述的一种基于钙或硅元素掺杂的羟基氧化铝纳米佐剂，其特征在于：所述 Al 源为无机或有机铝盐，所述无机或有机铝盐包括硝酸铝、氯化铝或乙氧基铝，铝元素在反应液中的浓度为 0.01-10 mol/L。

6、根据权利要求 1 所述的一种基于钙或硅元素掺杂的羟基氧化铝纳米佐剂，其特征在于：所述钙或硅元素掺杂的 AlOOH 纳米佐剂为 20 nm-1000 nm 的纳米颗粒。

7、权利要求 1-6 中任意一项所述的一种基于钙或硅元素掺杂的羟基氧化铝纳米佐剂的制备方法，其特征在于：包括如下步骤：

①在温度为 20-60 ℃下，向含有钙源的铝源溶液滴加碱性溶液至 pH 为 4-13，或向铝源溶液滴加含有硅源的碱性溶液后，滴加碱性溶液至 pH 为 4-13，全程搅拌，得到分散体系；

②将步骤①的分散体系水热合成制备羟基氧化铝佐剂；水热温度为 50-300 ℃，水热时间为 2-48h，得到反应产物；

③离心步骤②的反应产物，除去上清液，用超纯水离心洗涤后保存或烘干后保存。

8、根据权利要求 7 所述的制备方法，其特征在于，步骤①中，含有硅源的碱性溶液中硅源的浓度为 0.01-10 mol/L；搅拌的速率为 300-1500 rpm，搅拌时间为 3 min-3 h；

步骤③中，所述洗涤时离心机转速为 8000-15000rpm，时间为 10-30min。

9、权利要求 1-8 中任意一项所述的一种基于钙或硅元素掺杂的羟基氧化铝纳米佐剂在预防性和治疗性佐剂疫苗中的应用。

10、根据权利要求 9 所述的应用，其特征在于，所述疫苗包括乙肝病毒疫苗、人乳头瘤病毒疫苗、新冠病毒疫苗、带状疱疹病毒疫苗。

说 明 书 附 图

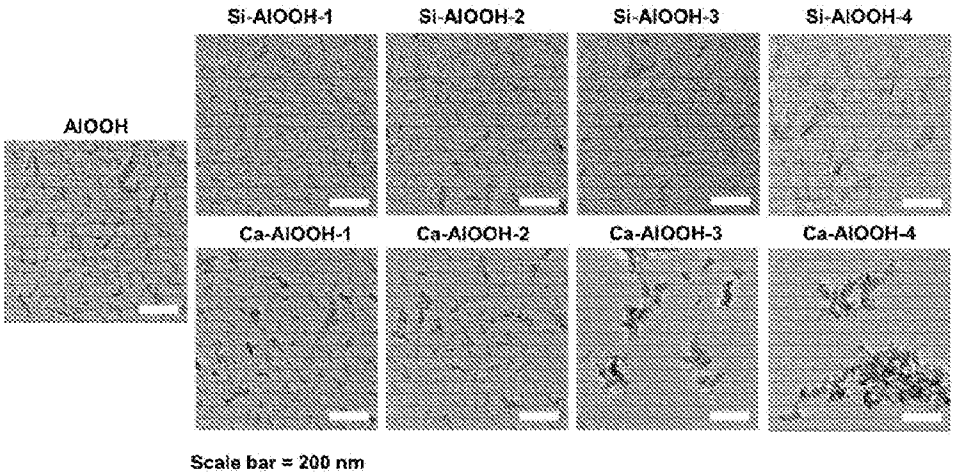

Si-AlOOH-1
Si-AlOOH-2
Si-AlOOH-3
Si-AlOOH-4
AlOOH
Ca-AlOOH-1
Ca-AlOOH-2
Ca-AlOOH-3
Ca-AlOOH-4
Scale bar = 200 nm

