



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0814557-1 B1

(22) Data do Depósito: 10/07/2008

(45) Data de Concessão: 18/09/2018



(54) Título: PROCESSO PARA PRODUZIR FOSFATO DE ALUMÍNIO

(51) Int.Cl.: C01B 25/36

(30) Prioridade Unionista: 09/07/2008 US 12/169.665, 10/07/2007 US 60/958.958

(73) Titular(es): WYETH LLC.

(72) Inventor(es): LAKSHMI KHANDKE; JOSEPH PEREZ

(85) Data do Início da Fase Nacional: 08/01/2010

"PROCESSO PARA PRODUZIR FOSFATO DE ALUMÍNIO"

Fundamentos da Invenção

[001] Algumas vacinas e outros medicamentos contêm um ou mais componentes chamados adjuvantes que servem para melhorar a imunogenicidade dos antígenos de vacina, tornando desse modo a vacina mais eficaz. Os estudos mostraram que muitas vacinas contendo alumínio produzem respostas de anticorpo mais altas e mais prolongadas do que algumas vacinas formuladas sem o adjuvante. Há vários tipos de sais contendo alumínio ("também referido como alume") que funcionam como adjuvantes de vacina: (i) fosfato de alumínio ou $AlPO_4$, (ii) hidróxido de alumínio ou $Al(OH)_3$, e (iii) sulfato de alumínio e potássio $Al(SO_4)_2$. A eficácia de cada adjuvante contendo alumínio depende frequentemente das características da vacina específica e de como o fabricante prepara a vacina (Baylor e outros, "Aluminum salts in vaccines-US perspective", *Vaccine* 20:S18-23, 2002). Para funcionar como um adjuvante, o antígeno tipicamente necessita ser adsorvido no alumínio para manter o antígeno no sítio da injeção.

[002] As vacinas licenciadas pelos Estados Unidos para crianças que contêm adjuvantes de alumínio incluem, sem limitação, vacina contra difteria-tétano-coqueluche acelular (DTaP), algumas vacinas contra *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib), vacina pneumocócica conjugada, vacina contra Hepatite B, combinação de DTaP, Tdap, vacinas contra Hepatite A, e vacina contra Papilomavírus Humano.

[003] A Pevnar®, comercializada e vendida por Wyeth, é uma vacina pneumocócica conjugada que contém fosfato de alumínio como um adjuvante. Os antígenos na Pevnar® são uma mistura de polissacarídeos de sete sorotipos diferentes da bactéria *Streptococcus pneumoniae*, cada um conjugado à proteína carreadora CRM₁₉₇. A Pevnar® é formulada como um líquido aquoso claro contendo uma suspensão coloidal do antígeno – a substância que estimula a resposta

imune protetora específica – adsorvida no adjuvante de alumínio Al-PO₄.

[004] Enquanto os processos de produzir adjuvante de fosfato de alumínio foram descritos, permanece uma necessidade na técnica por processos que são mais eficazes e/ou estéreis, especialmente em uma escala industrial. Em adição, é desejável que qualquer novo processo produza adjuvante de fosfato de alumínio com características físicas, químicas e funcionais similares como o adjuvante de fosfato de alumínio já em uso comercial, por exemplo, na Pevnar®.

Sumário da Invenção

[005] A presente invenção fornece processos otimizados para produzir o adjuvante de alumínio AlPO₄. Esses processos de fabricação otimizados se beneficiam de eficiência aumentada e/ou esterilidade aumentada se comparado a outros processos e são particularmente úteis em uma escala industrial.

[006] Assim, em um aspecto, a presente invenção fornece um processo para produzir fosfato de alumínio que compreende as etapas de misturar uma solução de cloreto de alumínio e uma solução de fosfato de sódio tribásico para produzir um precipitado de fosfato de alumínio, onde a otimização compreende decantar o precipitado de fosfato de alumínio em uma temperatura na faixa de aproximadamente 50° C a aproximadamente 70° C.

[007] Em outro aspecto, a presente invenção é direcionada a um processo para produzir fosfato de alumínio compreendendo as etapas de: (i) misturar uma solução de cloreto de alumínio e uma solução de fosfato de sódio tribásico para produzir uma suspensão de fosfato de alumínio e um sobrenadante; (ii) decantar a suspensão de fosfato de alumínio para produzir um precipitado de fosfato de alumínio; e (iii) remover o sobrenadante, onde as etapas de misturar, decantar e remover são executadas dentro de um sistema fechado.

[008] Esses e outros aspectos da presente invenção serão aparentes a partir da seguinte descrição e a partir das reivindicações.

Breve Descrição dos Desenhos

[009] A FIG. 1 representa um fluxograma para um processo de produzir AlPO_4 .

[0010] A FIG. 2 representa um fluxograma para um processo otimizado para produzir AlPO_4 .

Descrição Detalhada de Certas Modalidades

[0011] A presente invenção fornece processos otimizados para a fabricação do adjuvante de alumínio AlPO_4 . Esses processos são especificamente úteis na fabricação em escala industrial de AlPO_4 .

[0012] A FIG. 1 representa um processo para produzir fosfato de alumínio no qual cloreto de alumínio (AlCl_3) e fosfato e sódio tribásico (Na_3PO_4) são primeiro preparados separadamente. O cloreto de alumínio pode estar na forma de hexaidrato de cloreto de alumínio. Esses reagentes são então assepticamente transferidos para um recipiente de formulação e combinados com água (por exemplo, Água para Injeção ou WFI™). A reação entre esses reagentes resulta na formação de uma suspensão de AlPO_4 . A suspensão é então transferida em tambores para decantação em 25° C. O tempo de decantação para esse processo (isto é, o tempo exigido para permitir que o precipitado de AlPO_4 decante nos tambores) é aproximadamente 7 a 10 dias, o que representa a etapa mais lenta no processo inteiro. Após a decantação, o sobrenadante é removido de cada tambor e o AlPO_4 precipitado é transferido em um recipiente de formulação para esterilização no local (por exemplo, $\geq 121^\circ \text{C}$, 45 min) e ajuste de pH. O AlPO_4 final é então transferido em tambores para armazenamento. O tempo de ciclo por lote total desse processo em uma escala industrial é aproximadamente 10 a 12 dias. Em adição, a natureza aberta desse processo exige que as múltiplas manipulações assépticas sejam executadas

em um ambiente de ar limpo (por exemplo, Classe 100). Isso é custoso e também necessita de teste de esterilidade.

