影响含铝佐剂疫苗吸附率和解离率的因素分析

刘 超[1]，张艳艳[2]
（1. 北京博康健基因科技有限公司，北京 102200；2. 印度瑞迪博士实验室有限公司北京代表处，北京 100022）

摘要：吸附率和解离率作为含铝佐剂疫苗重要的体外质量评价指标，是降低临床试验风险的重要保证。随着含铝佐剂疫苗评价手段的不断升级和工艺研究的日益深化，行业也对可为相关产品提供系统解析和深入分析的参考资料提出了更高层次的需求。该文基于项目实践经验，重点从佐剂特性、抗原特点和工艺特征方面论述分析，辅以评价方法设计的改善建议，系统总结了原辅料、铝佐剂、制剂工艺、检测方法等影响含铝佐剂疫苗吸附率和解离率的因素，旨在为制剂产品的开发提供参考和借鉴。

关键词：铝佐剂；疫苗；吸附率；解离率
中图分类号：R944.1 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2023)05-0719-07
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.05.010

Analysis on Factors Affecting Adsorption and Desorption Rates of Aluminum Adjuvant-containing Vaccines

LIU Chao[1], ZHANG Yanyan[2]
(*1. Beijing Bo Kang Gene Technology Co., Ltd., Beijing 102200;*
2. Dr. Reddy's Laboratories Limited Beijing Representative Office, Beijing 100022)

ABSTRACT: As a key *in vitro* quality evaluation index, the adsorption and desorption rates are essential for reducing the risk of clinical tests of aluminum adjuvant-containing vaccines. With the continuous upgrading of the evaluation methods and deepening of process research of aluminum adjuvant-containing vaccines, higher demands for reference materials that can be used for systematic and in-depth analyses of related products have been put forward. Based on the actual development experience of the preparation project, this paper mainly analyzes the characteristics of adjuvant and antigen, and preparation technology. Also, it gives some suggestions for improvement in the evaluation method design. At the same time, it systematically describes the factors affecting the adsorption and desorption rates of aluminum adjuvant-containing vaccines, such as excipients, aluminum adjuvant, preparation process, and determination methods, to provide modest references for the research and development activities of pharmaceutical products.

Key Words: aluminum adjuvant; vaccine; adsorption rate; desorption rate

包括 b 型流感嗜血杆菌结合疫苗，吸附无细胞百日咳、白喉、破伤风联合疫苗，肺炎球菌多糖结合疫苗，重组乙型肝炎疫苗，人乳头瘤病毒疫苗，新型冠状病毒灭活疫苗在内的含铝佐剂疫苗作为国际市场上商品化疫苗的重要组成部分，占我国已上市和在研含佐剂疫苗总数的 80%以上，与每个人的健康息息相关。此类疫苗中的铝佐剂因可接受的安全性和有效性，历经近百年、数十亿剂的临床验证，已成为使用十分广泛的人用疫苗佐剂[1]，包括氢氧化铝佐剂、磷酸铝佐剂、羟基磷酸铝硫酸盐佐剂及铝佐剂与其他成分组成的新佐剂系统等。铝佐剂的吸附作用既可通过防止抗原聚附到器皿壁上以减少疫苗制备和贮存过程中的损失，又可影响免疫作用的强度和类型[2]。含铝佐剂疫苗的免疫原性评价受

收稿日期：2022-12-06
作者简介：刘 超(1988—)，男，工程师，从事药物制剂研究和产品开发。
E-mail：liuchaohzj37@163.com

多种因素影响：铝佐剂吸附前后及解离后疫苗中抗原的聚集和稳定性等理化特性是产品表征的主要考察项[1]；铝佐剂的粒度分布及其均匀性［如多分散性指数（PDI）和跨距（span）值］、辅料种类和抗原特性是保证吸附工艺的重要基础；整个货架期的疫苗吸附强度及其保持状态是研究过程中间体和终产品质量控制的关键参数；暴露于体内环境的吸附率和解离率是影响机体免疫应答的重点评估方向[3]。当然，佐剂的用量既要考虑降低疼痛、红肿、硬结、肉芽肿炎症等局部不良反应，又要考虑因佐剂包裹抗原过于紧密而抑制抗原释放和免疫效应的情况，需通过临床前研究确定诱发最大免疫反应的最小剂量。美国 FDA 批准的和国内上市的疫苗中，铝佐剂用量多低于每剂 0.5 mg 铝，个别介于每剂 0.5 ～ 0.85 mg 铝，此数据可作为用量选择的初步参考[2]。