图 1

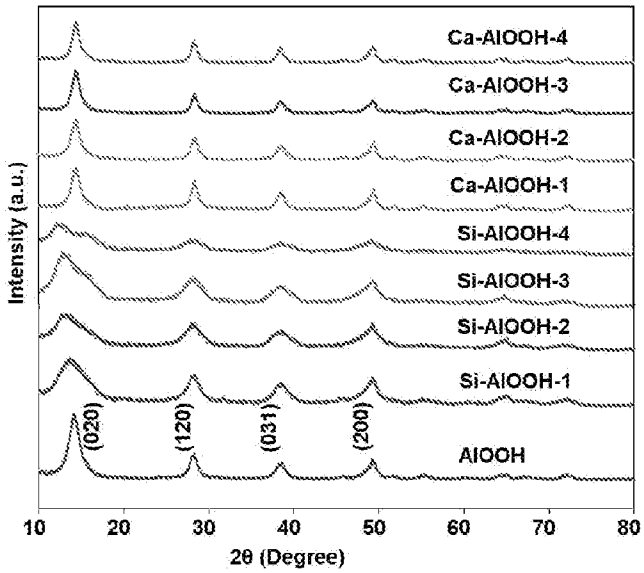

Ca-AlOOH-4
Ca-AlOOH-3
Ca-AlOOH-2
Ca-AlOOH-1
Si-AlOOH-4
Si-AlOOH-3
Si-AlOOH-2
Si-AlOOH-1
AlOOH
(020)
(120)
(031)
(200)
Intensity (a.u.)
10
20
30
40
50
60
70
80
2θ (Degree)

图 2

说 明 书 附 图

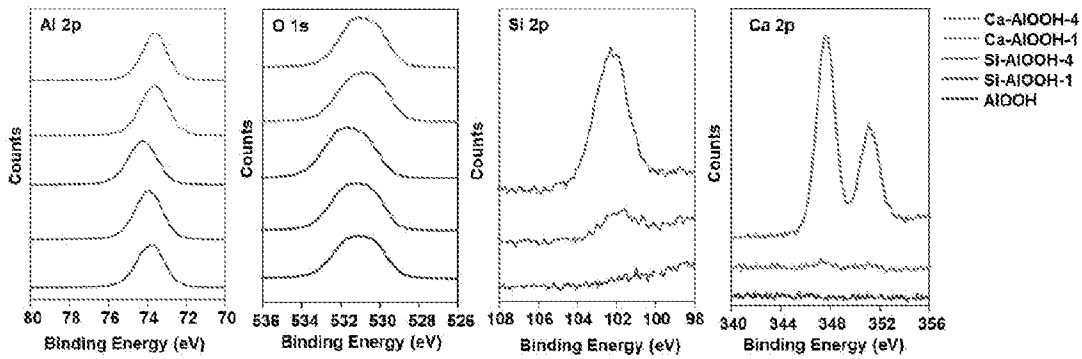

Al 2p
O 1s
Si 2p
Ca 2p
Counts
Binding Energy (eV)
Ca-AlOOH-4
Ca-AlOOH-1
Si-AlOOH-4
Si-AlOOH-1
AlOOH