[0013] A eficácia do processo representado na FIG. 1 é otimizada significativamente, entre outros, executando-se a etapa de decantação em temperaturas maiores. Em um processo otimizado que é representado na FIG. 2, após o cloreto de alumínio, fosfato de sódio tribásico e água são misturados para formar uma suspensão de AlPO_4 , a suspensão é permitida a decantar em aproximadamente 50°C a 70°C (por exemplo, 60°C). O tempo de decantação nessas temperaturas mais altas é reduzido de aproximadamente 7 a 10 dias para entre aproximadamente 2 a 5 dias.

[0014] Outra otimização se comparada ao processo da FIG. 1 envolve executar todas as etapas do processo dentro de um sistema fechado. Essa tem a vantagem de reduzir o risco de contaminação (por exemplo, de bactérias, etc.) desse modo aumentando a garantia de esterilidade do produto final e reduzindo a necessidade por teste de esterilidade. Assim, na FIG. 2, o sobrenadante é removido do recipiente de formulação (por exemplo, usando um tubo imerso) e a suspensão de AlPO_4 restante (ainda no mesmo recipiente de reação) é esterilizada no local (por exemplo, $\geq 121,1^\circ\text{C}$, 30 min) antes do pH ser ajustado. O produto de AlPO_4 final pode então ser transferido em tambores para armazenamento. O tempo de ciclo por lote total desse processo em uma escala industrial é aproximadamente 3 a 6 dias (isto é, metade do tempo de ciclo do processo na FIG. 1). O tempo de ciclo reduzido fornece uma vantagem na eficácia. A Tabela 2 fornece uma comparação lado a lado de algumas das diferenças entre os processos representados nas FIGs. 1 e 2.

[0015] Baseado em parte nessas conclusões, a presente invenção fornece um processo para produzir fosfato de alumínio que compreende as etapas de misturar uma solução de cloreto de alumínio e uma

solução de fosfato de sódio tribásico para produzir um precipitado de fosfato de alumínio, onde a otimização compreende decantar o precipitado de fosfato de alumínio em uma temperatura na faixa de aproximadamente 50° C a aproximadamente 70° C. Em certas modalidades, a otimização compreende decantar o precipitado de fosfato de alumínio em uma temperatura na faixa de aproximadamente 55° C a aproximadamente 65° C. Em outra modalidade, a otimização compreende decantar o precipitado de fosfato de alumínio em uma temperatura de aproximadamente 62° C. Em ainda outra modalidade, a otimização compreende decantar o precipitado de fosfato de alumínio em uma temperatura de aproximadamente 60° C.

[0016] Como discutido acima, essas otimizações reduzem significativa e inesperadamente o tempo de decantação do fosfato de alumínio. Por exemplo, em certas modalidades, a etapa de decantação pode ser executada entre aproximadamente 2 e 5 dias se comparado a entre aproximadamente 7 e 10 dias em temperaturas mais baixas. Em um conjunto de modalidades, a etapa de decantação pode ser executada entre aproximadamente 2 e 4 dias, por exemplo, entre aproximadamente 2 e 3 dias ou entre aproximadamente 3 e 4 dias. Será apreciado que a etapa de decantação pode ser executada enquanto dentro dessas faixas ou até por períodos mais longos (por exemplo, 5 dias ou mais) ou mais curtos (por exemplo, menos de 2 dias). Períodos de decantação mais longos geralmente produzirão rendimentos maiores se comparado a períodos de decantação mais curtos; entretanto, haverá também uma troca de eficácia da duração aumentada do processo de fabricação total. Consequentemente, o tempo de decantação ótimo precisará levar ambos os fatores em conta e também dependerá da temperatura de decantação exata.

[0017] Em outro aspecto, a presente invenção é direcionada a um processo para produzir fosfato de alumínio dentro de um sistema fe-

chado. O uso do sistema fechado otimiza significativamente a garantia de esterilidade do processo. Isso torna o processo geral mais eficaz desde que ele reduz o número de testes de esterilidade que necessitam ser executados e não mais exige que o processo seja executado dentro de um ambiente de ar claro. Como usado aqui, o termo “sistema fechado” significa um sistema no qual a exposição da mistura reacional contida dentro de um ou mais recipientes ao ambiente externo (por exemplo, ar, oxigênio, micróbios, e seus similares) é reduzida ou impedida. De acordo com esse aspecto, o processo inventivo compreende as etapas de (i) misturar uma solução de cloreto de alumínio e uma solução de fosfato de sódio tribásico para produzir uma suspensão de fosfato de alumínio e um sobrenadante; (ii) decantar a suspensão de fosfato de alumínio para produzir um precipitado de fosfato de alumínio; e (iii) remover o sobrenadante, onde as etapas de misturar, decantar e remover são executadas dentro de um sistema fechado.

[0018] Em certas modalidades, na etapa de mistura do processo acima, a solução de fosfato de sódio tribásico é adicionada à solução de cloreto de alumínio. A solução de fosfato de sódio tribásico é tipicamente adicionada à solução de cloreto de alumínio até que o pH esteja na faixa de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 5,4 (isto é, aproximadamente $5,2 \pm 0,2$). Em certas modalidades, a solução de fosfato de sódio tribásico é adicionada à solução de cloreto de alumínio até que o pH esteja na faixa de aproximadamente 5,1 a aproximadamente 5,3.

[0019] Em certas modalidades, a etapa de mistura do processo acima é executada em uma temperatura na faixa de aproximadamente 20° C a aproximadamente 30° C. Em certas modalidades, a etapa de mistura é executada em uma temperatura de aproximadamente 25° C.