静电作用和配体交换是铝佐剂表面吸附抗原的主要作用机制。静电作用是大部分抗原表面吸附的主要驱动力，当抗原和佐剂表面荷相反电荷时，吸附作用较易发生，抗原相对分子质量、氯化钠用量、磷酸盐缓冲液 pH 值、佐剂胶粒大小等是吸附的主要影响因素。铝佐剂表面可覆盖单层蛋白质，如单克隆抗体和乙型肝炎病毒表面抗原，而小粒径抗原易扩散到佐剂二级结构颗粒的缝隙中，使佐剂表现出更强的吸附能力[4]。抗原的磷酸基团能与佐剂表面的羟基形成吸附强度较大的共价键，经肌内或皮下注射后能保持长效吸附状态；通过静电作用吸附的抗原在细胞外液相对容易解离[5]。抗原与佐剂间的吸附作用主要取决于抗原本身的性质和组成、铝佐剂的表面特性和内部结构，以及吸附体系的组成成分[1]。其中，抗原和佐剂的性质是产生吸附作用的基础，辅料和工艺共同调控的吸附体系是吸附作用的设计保证。抗原的相对分子质量和等电点、铝佐剂的粒度分布和零电荷点、工艺过程和终点 pH 值、氯化钠用量、缓冲盐种类、吸附时间、辅料添加顺序等因素[2,6]，甚至是吸附强度对蛋白质抗原结构和化学修饰的改变以及对稳定性的影响，都是优化佐剂、抗原、辅料之间相互作用的关键项。

吸附使可溶性或胶体态抗原微粒化，通过增强对铝佐剂敏感的抗原呈递细胞（包括树突状细胞和巨噬细胞等）的吞噬作用，将抗原保留在注射部位，继而释放细胞因子、诱发局部炎症反应，促使抗原靶向到呈递细胞上，增强呈递效率[2]。但铝佐剂的过度紧密结合会削弱抗原呈递细胞的抗原处理，降低 B 细胞识别抗原的可能性，减少 B 细胞和 T 细胞的活化[7]。所以，合适的吸附程度是含铝佐剂疫苗质量和疗效的重要决定因素。综合分析吸附率和解离率等参数对表征吸附疫苗的质量和效力有重大参考意义。基于对物料特性、工艺原理和检测手段的理解，本研究从物料、工艺、检测等方面分析含铝佐剂疫苗吸附率和解离率的影响因素，希望为后续类似产品的开发和提升研发效率提供思路。

1　佐剂层面的影响因素

由于广泛、长期的使用，以及良好的药学和临床效果，在新佐剂的开发早期，铝佐剂曾被视为新佐剂候选药物的“黄金标准”[2]。分子式为 AlO（OH）的氢氧化铝佐剂和分子式为 $Al(OH)_x(PO_4)_y$ 的磷酸铝佐剂是当下常用的白色水凝胶铝佐剂。这 2 种佐剂都由 1 ～ 10 nm 的初级粒子组成初级颗粒（氢氧化铝佐剂为纤维状，磷酸铝佐剂为片状），都可使暴露在表面的羟基通过接受质子呈正电，或提供质子呈负电，形成依赖 pH 值的表面电荷。由于磷酸铝佐剂表面部分羟基被带负电的磷酸基团取代，其零电荷点（pH 4.6 ～ 5.6）明显比氢氧化铝佐剂（pH 11.4）低。氟化物、磷酸盐、碳酸盐、硫酸盐和硼酸盐等阴离子都可与这 2 种佐剂表面的羟基进行配体交换，降低零电荷点[8]。有研究[2]显示，在氢氧化铝佐剂中加入磷酸盐可在不改变晶体结构的前提下，降低零电荷点，而用非磷酸盐溶液稀释磷酸铝佐剂会减少其表面磷酸基团的数量，升高零电荷点。此外，室温贮存 15 个月和湿热灭菌处理可促进铝佐剂去质子化和脱水，使结构更加有序，这种“老化”过程会减少佐剂的表面积，降低吸附能力[2,9]。