图 3

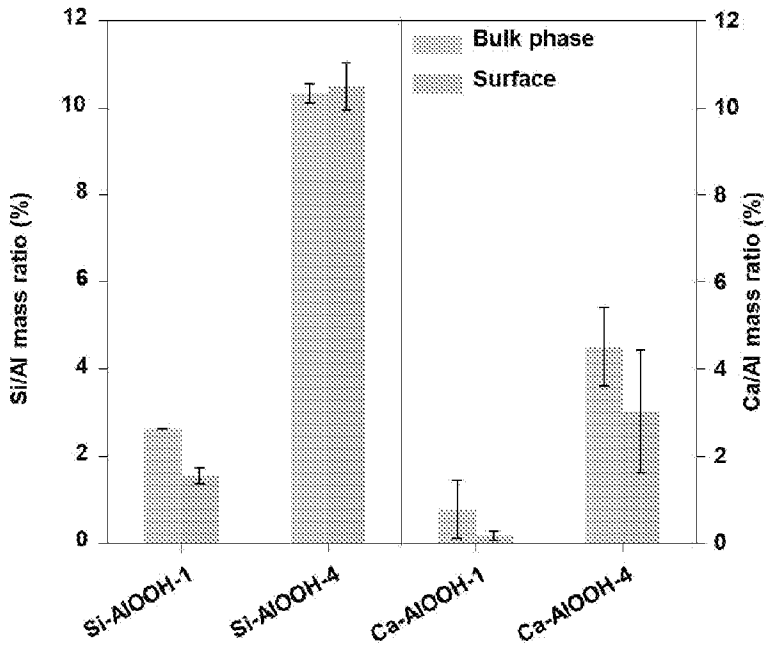

Bulk phase
Surface
Si/Al mass ratio (%)
Ca/Al mass ratio (%)
Si-AlOOH-1
Si-AlOOH-4
Ca-AlOOH-1
Ca-AlOOH-4

图 4

说 明 书 附 图

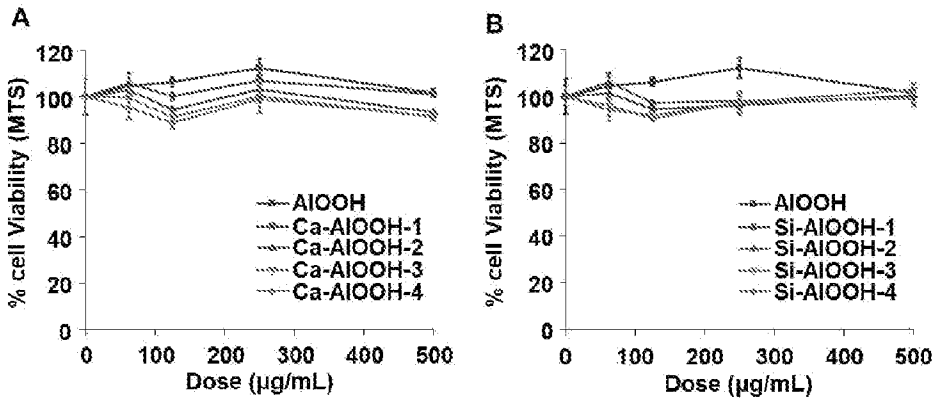

A
% cell Viability (MTS)
Dose (μg/mL)
AlOOH
Ca-AlOOH-1
Ca-AlOOH-2
Ca-AlOOH-3
Ca-AlOOH-4
B
% cell Viability (MTS)
Dose (μg/mL)
AlOOH
Si-AlOOH-1
Si-AlOOH-2
Si-AlOOH-3
Si-AlOOH-4