[0020] Em certas modalidades, a etapa de mistura do processo acima compreende misturar a solução de cloreto de alumínio e a solu-

ção de fosfato de sódio tribásico com uma hélice girando em aproximadamente 150 rpm a aproximadamente 350 rpm. Em certas modalidades, a etapa de mistura do processo acima compreende misturar a solução de cloreto de alumínio e a solução de fosfato de sódio tribásico com uma hélice girando em aproximadamente 200 rpm a aproximadamente 300 rpm. Em ainda outras modalidades, a etapa de mistura do processo acima compreende misturar a solução de cloreto de alumínio e a solução de fosfato de sódio tribásico com uma hélice girando em aproximadamente 250 rpm.

[0021] Em certas modalidades, a etapa de decantação do processo acima é executada em uma temperatura na faixa de aproximadamente 50° C a aproximadamente 70° C, isto é, como descrito no primeiro aspecto da invenção. Em certas modalidades, a etapa de decantação do processo acima é executada em uma temperatura na faixa de aproximadamente 55° C a aproximadamente 65° C. Em outra modalidade, a etapa de decantação é executada em uma temperatura de aproximadamente 62° C. Em ainda outras modalidades, a etapa de decantação é executada em uma temperatura de aproximadamente 60° C.

[0022] Em certas modalidades, a etapa de decantação pode ser executada entre aproximadamente 2 e 5 dias. Por exemplo, a etapa de decantação pode ser executada entre aproximadamente 2 e 4 dias, por exemplo, entre aproximadamente 2 e 3 dias ou entre aproximadamente 3 e 4 dias. Será apreciado que a etapa de decantação pode ser executada enquanto desejado dentro dessas faixas ou até por períodos maiores (por exemplo, 5 dias ou mais) ou menores (por exemplo, menos do que 2 dias).

[0023] Em certas modalidades, a etapa de remoção compreende decantar o sobrenadante. Em certas modalidades, a etapa de remoção compreende remover o sobrenadante durante o tubo imerso.

[0024] Em certas modalidades, o processo acima adicionalmente compreende esterilizar o precipitado de fosfato de alumínio, onde as etapas de misturar, decantar, remover e esterilizar são todas executadas dentro de um sistema fechado. Em certas modalidades, a etapa de esterilizar compreende aquecer o precipitado de fosfato de alumínio a uma temperatura em excesso de aproximadamente 110° C. Em certas modalidades, a etapa de esterilizar compreende aquecer o precipitado de fosfato de alumínio a uma temperatura em excesso de aproximadamente 121° C.

[0025] Em certas modalidades, o processo acima adicionalmente compreende ajustar o pH do precipitado de fosfato de alumínio, onde as etapas de misturar, decantar, remover, esterilizar e ajustar são todas executadas dentro de um sistema fechado. Em certas modalidades, a etapa de ajustar compreende ajustar o pH do precipitado de fosfato de alumínio para estar na faixa de aproximadamente 5,6 a aproximadamente 6,0. Em certas modalidades, a etapa de ajustar compreende ajustar o pH do precipitado de fosfato de alumínio para estar na faixa de aproximadamente 5,7 a aproximadamente 6,0. Em certas modalidades, a etapa de ajustar compreende ajustar o pH do precipitado de fosfato de alumínio para estar na faixa de aproximadamente 5,8 a aproximadamente 6,0. Em certas modalidades, a etapa de ajustar compreende ajustar o pH do precipitado de fosfato de alumínio para estar na faixa de aproximadamente 5,9 a aproximadamente 6,0.

[0026] Os processos inventivos podem ser usados para produzir fosfato de alumínio tendo uma variedade de concentrações; entretanto, em certas modalidades, a concentração de fosfato de alumínio após a etapa acima de misturar estar na faixa de aproximadamente 9,0 a 16,5 mg/ml.

[0027] Em certas modalidades, após a etapa acima de ajustar o pH, o precipitado de fosfato de alumínio inclui partículas com uma dis-

tribuição de tamanho tendo um $D[v, 0,5]$ (definições de valores de distribuição de tamanho particular são apresentadas no Exemplo 1 abaixo) na faixa de aproximadamente 3,0 μm a aproximadamente 9,0 μm , ou de aproximadamente 4,5 μm a aproximadamente 6,5 μm . Em certas modalidades, após a etapa acima de ajustar o pH, o precipitado de fosfato de alumínio inclui partículas com uma distribuição de tamanho tendo um $D[v, 0,1]$ de mais de aproximadamente 1,5 μm , ou de mais de aproximadamente 2,0 μm . Em certas modalidades, após a etapa acima de ajustar o pH, o precipitado de fosfato de alumínio inclui partículas com uma distribuição de tamanho tendo $D[v, 0,9]$ de menos de aproximadamente 25 μm , de menos de aproximadamente 24 μm , de menos de aproximadamente 23 μm , de menos de aproximadamente 22 μm , de menos de aproximadamente 21 μm , ou de menos de aproximadamente 20 μm .

[0028] A presente invenção será mais especificamente ilustrada com relação aos seguintes exemplos. Entretanto, dever-se-ia entender que a presente invenção não está limitada de maneira alguma por esses exemplos.

Exemplos

Exemplo 1 – Descrição de Sistema/Processo

[0029] Esse exemplo descreve um sistema e processo exemplificado para executar alguns dos processos que são descritos aqui, tal como o representado na FIG. 2. Neste exemplo, a preparação e o loteamento do processo de fabricação de AlPO_4 são controlados via um Sistema de Preparação de Meios (MPS ou Plataforma de Preparação de Meios). O MPS consiste de 3 recipientes de loteamento (de 50 L, 200 L e 800 L), alojamentos de filtro, e tubulações com conexões sanitárias. O processo de fabricação utiliza ambos os recipientes de 200 L (V12) e de 800 L (V13). AlPO_4 é desse modo produzido em lotes de 800 L (volume total) produzindo 350 kg de precipitado de fosfato de

alumínio. O precipitado final é transferido a tambores de 50 L.

[0030] As matérias-primas usadas nesse processo incluíram:

[0031] - Fosfato de sódio tribásico (20,4 kg)

[0032] - WFI™ (para dissolução de fosfato de sódio tribásico) (107,4 L)

[0033] - Hexaidrato de cloreto de alumínio (10,1 kg)

[0034] - WFI™ (para dissolução do hexaidrato de cloreto de alumínio) (91,6 L)

[0035] - Hidróxido de sódio a 5 N (para ajustamento de pH)

[0036] A primeira etapa no processo foi atingir o peso de 20,4 kg de fosfato de sódio tribásico no recipiente mantendo a matéria-prima e colocá-lo à parte. A seguir, 10,1 kg de hexaidrato de cloreto de alumínio foram pesados em um recipiente mantendo matéria-prima e colocados à parte.