铝佐剂的表面电荷和粒度分布是吸附和解离作用的基础，佐剂胶体颗粒的内外基团组成和稳定

性也是影响疫苗质量的重要因素。调控铝佐剂质量属性的主要方式是控制制备过程的 pH 值及其变化程度、物料混合和添加的速度和方式、搅拌速度或气体流量、反应温度和时间以及反应器容积和批量等[1,10]。专利[11]报道将氨水以喷雾状态加至三氯化铝溶液中，使氨水与三氯化铝均匀反应，可显著减少大颗粒物的形成。铝佐剂的表面电荷、粒度分布和吸附能力是其主要的制剂工艺控制项。吸附容量主要受佐剂和抗原的电荷和粒度影响[12]。在缓冲体系或细胞外液中，当铝佐剂和抗原携带电荷的电势绝对值越小时，静电作用越弱、吸附率越低，如果利用磷酸根来结合或替换铝佐剂表面的部分羟基，可减弱静电作用，从而降低肺炎球菌多糖结合疫苗的吸附强度、提高解离率。铝佐剂颗粒的粒径越大，则比表面积越小、吸附能力越弱[13]，解离率可能越高。值得注意的是，抗原呈递细胞对不同粒径颗粒的摄取途径不同，因此粒径也可能会影响免疫反应的效果[12]。铝佐剂对目标抗原的吸附能力一般可采用结合牛血清白蛋白来评估[14]。

铝佐剂的选择要结合佐剂性质、抗原特征、吸附机制、免疫原性等方面综合考虑，尤其要考虑其对免疫原性和安全性的影响。不同铝佐剂适用于不同种类抗原，如 5 型肺炎链球菌多糖结合物吸附磷酸铝佐剂后所产生的抗体水平就略高于氢氧化铝佐剂[15]。此外，将铝佐剂与其他具有佐剂潜力或功效的成分相互作用，有可能提高铝佐剂的效用。例如，有研究[16]将佐剂脂质体（Army Liposome Formulation）或皂苷 QS21 吸附到已经吸附有抗原的氢氧化铝上，可提高佐剂已吸附抗原的免疫效力；此外，将单磷酰脂质 A 吸附到铝佐剂上的 AS04 佐剂也具有同样效力，但需要使用二甲基脂肪酰基磷脂消除注射部位疼痛的不良反应；将铝盐填充在角鲨烯与水的界面上，形成的稳定 Pickering 乳不仅能吸附大量的严重急性呼吸综合征冠状病毒 2（SARS-CoV-2）抗原，也对树突状细胞摄取具备更高的亲和力[17]。所以，铝佐剂与其他类型佐剂或辅料相互作用，形成的新结构或组分也可改善抗原效力、规避自身不足。

2 原辅料层面的影响因素

2.1 原液

优化处方组成和用量是使含铝佐剂疫苗获得强效免疫原性、提高理化稳定性的关键步骤[18]。抗原的 ζ 电势、相对分子质量和处方浓度是影响含铝佐剂疫苗吸附率和解离率的重要因素。研究[13]显示，抗原浓度增加时，铝佐剂的吸附量先增大后趋于平缓；氢氧化铝佐剂的吸附能力随抗原相对分子质量的增大而表现出线性下降的趋势，磷酸铝佐剂的吸附能力受蛋白质相对分子质量的影响则不明显。抗原的组成也是原液需要重点控制的因素，如肺炎球菌多糖结合疫苗的多糖与蛋白质比率[19]。部分抗原吸附到铝凝胶表面时，可部分解折叠，暴露出更多疏水残基，这类残基与佐剂表面发生相互作用，导致吸附强度增加、亲和力和热稳定性降低[2,20]。这种结合源于残基周围的静电差异而非分子结构改变，因此抗原吸附后的构象变化在解离后大多是可逆的[21]，并且这种变化可能使抗原更易被免疫系统水解，因而有利于抗原呈递[20]。此外，磷酸化抗原有产生配体交换的概率，其吸附强度与抗体产生的可能性呈负相关，此时对吸附强度和解离率进行评估，并对铝佐剂进行修饰是十分必要的[22]。研究[13]显示，过度磷酸化的卵清蛋白与铝佐剂可完全吸附，吸附程度随磷酸化程度的下降而降低。游离抗原经制备后的吸附变化情况和已吸附抗原在贮存过程中的解离情况也是影响疫苗质量和效果的重要因素，不应忽略。