图 5

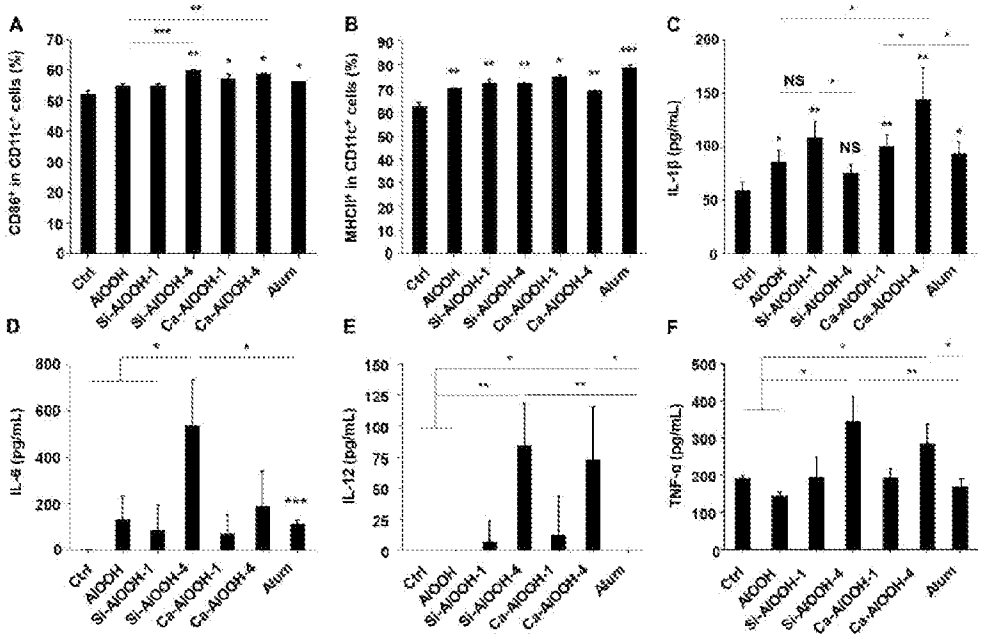

A
B
C
D
E
F
Ctrl
AlOOH
Si-AlOOH-1
Si-AlOOH-4
Ca-AlOOH-1
Ca-AlOOH-4
Alum
NS

图 6

说 明 书 附 图

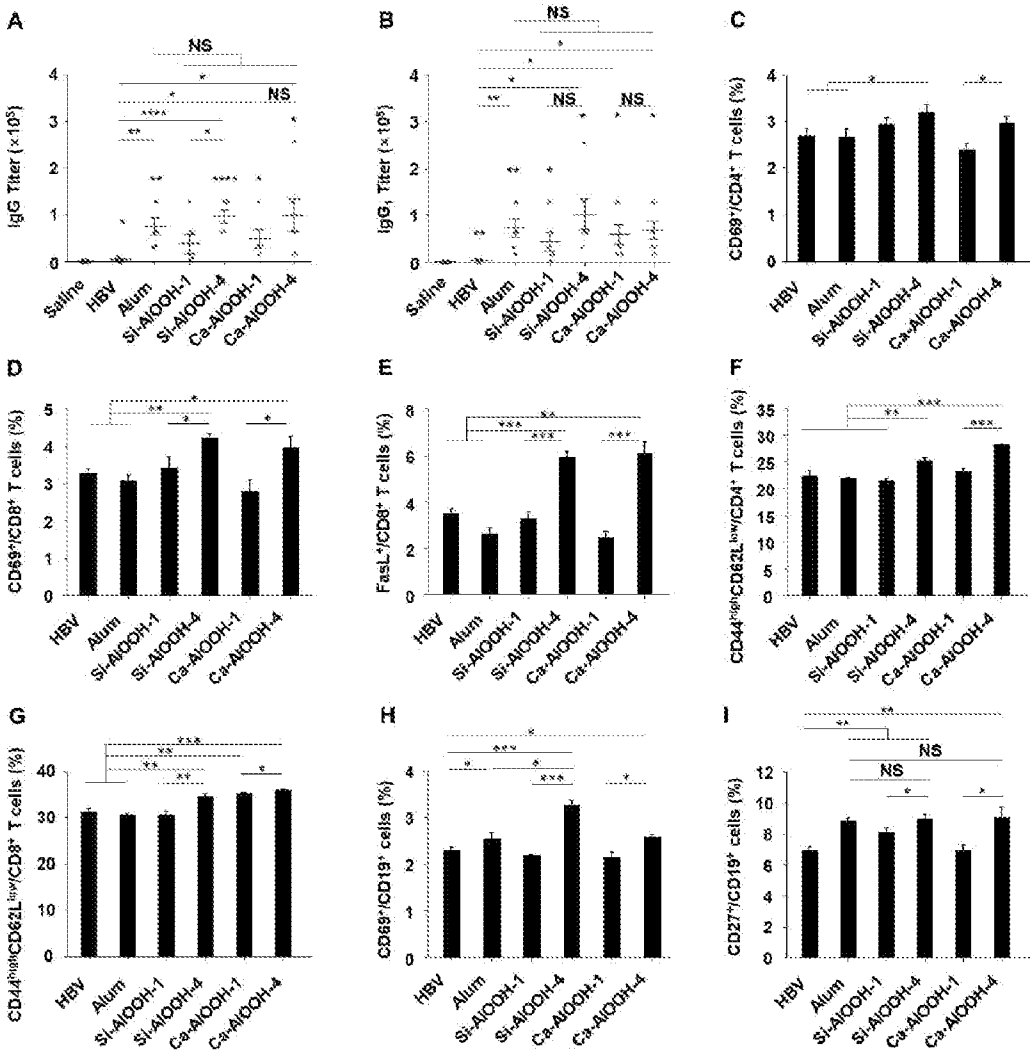

A
IgG Titer (×10⁵)
NS
B
IgG₁ Titer (×10⁵)
C
CD69⁺/CD4⁺ T cells (%)
D
CD69⁺/CD8⁺ T cells (%)
E
FasL⁺/CD8⁺ T cells (%)
F
CD44ʰⁱᵍʰCD62Lˡᵒʷ/CD4⁺ T cells (%)