[0037] A fórmula automatizada para fosfato de alumínio foi iniciada e o sistema passou por um teste de pressão. Os recipientes V12, V13, e as linhas de transferência associadas foram então pré-enxaguadas com WFI™. Após o enxágue com WFI™, os filtros de controle de particulado foram localizados em linha em ambos o “lado de filtração” e “lado de clarificação” da linha de transferência entre V12 e V13. Antes do volume de amostragem, a porta de amostra pré-esterilizada com C-Flex foi conectada ao recipiente V13.

[0038] O sistema então passou por outro teste de manutenção de pressão. Mediante o término da manutenção de pressão, o sistema foi purgado com um total de 50-L de WFI.

[0039] Um alvo de 162,0 L de WFI foi então adicionado a V12. O WFI foi então transferido a V13. 100 L adicionais de WFI foram adicionados a V12 e então transferidos a V13. A temperatura reacional final crucial de 25° C foi estabelecida em V13.

[0040] Um alvo de 63,0 L de WFI foi adicionado ao recipiente V12.

O agitador associado com V12 foi iniciado e foi controlado para um alvo de 350 rpm. O cloreto de alumínio pré-pesado foi adicionado a V12 (após uma temperatura de dissolução de 35 a 45° C ser alcançada). Após a dissolução inicial do cloreto de alumínio, V12 foi elevado até um alvo de 91,6 L de WFI e misturado por 5 a 35 minutos antes de verificação visual de que o cloreto de alumínio foi dissolvido. O recipiente V13 então começou a agitar o WFI com um ponto de ajuste de 250 rpm. O cloreto de alumínio foi então transferido de V12 a V13.

[0041] Um alvo de 150 L de WFI foi adicionado a V12. O WFI foi então transferido para V13 e mais 150 L de WFI foram adicionados a V12 e novamente transferidos a V13. A temperatura reacional final crucial de 25° C foi estabelecida em V13.

[0042] Um alvo de 70 L de WFI foi adicionado a V12. O agitador associado com V12 foi iniciado e foi controlado até um alvo de 350 rpm. O fosfato de sódio tribásico pré-pesado foi adicionado a V12 (após uma temperatura de dissolução de 35 a 45° C ser alcançada). Após a dissolução inicial do fosfato de sódio tribásico, V12 foi elevado a um alvo de 107,4 L de WFI e misturado por 5 a 35 minutos antes de verificação visual de que o fosfato de sódio tribásico ter dissolvido.

[0043] O fosfato de sódio tribásico foi então transferido de V12 para V13 e misturado com o cloreto de alumínio até que um pH alvo de 5,20 fosse alcançado. Após uma hora, o pH foi novamente ajustado para um pH alvo de 5,20 adicionando fosfato de sódio tribásico. Uma vez que o pH foi estabilizado, o agitador diminui a velocidade para 150 rpm e o ponto de ajuste da temperatura foi alterado para 60° C. O agitador foi desligado após a mistura por uma hora. O fosfato de sódio tribásico restante foi drenado a partir de V12, então os filtros de particulado foram removidos e substituídos com tampas CIP, e V12 e as linhas de transferência passaram pelo procedimento CIP.

[0044] O fosfato de alumínio decantou em V13 para abaixo do tu-

bo imerso em uma temperatura alvo de 60° C. Uma vez que a decantação estava completa (abaixo do tubo imerso), o sobrenadante foi decantado a partir de V13 via o tubo imerso. A válvula de amostra para V13 foi então manualmente esterilizada por 15 minutos a $\geq 121,1^{\circ}$ C. Uma vez que a válvula de amostra foi esterilizada e resfriada para abaixo de 60° C, duas amostras biocarregadas de 25 mL foram obtidas.

[0045] O fosfato de alumínio em V13 foi então esterilizado por 30 minutos em $\geq 121,1^{\circ}$ C seguido por esterilização da linha de adição base (0,381 m (15 pol) em uma temperatura de $\geq 121,1^{\circ}$ C). Usando o dispositivo de conexão estéril, uma garrafa de 1 L de NaOH a 5 N foi conectada à linha de adição base.

[0046] Uma vez que o fosfato de alumínio tenha resfriado até uma temperatura alvo de 25° C, o pH do fosfato de alumínio foi ajustado a um alvo de 5,95. Até 16 tambores de 50 L pré-lavados e esterilizados foram conectados a suas respectivas localizações de estações de preenchimento.

[0047] As linhas de transferência foram então esterilizadas por 15 minutos em $\geq 121,1^{\circ}$ C. A válvula de amostra para V13 foi então esterilizada por 15 minutos em $\geq 121,1^{\circ}$ C. Uma vez que a válvula de amostra foi esterilizada e resfriada para menos de 60° C, duas amostras de volume de 30 mL foram obtidas para tamanho de partícula, pH, concentração de alumínio, e esterilidade.

[0048] Após as amostras serem obtidas, o fosfato de alumínio foi transferido para os tambores de 50 L. Uma vez que a transferência estava completa, V13 e as linhas de transferência passaram por um CIP químico completo. Todos os tambores de 50 L foram então amostrados quanto à concentração de alumínio e esterilidade (entretanto, na prática, somente o primeiro e o último tambores são amostrados quanto à esterilidade). Os estabilizadores magnéticos foram afixados

em cada tambor e os tambores foram armazenados em um ambiente resfriado.