2.2 辅料

2.2.1 缓冲体系

磷酸盐变性剂、缓冲液种类、溶液 pH 值和离子强度是常见的影响吸附和解离作用的处方因素，充分理解可能影响铝佐剂与抗原之间相互作用的因素对设计安全、有效和质量可控的含铝佐剂疫苗至关重要。解离程度与吸附强度成反比，磷酸根离子对铝的亲和力高于羟基，吸附体系中的磷酸基团可与铝佐剂表面的羟基快速发生交换，导致氢氧化铝佐剂的零电荷点下降，并减弱佐剂 - 抗原的吸附强度，促进 T 细胞激活，从而产生更强的抗体反应[2,13]。

枸橼酸盐、碳酸盐、硼酸盐和琥珀酸盐也是可能影响吸附作用的阴离子，组氨酸、3-（*N*- 吗啉基）丙磺酸（MOPS）和三羟甲基氨基甲烷（Tris）缓冲液对铝佐剂的表面特性和抗原吸附水平的影响则不明显[2]。吸附过程中部分琥珀酸或琥珀酸钠先于抗原添加可在一定程度上改变 20 价肺炎球菌多糖结合疫苗颗粒的粒径，进而影响制品的再分散和沉降等特征。辉瑞制药的 13 价肺炎结合疫苗（沛儿 13®）的处方中选择琥珀酸盐就是考虑到其对抗原与磷酸铝佐剂间结合作用的影响较小。此外，磷酸盐缓冲剂可提高氢氧化铝佐剂表面抗原的稳定性，且抗原稳定性与小鼠的免疫原性密切相关[4]。吸附体系的 pH 值是吸附率重要的影响因素，随着 pH 值升高，磷酸铝佐剂和 9V 型肺炎球菌多糖结合物所带的负电荷增加，二者之间的静电排斥力增强，吸附率随之降低[23]。但不适合的 pH 值可能会破坏抗原化学结构和空间构象的完整性，影响铝佐剂与抗原的结合能力，甚至破坏与疫苗效力相关的关键表位的完整性[22]，工艺开发过程需注意合理控制。

为保证疫苗具有合适的渗透压和稳定性，通常会在处方中添加氯化钠、磷酸盐、钙盐等无机盐；随着盐浓度增加，环境离子强度增大，虽对铝佐剂的表面化学成分无影响，但却能通过屏蔽或减弱溶液中铝佐剂的 ζ 电势，使佐剂偏向聚集状态，减弱静电吸附作用，从而影响疫苗效力[4—5]，如在 pH 7.4 的 0.06 ～ 0.15 mol/L 氯化钠溶液中，溶菌酶与磷酸铝佐剂的静电吸附作用明显下降，当浓度达到 0.25 mol/L 时，吸附作用接近 0[13]。高浓度氯化钠还可能影响氢氧化铝佐剂的结构，乃至抗原的吸附作用[13]。所以，在以静电吸附机制为主的体系中，适合的溶液离子强度也需要单独确认。

2.2.2 稳定剂

聚山梨酯 80、蔗糖、甘氨酸、甘油、明胶等辅料可作为稳定剂添加到疫苗中。聚山梨酯 20 和聚乙二醇辛基苯基醚（Triton X-100）等非离子表面活性剂可降低溶液的表面张力，防止抗原在配制、样品处理和贮存过程中在界面处展开，以及在产品接触表面（如过滤器、容器和注射器）时的损失，还能增强抗原的高温和酸碱稳定性[2]。山梨醇、葡萄糖和精氨酸能避免在搅拌过程中出现的氢氧化铝凝胶基质崩塌和蛋白质变性，抑制破伤风类毒素制剂的变性、聚集与解离[24]。苏氨酸、天冬酰胺和 L-丙氨酰 -L-1- 氨基乙基膦酸可稳定经超声破碎后粒径减小的磷酸铝，精氨酸则可诱导重聚集[12]。在含 50％甘油（稳定剂）的体系中，蓖麻毒素 A 链的稳定性能提高到 66 ℃[25]。当然，稳定剂的作用强度与使用剂量有关系，山梨醇和甘油可影响氢氧化铝佐剂对蛋白质的吸附能力，但在疫苗的常规低浓度条件下，该作用可能难以显现[2]。稳定剂可能增加佐剂 ζ 电势的绝对值，提高其稳定性、减小不良反应，但也可能对免疫反应产生负面影响[12]。所以，在处方开发阶段，在探究稳定剂作用程度的基础上，还要分析稳定剂对疫苗质量和效力的影响。