G
CD44ʰⁱᵍʰCD62Lˡᵒʷ/CD8⁺ T cells (%)
H
CD69⁺/CD19⁺ cells (%)
I
CD27⁺/CD19⁺ cells (%)
Saline
HBV
Alum
Si-AlOOH-1
Si-AlOOH-4
Ca-AlOOH-1
Ca-AlOOH-4

图 7

说 明 书 附 图

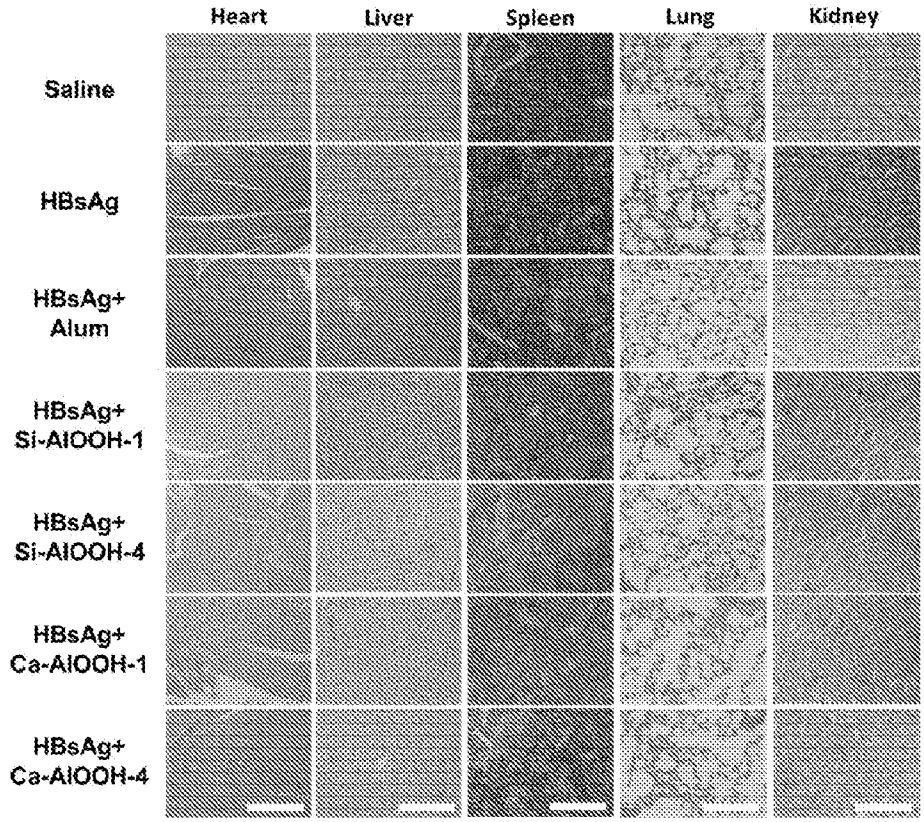

Heart
Liver
Spleen
Lung
Kidney
Saline
HBsAg
HBsAg+ Alum
HBsAg+ Si-AlOOH-1
HBsAg+ Si-AlOOH-4
HBsAg+ Ca-AlOOH-1
HBsAg+ Ca-AlOOH-4