Exemplo 2 – Ensaio das Características Físicas, Químicas e Funcionais de AlPO_4

[0049] Três lotes de AlPO_4 produzidos de acordo com o processo da FIG. 1 e três lotes de material produzidos de acordo com o processo da FIG. 2 (e Exemplo 1) foram analisados para assegurar que os materiais produzidos por ambos os processos foram comparáveis. Os ensaios usados foram selecionados baseados nas características físicas, químicas e funcionais de AlPO_4 . Esses estudos de caracterização foram executados em adição ao teste de liberação e todos os lotes alcançaram os critérios de liberação para AlPO_4 . Os dados dos estudos de equivalência são resumidos como segue:

[0050] Análise de tamanho de partícula: A análise de tamanho de partícula de adjuvantes de volume e a vacina formulada foram executadas por dispersão de luz laser em um analisador de tamanho de partícula Malvern (Mastersizer, Serial 2.15). Uma suspensão de pó em um solvente (por exemplo, isopropanol) foi medida com um feixe de laser de baixo ângulo, e a distribuição de tamanho de partícula foi calculada. O diâmetro médio de volume $D[v, 0,5]$ é o diâmetro onde 50% da distribuição está acima e 50% está abaixo da média. Preferencialmente, duas determinações de tamanho de partícula média não difeririam em mais de 5% em relação uma a outra. A forma das curvas nas duas determinações deveria também preferencialmente ser a mesma. $D[v, 0,9]$ é o diâmetro onde 90% da distribuição de volume está abaixo desse valor. $D[v, 0,1]$ é o diâmetro onde 10% da distribuição de volume está abaixo desse valor. A amplitude é a largura da distribuição baseada em 10%, 50% e 90% quantile (Amplitude = $\{D[v, 0,9] - D[v, 0,1]\} / D[v, 0,5]$). Antes de cada medição, o instrumento foi padronizado usando esferas de um tamanho molecular conhecido representando 2 μm e 10

μm . Determinou-se que os tamanhos de partícula de AlPO_4 (antes e após a formulação em Prevnar®) feitos por ambos os processos foram comparáveis e dentro das especificações que são listadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Tamanho de Partícula

Antes da formulação	Após a formulação
$D[v, 0,1] = \geq 2,0 \mu\text{m}$	$D[v, 0,1] = \geq 2,0 \mu\text{m}$
$D[v, 0,5] = 3,7 - 8,4 \mu\text{m}$	$D[v, 0,5] = 4,5 - 6,4 \mu\text{m}$
$D[v, 0,9] = \leq 20,0 \mu\text{m}$	$D[v, 0,9] = \leq 22,0 \mu\text{m}$

[0051] Ensaio de Ligação com Proteína: O percentual de proteína ligado a AlPO_4 foi determinado medindo-se a concentração de proteína total antes de contato com o pelete de alumínio e após o tratamento com o pelete de alumínio. O teor de proteína no pelete foi medido seguindo ressuspensão em solução salina. A ligação percentual média da proteína carreadora CRM₁₉₇ formulada com AlPO_4 a partir do processo da FIG. 1 ($97,5 \pm 0,8$) e formulada com AlPO_4 a partir do processo da FIG. 2 ($96,1 \pm 1,4$) foram comparáveis. A ligação percentual média de Prevnar® formulada com AlPO_4 a partir do processo da FIG. 1 ($91,5 \pm 1,6$) e formulada com AlPO_4 a partir do processo da FIG. 2 ($91,7 \pm 1,9$) foram também comparáveis.

[0052] Ensaio de Nefelometria: A vacina Prevnar® foi analisada quanto à antigenicidade por nefelometria usando citração como um processo para solubilizar o pelete de alumínio. Com base em trabalhos anteriores, sabe-se que somente polissacarídeos conjugados se ligam ao alumínio e não polissacarídeos livres ou sacarídeos ativados. A antigenicidade com o pelete reflete o polissacarídeo que é conjugado. As medições de nefelometria foram conduzidas com o sistema Beckman Array 360 usando anticorpos e elevadas em coelhos. A ligação de conjugados de Prevnar® individuais para AlPO_4 foi medida usando ne-

felometria, e os dados para material feito usando os processos das FIGs. 1 e 2 revelaram-se comparáveis.

[0053] Potencial Zeta/Mobilidade Eletroforética: O potencial zeta e a mobilidade eletroforética foram determinados usando um Zetasizer. O potencial zeta de AlPO_4 a partir do processo da FIG. 1 foi uma média de $4,7 \pm 0,2$ mV ($5,1 \pm 0,1$, $3,5 \pm 0,2$ e $5,5 \pm 0,2$ mV). O potencial zeta de AlPO_4 a partir do processo da FIG. 2 foi uma média de $3,3 \pm 0,3$ mV ($3,6 \pm 0,3$, $2,6 \pm 0,4$, e $3,7 \pm 0,1$ mV).

[0054] Tempo de Decantação: O tempo de decantação foi monitorado medindo-se a alteração na densidade ótica em mais de 30 minutos em um espectrofotômetro (Shimadzu UV 160-IPC) em um comprimento de onda de 645 nm. O tempo/taxa de decantação (A_{645}/min) de AlPO_4 a partir do processo da FIG. 1 foi 0,024, 0,025 e 0,023. O tempo/taxa de decantação (A_{645}/min) de AlPO_4 a partir do processo da FIG. 2 foi 0,027, 0,026 e 0,026.

[0055] A Tabela 2 compara alguns dos parâmetros que são usados nos processos das FIGs. 1 e 2. Como mostrado, o tempo de decantação do precipitado de fosfato de alumínio foi reduzido de aproximadamente 7 a 10 dias para aproximadamente 2 a 5 dias aumentando-se a temperatura de decantação de 25°C para 60°C . Isso representa uma otimização significativa em eficiência. Como descrito no Exemplo 1, as amostras de fosfato de alumínio produzidas por ambos os processos têm características físicas, químicas e funcionais similares.