3　工艺层面的影响因素

制剂工艺开发要基于对吸附作用机制的理解，对抗原和佐剂的特性以及影响吸附和解离的关键物料属性的认识，也要分析各辅料对中间体和成品质量的影响。研发具体品种时，要先确定沉降速度和现象、再分散性、外观均匀性、吸附率和解离率等关键质量属性，再调控抗原和铝佐剂浓度、缓冲体系组成和 pH 值、盐离子浓度、物料添加顺序和速度、吸附时间、搅拌速度等工艺参数，以获得具有适宜的吸附率和解离速度、免疫原性、质量和工艺可控性等产品属性的产品。动态检测吸附动力学可能有助于研究者快速确定结合速度和吸附工艺的条件[1]。在诸多工艺控制条件中，pH 值是对吸附率影响较显著的因素，也是共同吸附、顺序吸附和平行分别吸附等工艺过程的重要调控项，短时间内维持低 pH 值就能促进静电吸附、提高吸附率[19]。但疫苗通常需要在接近生理 pH 值的条件下贮存和使用，以减少局部不良反应。所以，在不影响抗原、佐剂及其吸附物稳定性的前提下，调节吸附过程的 pH 值范围是工艺优化的主要方向。然而，在吸附体系中佐剂颗粒周围双电层的 pH 值可能不同于溶液 pH 值，如磷酸铝佐剂的微环境 pH 值小于溶液 pH 值，而对佐剂使用不同 pH 值的缓冲液进行预处

理，可调整其表面电荷状态、调节微环境 pH 值 [22]。由于抗原吸附铝佐剂后可能发生 pH 依赖性的去氨基、水解或氧化等反应，微环境 pH 值可能会影响抗原的稳定性和免疫原性 [9]。

个别易被忽视的工艺参数也可能是重要的影响因素，如用 Rushton 型涡轮桨叶替代磁力搅拌的轴向和径向型叶轮，可抑制肺炎球菌多糖 - 蛋白质结合物中絮状物或聚集体的形成 [19]。实际开发过程应在风险评估理念的基础上，反复考虑关键工艺属性。此外，工艺放大过程也是吸附率和解离率的中、高风险影响因素，混合是其中较重要的风险步骤，实践中建议通过数学模型（如通过放大前后搅拌叶轮直径与搅拌槽直径比例来计算目标转速）或计算机模型进行评估，并基于实践经验，深入观察，以保证液流的旋转状态和颗粒分布，再结合多批次放大研究情况进行综合判断。