图 8

说 明 书 附 图

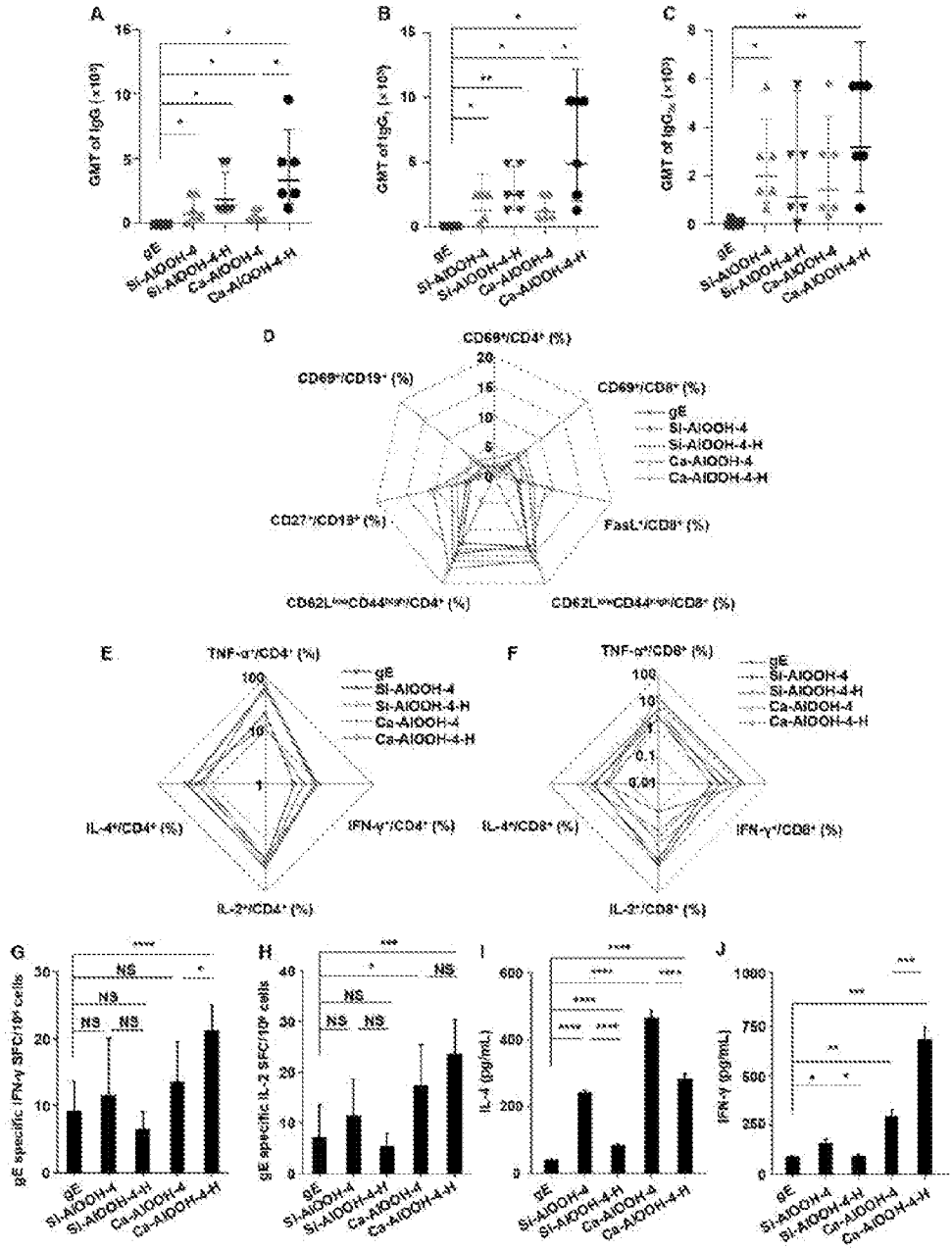

A
B
C
GMT of IgG (×10³)
GMT of IgG1 (×10³)
GMT of IgG2b (×10³)
gE
Si-AlOOH-4
Si-AlOOH-4-H
Ca-AlOOH-4
Ca-AlOOH-4-H
D
CD69+/CD4+ (%)
CD69+/CD8+ (%)
FasL+/CD8+ (%)
CD62L-/-CD44+/+/CD8+ (%)
CD62L-/-CD44+/+/CD4+ (%)
CD27+/CD19+ (%)
CD69+/CD19+ (%)
E
TNF-α+/CD4+ (%)
IFN-γ+/CD4+ (%)
IL-2+/CD4+ (%)
IL-4+/CD4+ (%)
F
TNF-α+/CD8+ (%)
IFN-γ+/CD8+ (%)
IL-2+/CD8+ (%)
IL-4+/CD8+ (%)
G
H
I
J
gE specific IFN-γ SFC/10⁶ cells
gE specific IL-2 SFC/10⁶ cells
IL-4 (pg/mL)
IFN-γ (pg/mL)
NS

图 9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2024/091914

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K39/39(2006.01)i; A61P37/04(2006.01)i; A61K39/12(2006.01)i; A61P31/20(2006.01)i; A61P31/22(2006.01)i; A61P31/14(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)

IPC: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)

VEN, CNABS, PubMed, DWPI, CNTXT, WOTXT, USTXT, EPTXT, JPTXT, CNKI, ISI of Web Science, 百度学术, Baidu Scholar, Patentics: 申请人, Applicants, 发明人, Inventors, 复合佐剂, 负载, 羟基氧化物, 钙, 硅, 硅基, 硅基佐剂, 铝, 免疫, 佐剂, 羟基氧化铝, 掺杂, Adjuvant, al, AL, AlCl3, ALOOH, aluminum, CA, CaCl, Calcium, si, SI, Silicon, vaccine, Ca-AlOOH, si-AlOOH.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 117482224 A (DALIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) 02 February 2024 (2024-02-02) claims 1-10	1-10
X	CN 110665000 A (XIAMEN UNIVERSITY et al.) 10 January 2020 (2020-01-10) description, paragraphs 146-150, 161-165 and 341-343	1, 2, 4-10
X	TAN, J. et al. "Hollow Aluminum Hydroxide Modified Silica Nanoadjuvants with Amplified Immunotherapy Effects Through Immunogenic Cell Death Induction and Antigen Release" *Small*, Vol. 18, No. (34), 31 August 2022 (2022-08-31), abstract, and page 2, left-hand column, last paragraph and right-hand column, paragraph 2, and page 9, left-hand column, paragraph 2	1, 3-10