Tabela 2 – Comparação de Parâmetros de Dois Processos

Processo	FIG. 1	FIG. 2
Temperatura reacional	25°C	25°C
Velocidade de mistura durante a reação	Reostato configurado em 7/14	250 rpm
Equipamento de mistura	Vibromisturador	Hélice Marine

Tamanho/tipo do recipiente para decantação	Tambor de 200 L x 5	Tanque de 1000 L – V13
Tempo de decantação	7 a 10 dias	62 a 112 horas
Temperatura de decantação	25° C	60° C
Procedimento para remover o sobrenadante	Tubo imerso em tambores	Tubo imerso em tanque
Número de tanques no processo de AlPO_4	2	2
Carregamento	Carregamento de AlPO_4 do tambor para o tanque 101	Não exigido
Velocidade de mistura após a remoção do sobrenadante	Reostato configurado em 8/93	250 rpm
Esterilização nas condições do local (SIP)	$\geq 121^\circ \text{C}$, 45 min	$\geq 121,1^\circ \text{C}$, 30 min
Tempo de mistura durante o ajuste final de pH	1 a 2 horas a 25°C	2 a 4 horas a 25°C
Tamanho do tambor transferido	50 L x 8	50 L x 13
Sistema de Amostragem	Fechado	Fechado
Amostragem de Esterilidade	Todos os Tambores	Primeiro e Último tambores
Temperatura de armazenamento	2 a 8°C	2 a 8°C
Ajuste final do pH em processo	5,6 a 6,0	5,6 a 6,0

Exemplo 3 – Estímulo dos Meios

[0056] Os estudos de estímulo dos meios foram executados na

Plataforma de Preparação de Meios (MPS) do Exemplo 1 usando Caldo de Soja Trípico (TSB). Esses estudos demonstraram um alto grau de garantia de que as operações de esterilização para o MPS mantiveram a esterilidade e protegeram contra o ingresso microbiano durante a fabricação, ajustamento de pH, amostragem e então transferência de soluções estéreis em tambores. Cada tentativa de estudo de meios consistiu de esterilização, ajustamento estéril do pH usando hidróxido de sódio a 5 N e transferência estéril do TSB em dezesseis tambores. A transferência estéril ocorreu após uma manutenção estéril ≥ 10 horas. A manutenção estéril estabeleceu a quantidade total de tempo que o sistema pode ser mantido após as operações de esterilização terem sido executadas (11 horas). TSB foi coletado em uma garrafa de 1 L a partir de todas as dezesseis localizações de estação de preenchimento e passaram por incubação completa. As amostras obtidas a partir das localizações #1 e #16 são representativas do processo de transferência de solução inteira em tambores. Por causa do projeto de sistema fechado da Plataforma de Preparação de Meios do Exemplo 1 e os resultados bem sucedidos desse estudo, o teste de esterilidade necessita somente ser executado no primeiro e último tambores durante a produção comercial, ao invés de em cada tambor, como foi necessário com o processo representado na FIG. 1.

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para produzir fosfato de alumínio, caracterizado pelo fato de que compreende:

misturar uma solução de cloreto de alumínio e uma solução de fosfato de sódio tribásico para produzir uma suspensão de fosfato de alumínio e um sobrenadante, em que a solução de fosfato de sódio tribásico é adicionada à solução de cloreto de alumínio até o pH estar na faixa de 5,0 a 5,4;

decantar a suspensão de fosfato de alumínio para produzir um precipitado de fosfato de alumínio, em que a etapa de decantação é realizada a uma temperatura na faixa de 50° C a 70° C, durante um período entre 2 dias a 5 dias;

remover o sobrenadante;

esterilizar o precipitado de fosfato de alumínio, em que a etapa de esterilização compreende aquecer o precipitado de fosfato de alumínio a uma temperatura superior a 110° C; e

ajustar o pH do precipitado de fosfato de alumínio para estar na faixa de 5,6 a 6,0;

em que, após a etapa de ajustar o pH, o precipitado de fosfato de alumínio inclui partículas com uma distribuição de tamanhos tendo um $D [v, 0,5]$ na faixa de 3,0 μm a 9,0 μm ;

e em que as etapas de misturar, decantar, remover, esterilizar e ajustar são realizadas dentro de um sistema fechado.

2. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a solução de fosfato de sódio tribásico é adicionada à solução de cloreto de alumínio até que o pH esteja na faixa de 5,1 a 5,3.

3. Processo, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que a etapa de misturar é realizada em uma temperatura na faixa de 20° C a 30° C.

4. Processo, de acordo com a reivindicação 3, caracterizado pelo fato de que a etapa de misturar é realizada em uma temperatura de 25° C.

5. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que a etapa de misturar compreende misturar a solução de cloreto de alumínio e a solução de fosfato de sódio tribásico com uma hélice girando em 150 rpm a 350 rpm.

6. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que a etapa de misturar compreende misturar a solução de cloreto de alumínio e a solução de fosfato de sódio tribásico com uma hélice girando em 200 rpm a 300 rpm.

7. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que a etapa de misturar compreende misturar a solução de cloreto de alumínio e a solução de fosfato de sódio tribásico com uma hélice girando em 250 rpm.

8. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que a etapa de decantar é realizada em uma temperatura na faixa de 55° C a 65° C.

9. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado pelo fato de que a etapa de decantar é realizada em uma temperatura de 60° C.

10. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 9, caracterizado pelo fato de que a etapa de decantar é realizada por um período entre 3 dias a 4 dias.

11. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 10, caracterizado pelo fato de que a etapa de remover compreende remover o sobrenadante usando um tubo imerso.

12. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado pelo fato de que a etapa de esterilizar compreende aquecer o precipitado de fosfato de alumínio a uma tempera-

tura superior a 121° C.

13. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, caracterizado pelo fato de que o pH do precipitado de fosfato de alumínio é ajustado para estar na faixa de 5,8 a 6,0.

14. Processo, de acordo com a reivindicação 13, caracterizado pelo fato de que o pH é ajustado para estar na faixa de 5,9 a 6,0.

15. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado pelo fato de que a concentração de fosfato de alumínio após a etapa de misturar está na faixa de 9,0 a 16,5 mg/ml.

16. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado pelo fato de que após a etapa de ajustar o pH, o precipitado de fosfato de alumínio inclui partículas com uma distribuição de tamanho tendo um D [v, 0,5] na faixa de 4,5 µm a 6,5 µm.

17. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado pelo fato de que após a etapa de ajustar o pH, o precipitado de fosfato de alumínio inclui partículas com uma distribuição de tamanho tendo um D [v, 0,1] maior que 1,5 µm.

18. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado pelo fato de que após a etapa de ajustar o pH, o precipitado de fosfato de alumínio inclui partículas com uma distribuição de tamanho tendo um D [v, 0,1] maior que 2,0 µm.

19. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado pelo fato de que após a etapa de ajustar o pH, o precipitado de fosfato de alumínio inclui partículas com uma distribuição de tamanho tendo um D [v, 0,9] menor que 25 µm.

20. Processo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado pelo fato de que após a etapa de ajustar o pH, o precipitado de fosfato de alumínio inclui partículas com uma distribuição de tamanho tendo um D [v, 0,9] menor que 20 µm.

21. Processo, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que após a etapa de ajustar o pH, o precipitado de fosfato de alumínio inclui partículas com uma distribuição de tamanho tendo um D [v, 0,5] na faixa de 3,7 μm a 8,4 μm .

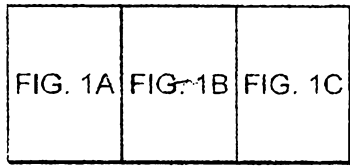


FIG. 1

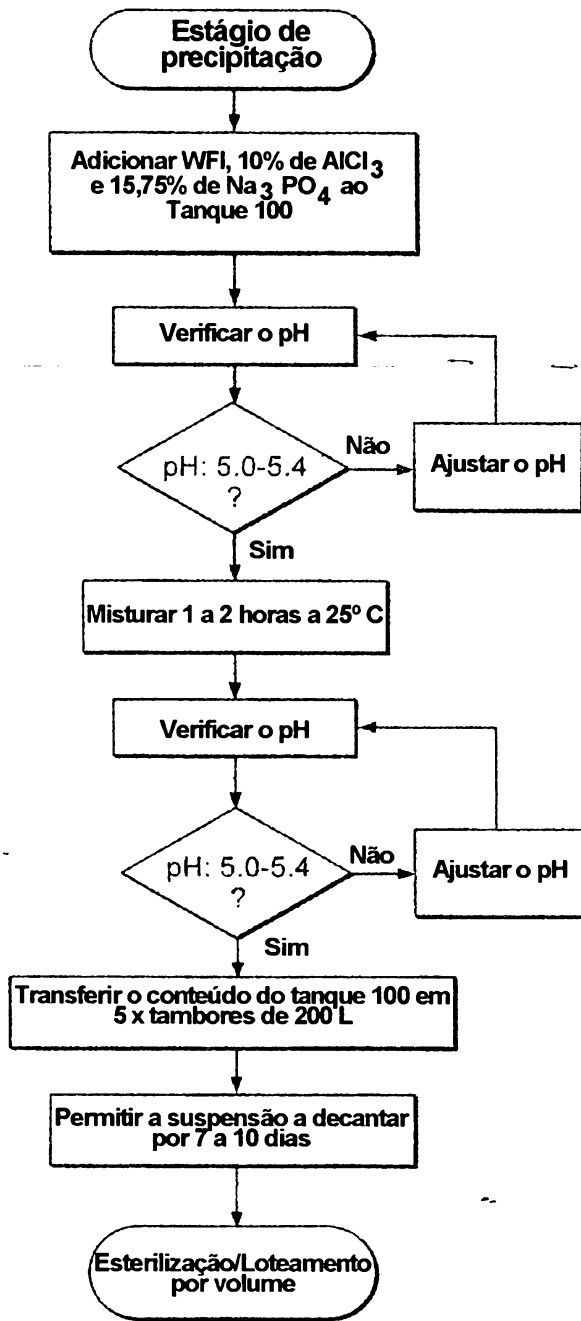


FIG. 1A

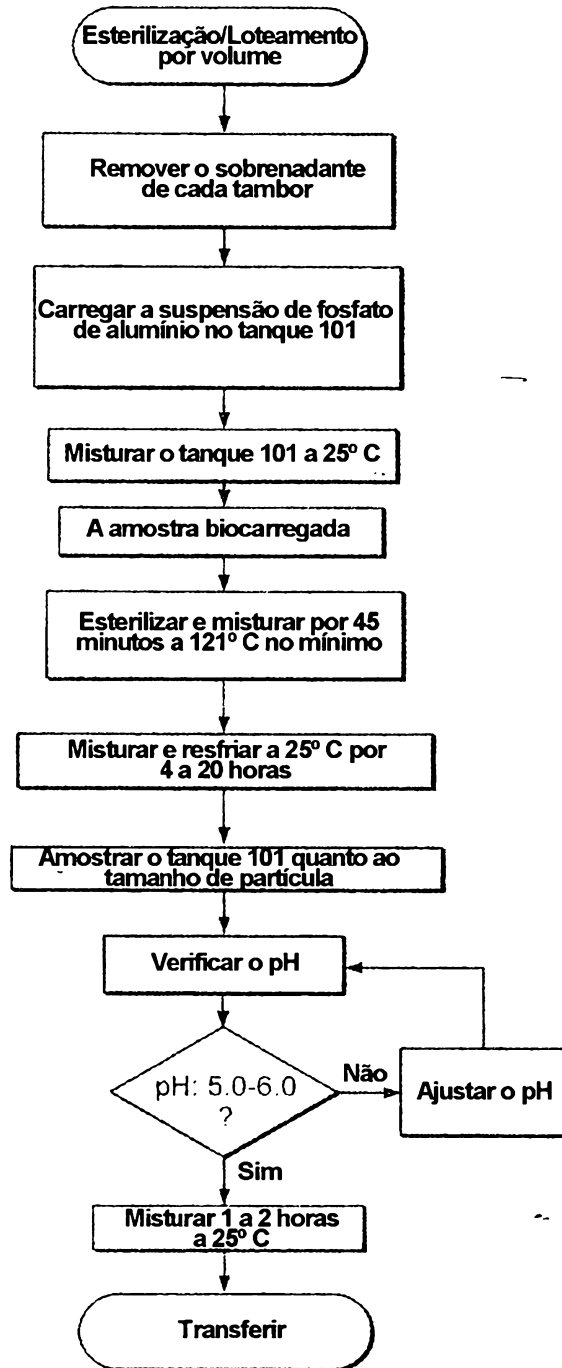


FIG. 1B

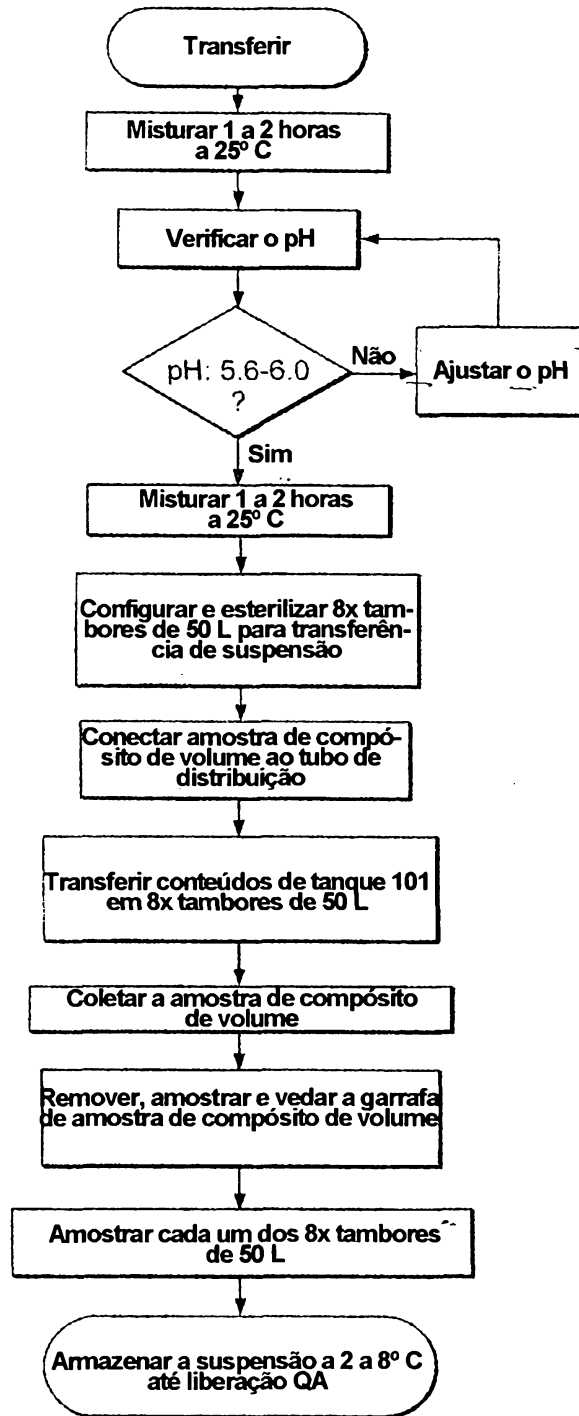


FIG. 1C

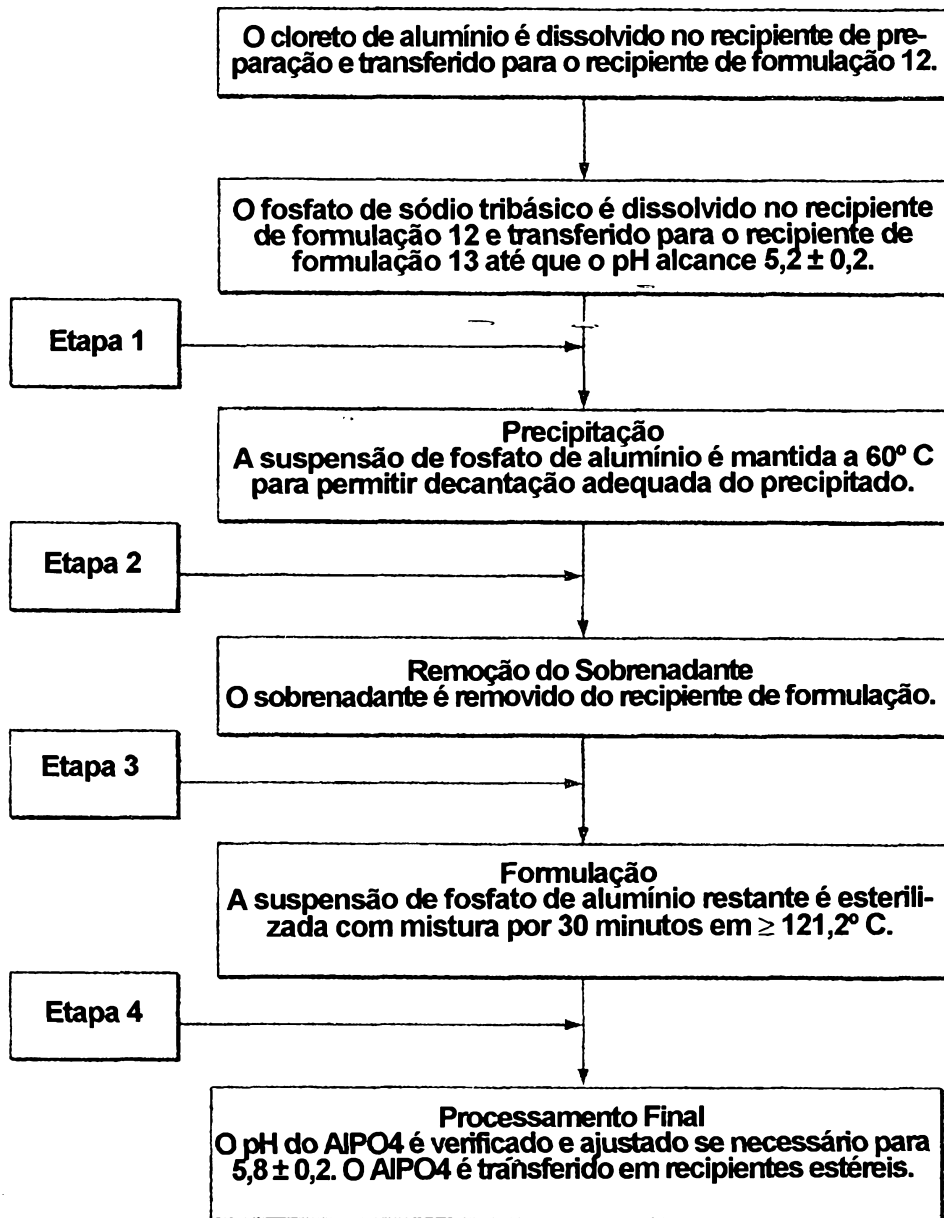


FIG. 2