4 检测层面的影响因素

吸附程度是批间一致性和疫苗效力的关键参数 [19]，吸附率和解离率是吸附特征的表现形式。作为产品的关键质量检测项和稳定性考察项，吸附率主要通过检测疫苗离心后上清液中抗原含量与总抗原含量的比例关系进行表征 [26]，而行业对有区分力的解离方法尚未给出明确的参考和正式的指导。部分金属离子螯合剂、表面活性剂、有机酸、无机碱等物质，例如十六烷基硫酸钠、Triton X-100、盐酸胍、碳酸氢钠和磷酸根离子可以破坏抗原与佐剂之间的相互作用力，将抗原从佐剂上解离出来，从而测定吸附疫苗中抗原含量，但由于其作用强度远比体内环境剧烈，一定程度上会破坏蛋白质结构，导致蛋白质变性 [27]，难以获得有区分力的解离曲线。目前，已报道多种解吸附剂组合：如十二烷基二甲基甜菜碱的磷酸盐缓冲液 [28]，二乙醇胺、Triton X-100、磷酸盐缓冲液的组合，乙二胺四乙酸二钠、磷酸氢二钠溶液的组合，枸橼酸钠溶液，枸橼酸钠、Triton X-100 溶液的组合 [29]，聚山梨酯 20、枸橼酸钠缓冲液的组合 [27]，反复冻融后依次添加盐酸、Triton X-100 [30]，蔗糖、氯化镁、聚山梨酯 80、磷酸氢二钾和磷酸二氢钾 [31]，以及用于新型冠状病毒灭活疫苗的解吸附剂组合 [32]，即二乙醇胺、TritonX-100、枸橼酸钠、尿素、乙二胺四乙酸、磷酸盐缓冲液。虽然，上述解吸附剂组合都考虑要降低试剂对抗原结构的影响，但大多数组合的作用条件仍不够温和，因此主要适用于抗原含量和吸附率检测（例如利用表面活性剂的抗水性和分散性来改变结合后蛋白质和佐剂的表面张力和等电点，使抗原从铝佐剂上脱离下来 [28]），难以直接用于有区分力的解离曲线表征，只能作为开发解离曲线的方法参考。疫苗的吸附特征宜通过将吸附物稀释于细胞间质液（如人血浆或羊淋巴液）中来进行评估 [22]；可使用生物溶媒（如人工肠液与人工胃液）来评价体外释放情况，以降低临床风险；也可使用模拟生理体液、平衡盐溶液等接近生理状态离子环境的溶液，结合常规解吸附剂进行体外模拟试验，以评价含铝佐剂疫苗的质量，但需要提前评估溶液中各组分对抗原检测方法的影响程度。

此外，吸附到佐剂表面后，蛋白质的表观热稳定性可能会降低，结构也可能发生变化 [21]。所以，需要充分认识吸附、解离过程中抗原和铝佐剂的作用方式和结构。高场核磁共振、粒度分布分析和低温电子显微镜可揭示抗原的结构细节 [33]；荧光光谱和差示扫描量热法能比较溶液中和铝佐剂表面吸附的蛋白质热稳定性 [21]；熔融温度是比较蛋白质在氢氧化铝佐剂上吸附和未吸附的行为以及预测蛋白质稳定性的有效工具 [34]。实际开发过程中应综合考虑相关因素的影响，配合应用多种技术，以加深对产品研发的认识和控制。

5 结语

疫苗吸附和解离作用的本质是抗原和佐剂的理化结合，而辅料和工艺是调控二者结合强度、速度和程度的关键。抗原的粒度分布、ζ 电势、吸附浓度等确定后，佐剂的表面基团组成、电势分布、粒度大小、凝胶膨胀特征等即为制备过程需要重点考虑的因素。辅料的种类和用量、原辅料的添加顺序和方式、搅拌强度、吸附时间等是质量调控的主要手段。理论上，抗原、佐剂、吸附物都可以促进细胞因子和抗原呈递细胞在注射部位的蓄积，进而引

起局部刺激反应。如果吸附率太低或解离过快，抗原可能迅速脱离注射部位，减弱局部刺激反应，这不利于抗原呈递细胞集中捕获，可能会减弱免疫原性。此外，如果铝佐剂和抗原吸附物的颗粒过大，则可能减缓佐剂和吸附物的扩散，延长和加剧细胞因子和抗原呈递细胞的聚集效应，进而增强局部刺激反应。所以，吸附物颗粒不宜过大，应通过控制吸附工艺参数来尽量同时保证小颗粒和大颗粒佐剂的吸附程度，并使吸附物均匀沉降、再分散能力适宜。因此，对吸附过程中产物特性的调节和控制是疫苗安全性和有效性的保证，系统探索开发过程的关键物料属性和关键工艺参数，充分认识影响关键质量属性的因素以及主要质量问题的改进方向，是疫苗药学研究阶段降低临床风险的主要策略。

研发流程应在质量源于设计理念的指导下，参照药品研发现场检查要求，在研发质量管理体系规范中，通过深入认识物料特性、物料间相互作用、工艺步骤特点、工艺对物料性质的影响等来判断关键节点，从而确定风险因素。同时，应保证研发过程的真实性、完整性、合规性，例如关注贮存过程环境因素（包括 pH 值、辅料甚至包材的胶塞材质[35]）对疫苗吸附率的影响；长期稳定性应持续研究直至拐点；工艺流程要解释关键步骤的选择依据；影响因素稳定性要考虑运输过程可能发生的脱冷链与振动等情况；疫苗有效期的制定要兼顾生产过程和配制前抗原的已保存时间。此外，宜以生物制品新药临床 1 期或生物类似药中试为药品生产质量管理规范（GMP）和非 GMP 管理的分界点，保证工艺放大过程的合规性和药品质量。