A	CN 113274492 A (DALIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) 20 August 2021 (2021-08-20) entire document	1-10

☑ 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
"D" document cited by the applicant in the international application
"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
23 August 2024	**28 August 2024**
Name and mailing address of the ISA/CN **China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)** **China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088**	Authorized officer 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 109395075 A (DALIAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY) 01 March 2019 (2019-03-01) entire document	1-10
A	US 2014248310 A1 (ROBEY FRANK A.) 04 September 2014 (2014-09-04) entire document	1-10
A	US 2020360513 A1 (SILA NANOTECHNOLOGIES INC.) 19 November 2020 (2020-11-19) entire document	1-10
A	YANG, Y. et al. "Dendritic Mesoporous Silica Nanoparticle Adjuvants Modified with Binuclear Aluminum Complex: Coordination Chemistry Dictates Adjuvanticit" *Angewandte Chemie-International Edition*, Vol. 59, No. (44), 31 October 2020 (2020-10-31), 19610-19617	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2024/091914

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.: **9-10**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Claims 9-10 relate to the use of a nano adjuvant in preventive and therapeutic adjuvant vaccines, which falls within subject matter for which no search is required as defined in PCT Rule 39.1(iv). However, a search is still carried out on the basis of the corresponding pharmaceutical use thereof.

