

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202092048 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.11.09

(51) Int. Cl. A61K 39/39 (2006.01)
C01B 25/36 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2016.06.13

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ГЕЛЯ ФОСФАТА АЛЮМИНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В
ВАКЦИННЫХ СОСТАВАХ

(31) 2963/CNE/2015

(32) 2015.06.12

(33) IN

(62) 201890430; 2016.06.13

(71) Заявитель:
БАЙОЛОДЖИКАЛ И ЛИМИТЕД (IN)

(72) Изобретатель:

Рави Ганапатхи, Нагиредди Гаде,
Маниш Манохар, Викрам Мадхусадан
Парадкар, Махима Датла (IN)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к усовершенствованному способу получения геля фосфата алюминия (AlPhos, алюминийфосфатного геля), в котором растворы соли алюминия и соли в виде щелочного фосфата добавляют к воде, поддерживая pH, при перемешивании с получением осадка, с последующей стерилизацией указанного осадка и, в конечном счете, получением алюминийфосфатного геля.

A1

202092048

202092048

A1

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ГЕЛЯ ФОСФАТА АЛЮМИНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ВАКЦИННЫХ СОСТАВАХ

Область техники

Настоящее изобретение относится к усовершенствованному способу получения геля фосфата алюминия (AlPhos, алюминийфосфатного геля). Оно также относится к применению алюминийфосфатного геля, в особенности в иммуногенных и/или вакцинных композициях, для адсорбции антигена(ов).

Предпосылки к созданию изобретения

Вакцинная композиция может содержать один или более адъювантов. «Адъюванты» представляют собой вещества, которые включаются или вводятся одновременно с антигеном и которые неспецифически усиливают последующие иммунные ответы. Полученные иммунные ответы длятся дольше, поддерживая достаточные уровни антител, в подвергнутой введению популяции. По практическим и экономическим причинам этой профилактической иммунизации необходимо достичь с помощью минимального числа введений и с использованием минимального количества антигена, совместимого с эффективной иммунизацией. Природа этих адъювантов может быть неорганической, как квасцы, такие как фосфат алюминия и гидроксид алюминия, которые чаще всего используются в вакцинах для людей, и органической, как сквален.

В ветеринарных вакцинах обычно используются масляные адъюванты. Вакцина, используемая для профилактики гриппа, вызываемого вирусом H5N1, который обычно именуют птичьим гриппом или «птичьим гриппом», содержит адъювант AS03, эмульсию типа масло-В-воде. Адъювант AS03 состоит из масляных соединений D,L-альфа-токоферола (витамина Е), сквалена, эмульгатора - полисорбата-80, который помогает ингредиентам смешиваться и не дает им разъединяться, и воды, содержащей небольшие количества солей.

Соли алюминия широко используются с 1930-х годов. Единственными адъювантами, разрешенными Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств для применения в вакцинах для людей, являются содержащие алюминий

адъюванты, благодаря их долгой истории безопасного и эффективного применения. Glenny и др. описали эффект соединений алюминия в качестве адъюванта (Glenny AT, Pope CG Waddington H, Wallace U. Immunological Notes XVII to XXIV J. Pathol., 29, 31-40, 1926).

Несмотря на это, содержащие алюминий адъюванты были описаны как трудные для производства с воспроизводимыми физико-химическими свойствами. Scholtz и др., в 1984 году, получили чистый фосфат алюминия, используя эквимольные количества хлорида алюминия и тринатрийфосфата.

Алюминийфосфатный гель используют в составах жидкой пентавалентной вакцины (LPV) в качестве «адъюванта», помогающего усилить иммуногенные ответы на поверхностный антиген вируса гепатита-В, дифтерийный и столбнячные анатоксины, которые адсорбированы на частицах геля, а также, возможно, на цельноклеточные коклюшные антигены. Соли алюминия используются в вакцинах DTap, противопневмококковой конъюгатной вакцине и вакцинах против гепатита В. Несмотря на поиск альтернативных адъювантов, соединения алюминия (фосфат и гидроксид алюминия) будут по-прежнему использоваться в качестве адъювантов для вакцин для людей в течение многих лет из-за их хорошей репутации, заключающейся в безопасности, низкой стоимости и адъювантности с рядом антигенов.

Два способа широко используются для получения вакцин и анатоксинов с соединениями алюминия - *in situ* осаждение соединений алюминия в присутствии антигена (первоначально разработанное для очистки анатоксинов путем осаждения квасцами) и адсорбция антигена на предварительно образованном алюминиевом геле. Адсорбция антигенов на содержащих алюминий адъювантах либо во время *in situ* осаждения содержащих алюминий адъювантов, либо на предварительно образованных алюминиевых гелях зависит от физических и химических характеристик антигена, типа содержащего алюминий адъюванта и условий адсорбции. Эти условия часто упускаются из виду, и плохо приготовленный препарат содержащего алюминий адъюванта не проявляет оптимальной адъювантности.