参考文献：

[1] 国家药品监督管理局．预防用含铝佐剂疫苗技术指导原则[EB/OL]．(2019-12-09)[2022-08-16]．https://www.nmpa．gov．cn/directory/web/nmpa/images/ufq80tKpxre84La9udzA7b7WMjAxOcTqtdo5MLrFzai45ri9vP4xLmRvY3g=．docx．

[2] HOGENESCH H, O'HAGAN D T, FOX C B．Optimizing the utilization of aluminum adjuvants in vaccines: you might just get what you want［J］．*NPJ Vaccines*, 2018, **3**: 51．

[3] HE P, ZOU Y N, HU Z Y．Advances in aluminum hydroxide-based adjuvant research and its mechanism［J］．*Hum Vacc Immunother*, 2015, **11**(2): 477-488．

[4] HUANG M, WANG W．Factors affecting alum-protein interactions［J］．*Int J Pharm*, 2014, **466**(1/2): 139-146．

[5] 张林焱, 周　旭．疫苗用氢氧化铝佐剂的研究现状[J]．中国生物制品学杂志, 2020, **33**(2): 213-215．

[6] CEDEÑO M H, ZAYAS C, PÉREZ-QUIÑOY J L, *et al*．Condiciones de adsorción de un candidato vacunal basado en vesículas de membrana externa derivada de *Salmonella* Paratyphi A en adyuvantes de aluminio［J］．*VacciMonitor*, 2019, **28**(2): 62-67．

[7] AGARWAL S, HICKEY J M, MCADAMS D, *et al*．Effect of aluminum adjuvant and preservatives on structural integrity and physicochemical stability profiles of three recombinant subunit rotavirus vaccine antigens［J］．*J Pharm Sci*, 2020, **109**(1): 476-487．

[8] ROWE R C, SHESKEY P J, QUINN M E．Handbook of pharmaceutical excipients［M］．6th ed．London, Chicago and Washington DC: Pharmaceutical Press, American Pharmacists Association, 2009: 34-35, 38-39．

[9] 赵晨燕, 黄维金．铝佐剂理化特性及其吸附抗原后产物的质量控制研究进展[J]．微生物学免疫学进展, 2018, **46**(5): 86-90．

[10] 生物E有限公司．制备应用于疫苗制剂的磷酸铝凝胶的方法: 中国, 107921119A［P］．2018-04-17．

[11] 成都生物制品研究所有限责任公司．一种氢氧化铝佐剂的制备方法: 中国, 113559255A［P］．2021-10-29．

[12] VRIELING H, BALLESTAS M E, HAMZINK M, *et al*．Stabilised aluminium phosphate nanoparticles used as vaccine adjuvant［J］．*Colloids Surf B Biointerfaces*, 2019, **181**: 648-656．

[13] 张冰洁, 马雷钧．铝佐剂的性质及作用机制研究进展[J]．国际生物制品学杂志, 2018, **41**(4): 185-189．

[14] 王晓娟, 马　锐, 曹　琰, 等．铝佐剂及佐剂吸附疫苗质量标准的探讨[J]．中国生物制品学杂志, 2019, **32**(4): 485-488．

[15] 张　利, 彭少丹, 孟　欣, 等．5型肺炎链球菌荚膜多糖与CRM197蛋白结合疫苗的制备及免疫原性的研究[J]．中国免疫学杂志, 2018, **34**(10): 1521-1525．

[16] BECK Z, TORRES O B, MATYAS G R, *et al*．Immune response to antigen adsorbed to aluminum hydroxide particles: effects of co-adsorption of ALF or ALFQ adjuvant

to the aluminum-antigen complex [J]. *J Control Release*, 2018, **275**: 12-19.

[17] PENG S, CAO F Q, XIA Y F, *et al*. Particulate alum via pickering emulsion for an enhanced COVID-19 vaccine adjuvant [J]. *Adv Mater*, 2020, **32**(40): 1-7.