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/CN2024/091914

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 117482224 A	02 February 2024	None	
CN 110665000 A	10 January 2020	None	
CN 113274492 A	20 August 2021	None	
CN 109395075 A	01 March 2019	None	
US 2014248310 A1	04 September 2014	None	
US 2020360513 A1	19 November 2020	None	

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2024/091914

A. 主题的分类

A61K39/39(2006.01)i；A61P37/04(2006.01)i；A61K39/12(2006.01)i；A61P31/20(2006.01)i；A61P31/22(2006.01)i；A61P31/14(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)

IPC: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））

VEN,CNABS, PubMed, DWPI, CNTXT, WOTXT, USTXT, EPTXT, JPTXT, CNKI, ISI of Web Science, 百度学术, Patentics：申请人, 发明人,复合佐剂,负载,羟基氧化物,钙,硅,硅基,硅基佐剂,铝,免疫,佐剂,羟基氧化铝,掺杂,Adjuvant, al,AL,AlCl3, ALOOH,aluminum, CA,CaCl, Calcium,si,SI,Silicon, vaccine,Ca−AlOOH,si−AlOOH.

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 117482224 A (大连理工大学) 2024年2月2日 (2024 - 02 - 02) 权利要求1−10	1−10
X	CN 110665000 A (厦门大学等) 2020年1月10日 (2020 - 01 - 10) 说明书第146−150，161−165，341−343段	1−2,4−10
X	TAN,J. 等. "Hollow Aluminum Hydroxide Modified Silica Nanoadjuvants with Amplified Immunotherapy Effects through Immunogenic Cell Death Induction and Antigen Release" SMALL, 第18卷，第34期，2022年8月31日 (2022 - 08 - 31)， 摘要，第2页左栏倒数第1段及右栏第2段，第9页左栏第2段	1，3−10
A	CN 113274492 A (大连理工大学) 2021年8月20日 (2021 - 08 - 20) 全文	1−10
A	CN 109395075 A (大连理工大学) 2019年3月1日 (2019 - 03 - 01) 全文	1−10
A	US 2014248310 A1 (FRANK A.ROBEY) 2014年9月4日 (2014 - 09 - 04) 全文	1−10

☑ 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
“D” 申请人在国际申请中引证的文件
“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
2024年8月23日	2024年8月28日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	受权官员 李煦颖 电话号码 (+86) 010−53961960

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	US 2020360513 A1 (SILA NANOTECHNOLOGIES INC.) 2020年11月19日 (2020 - 11 - 19) 全文	1−10
A	YANG, Y.等. "Dendritic mesoporous silica nanoparticle adjuvants modified with binuclear aluminum complex: coordination chemistry dictates adjuvanticit" ANGEWANDTE CHEMIE−INTERNATIONAL EDITION, 第59卷，第44期，2020年10月31日 (2020 - 10 - 31)， 19610−19617	1−10

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2024/091914

第II栏　某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项）

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下:

1. ☑ 权利要求：9-10
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：

权利要求9-10涉及纳米佐剂在预防性和治疗性佐剂疫苗中的应用，属于PCT实施细则39.1(iv)规定的不进行检索的主题。但仍然基于其相应的制药用途进行检索。

2. ☐ 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索，具体地说：

3. ☐ 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2024/091914

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	117482224	A	2024年2月2日	无	
CN	110665000	A	2020年1月10日	无	
CN	113274492	A	2021年8月20日	无	
CN	109395075	A	2019年3月1日	无	
US	2014248310	A1	2014年9月4日	无	
US	2020360513	A1	2020年11月19日	无	