В SU481539 описан способ получения пористого гидрогеля

алюмофосфата с помощью реакции хлорида алюминия с 85% фосфорной кислотой. Полученный раствор охлаждали до температуры от -8 до -10°C , медленно вводили при энергичном перемешивании, охлаждали до той же температуры, что и окись этилена. Полученный гель нагревали при температуре $50-350^{\circ}\text{C}$ и давлении водяного пара $1-170$ атм в течение 2 часов, промывали дистиллированной водой, сушили и прокачивали при 200°C на воздухе при $650-700^{\circ}\text{C}$ в течение 4-6 часов.

В SU550340 описан способ получения алюминийфосфатного геля с помощью реакции ацетата алюминия с фосфорной кислотой с последующей фильтрацией, промывкой, сушкой при $30-40^{\circ}\text{C}$ в течение 12 часов, затем при $110-120^{\circ}\text{C}$ в течение 4 часов и активацией продукта при 600°C в течение 4 часов. Предлагаемый способ также является сложным и трудоемким, поскольку в его случае требуется длительное время высушивания и активация конечного продукта при высоких температурах.

В SU559895 описан способ получения аморфного гидрата фосфата алюминия с помощью реакции раствора нитрата алюминия и фосфорной кислоты в молярном соотношении $1:0,95-1,05$ с последующей нейтрализацией аммиаком до $\text{pH}=6$ с температурой в диапазоне $15-20^{\circ}\text{C}$. Полученный продукт фильтруют, промывают водой и сушат при температуре $60-80^{\circ}\text{C}$.

В DE 2152228 описан способ получения алюминийфосфатного геля, который включает образование смеси алюмината натрия, фосфорной кислоты и сульфата алюминия в водной среде, реакцию в смеси таким образом, чтобы значение pH полученной суспензии находилось между 5 и 6, и нагревание осаждаемого фосфата алюминия до температуры выше 70°C во время или после его осаждения.

В RU2149138С описан способ получения алюминийфосфатного геля, в котором исходный раствор водорастворимых солей алюминия и фосфорнокислого натрия подвергали фильтрации на установке для микрофильтрации с порогом пропускания $0,22$ мкм и осуществляли реакцию растворимой соли алюминия с фосфатом натрия. Желаемый

продукт осаждали при энергичном перемешивании в течение 15-45 мин при скорости вращения мешалки 3,3-8,3 сек⁻¹. Алюминийфосфатный гель образуется при температуре 18-60°C в течение 5-7 дней, а затем его промывают.

В WO 2009/136233 A1 описан способ получения наночастиц фосфата алюминия с диаметром частиц менее 1000 нм, предпочтительно от 10 до 600 нм, включающий: а. приготовление алюминийфосфатного геля; б. регулирование pH алюминийфосфатного геля; с. подвергание алюминийфосфатного геля уменьшению размера; d. получение наночастиц фосфата алюминия желаемого размера; и е. необязательно суспендирование наночастиц в подходящем буфере, причем алюминийфосфатный гель может быть получен (i) *in situ*, (ii) суспендированием порошка фосфата алюминия в подходящем растворителе или (iii) обработкой эквимольного количества хлорида алюминия тринатрийфосфатом для осуществления образования алюминийфосфатного геля, с последующим удалением хлорида, если требуется.

В патенте США с № 8540955 описан усовершенствованный способ получения содержащего алюминий адъюванта $AlPO_4$, который включает стадии смешивания раствора хлорида алюминия и раствора трехосновного фосфата натрия с получением осадка фосфата алюминия, причем усовершенствование включает осаждение осадка фосфата алюминия при температуре в диапазоне от приблизительно 50°C до приблизительно 70°C.

Burrell и др. [Vaccine. 1999 Jun 4; 17(20-21):2599-603] обнаружили, что адъювант в виде фосфата алюминия оставался аморфным после автоклавирования в течение 30 или 60 мин при 121°C. Однако происходили реакции депротонирования и дегидратации, о чем свидетельствует уменьшение pH. Способность к адсорбции белков, скорость нейтрализации кислот при pH 2,5 и точка нулевого заряда также уменьшались, что указывает на то, что реакции депротонирования/дегидратации приводили к уменьшению площади поверхности.

Burfell и др. [Vaccine. 2000 Sep 15; 19(2-3):275-81] описали способ получения адъюванта в виде фосфата алюминия, в

котором водный раствор, содержащий хлорид алюминия и дигидрофосфат натрия, закачивали в реакционный сосуд с постоянной скоростью. Второй насос вводил раствор гидроксида натрия со скоростью, необходимой для поддержания желаемого pH. Осаждения проводили между pH 3,0 и 7,5 с интервалами pH 0.