[18] LJUTIC B, OCHS M, MESSHAM B, *et al*. Formulation, stability and immunogenicity of a trivalent pneumococcal protein vaccine formulated with aluminum salt adjuvants [J]. *Vaccine*, 2012, **30**(19): 2981-2988.

[19] 印度血清研究所私人有限公司. 用于改善多糖-蛋白质缀合物及其获得的多价疫苗配制剂的吸附的方法: 中国, 107847571A [P]. 2018-03-27.

[20] JONES L S, PEEK L J, POWER J, *et al*. Effects of adsorption to aluminum salt adjuvants on the structure and stability of model protein antigens [J]. *J Biol Chem*, 2005, **280**(14): 13406-13414.

[21] BRAUN L J, ELDRIDGE A M, CUMMISKEY J, *et al*. The role of adjuvant in mediating antigen structure and stability [J]. *J Pharm Sci*, 2012, **101**(4): 1391-1399.

[22] HEM S L, HOGENESCH H, MIDDAUGH C R, *et al*. Preformulation studies — the next advance in aluminum adjuvant-containing vaccines [J]. *Vaccine*, 2010, **28**(31): 4868-4870.

[23] 杨溢尧, 刘 威, 廖红梅, 等. 磷酸铝佐剂吸附率对9V型肺炎球菌荚膜多糖蛋白结合疫苗免疫原性的影响[C]// 2015中国生物制品年会暨第十五次全国生物制品学术研讨会论文集. 2015中国生物制品年会暨第十五次全国生物制品学术研讨会. 深圳: 中国药学会, 中华预防医学会, 中国医药生物技术协会, 2015.

[24] SOLANKI V A, JAIN N K, ROY I. Stabilization of tetanus toxoid formulation containing aluminium hydroxide adjuvant against agitation [J]. *Int J Pharm*, 2012, **423**(2): 297-302.

[25] PEEK L J, BREY R N, MIDDAUGH C R. A rapid, three-step process for the preformulation of a recombinant ricin toxin A-chain vaccine [J]. *J Pharm Sci*, 2007, **96**(1): 44-60.

[26] 任慧梅, 李 敏. 肺炎球菌多糖结合疫苗的申报现状及药学研发思考[J]. 药物生物技术, 2020, **27**(5): 393-396.

[27] 长春生物制品研究所有限责任公司. 解吸附铝盐吸附型疫苗中的抗原的解吸附剂及抗原含量检测方法: 中国, 111308071A [P]. 2020-06-19.

[28] 韩 露, 杨丽霞, 司伟雪. 氢氧化铝吸附重组肺炎蛋白疫苗解吸附方法[J]. 中国新药杂志, 2015, **24**(9): 988-1001.

[29] 殷建齐, 尹珊珊, 邓海清, 等. 吸附DTaP-脊髓灰质炎灭活疫苗中D抗原检测预处理的解吸附方法建立和初步验证 [J]. 国际生物制品学杂志, 2019, **42**(4): 171-174.

[30] 华北制药金坦生物技术股份有限公司. 一种乙肝疫苗的解析方法: 中国, 111840540A [P]. 2020-10-30.

[31] 北京生物制品研究所有限责任公司. 铝佐剂吸附型新型冠状病毒灭活疫苗中抗原的解离方法: 中国, 111812313A [P]. 2020-10-23.

[32] 中国医学科学院医学生物学研究所. 一种应用于新型冠状病毒灭活疫苗的裂解液及抗原解离的方法: 中国, 112379087A [P]. 2021-02-19.

[33] AVCI F, BERTI F, DULL P, *et al*. Glycoconjugates: what it would take to master these well-known yet little-understood immunogens for vaccine development [J]. *mSphere*, 2019, **4**(5): e00520-19.

[34] ANNALISA C, SILVIA S, FRANCESCA F, *et al*. Adsorption onto aluminum hydroxide adjuvant protects antigens from degradation [J]. *Vaccine*, 2020, **38**(19): 3600-3609.

[35] 赛诺菲巴斯德有限公司. 储存含有铝佐剂的疫苗方法: 中国, 107753944A [P]. 2018-03-06.