Характеристики содержащих алюминий адъювантов, такие как размер частиц геля, адсорбционная способность, изоэлектрическая точка и отношение алюминия к фосфату, зависят от условий образования этих гелей, в том числе порядка добавления реагентов, скорости, с которой добавляют и смешивают реагенты, скорости перемешивания, времени, необходимого для регулирования pH, и шкалы гелеобразования. По этой причине, содержащие алюминий адъюванты были описаны как трудные в производстве физически-химически воспроизводимым образом, что приводит к варьированиям между партиями.

Способы получения алюминийфосфатного геля, описанные в приведенном выше известном уровне техники, являются трудоемкими и сложными. Хотя способы получения адъюванта в виде фосфата алюминия были описаны, в данной области техники сохраняется потребность в способах, которые более эффективны в промышленном масштабе. Кроме того, желательно, чтобы характеристики адъюванта в виде фосфата алюминия, полученного любым новым способом, соответствовали свойствам адъюванта, уже присутствующего в различных продаваемых продуктах, чтобы сделать возможным его применение в вакцинных препаратах.

Цель изобретения

Основная цель настоящего изобретения заключается в разработке усовершенствованного способа получения алюминийфосфатного геля простым и экономичным способом.

Еще одна цель настоящего изобретения заключается в том, чтобы избежать использования добавления щелочи или кислоты для различного регулирования pH, как ранее использовалось в уровне техники, наоборот, регулируют производственные материалы и параметры, чтобы алюминийфосфатный гель образовывался в оптимизированных условиях и концентрации; это позволит избежать использования щелочей, таких как карбонаты и гидроксиды, которые

будут создавать новые виды солей и неоднородную структуру геля, поэтому может потребоваться их удаление.

Еще одна цель настоящего изобретения заключается в разработке способа, который был бы простым, легким в управлении, более быстрым в осуществлении и который позволял бы избежать экстремальных температур или длительных периодов для образования и т.д.

Конечная цель настоящего изобретения заключается в демонстрации пригодности алюминийфосфатного геля, приготовленного как описано, в вакцинных препаратах в качестве адъюванта.

Короче говоря, настоящее изобретение относится к усовершенствованному, масштабируемому способу получения стерильного алюминийфосфатного геля с хорошей эффективностью, но с сокращением времени, усилий и затрат с демонстрацией его пригодности при изготовлении стабильных вакцинных препаратов.

Краткое описание сущности настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к усовершенствованному способу получения алюминийфосфатного геля, который включает:

i) добавление растворов соли алюминия и соли в виде щелочного фосфата к воде, поддерживая pH между 3,0 и 4,0, при перемешивании с получением осадка;

ii) стерилизацию осадка фосфата алюминия со стадии (i) путем нагревания осадка фосфата алюминия до температуры в диапазоне 120-150°C в течение периода времени от 30 до 90 минут; и

iii) получение алюминийфосфатного геля, имеющего частицы с распределением по размеру, характеризующимся $d(50)$ в пределах от 3,0 мкм до 9,0 мкм и средним размером частиц менее 7 мкм, причем этот способ лишен стадий осаждения суспензии фосфата алюминия и удаления супернатанта.

По существу, настоящее изобретение относится к способу получения алюминийфосфатного геля с контролируемым и единообразным распределением частиц по размеру, путем манипулирования концентрациями растворов, параметрами смешивания

и скоростями добавления, но без какой-либо необходимости в стадиях определения размеров и промывки геля.

Подробное описание настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к способу получения алюминийфосфатного геля, который включает стадии добавления соли алюминия и соли в виде щелочного фосфата к воде, поддерживая pH между 3,0 и 4,0 при перемешивании с получением осадка.

Соль алюминия, используемая в соответствии с настоящим изобретением, находится в форме гексагидрата хлорида алюминия.

Щелочной фосфат, используемый в соответствии с настоящим изобретением, представляет собой фосфат натрия, предпочтительно трехосновный фосфат натрия или двухосновный фосфат натрия.

pH поддерживается добавлением определенных концентраций растворов хлорида алюминия и тринатрийфосфата. Предпочтительно используют концентрацию между 400 и 500 миллимоль (мМ), более предпочтительно от 480 до 490 мМ.

Как хлорид алюминия, так и тринатрийфосфат добавляют к воде при перемешивании в течение периода от 10 до 60 минут, предпочтительно от 35 до 55 минут, с добавлением исходного количества раствора хлорида алюминия в течение периода от 1 до 60 секунд, предпочтительно 30 секунд, более предпочтительно от 2 до 10 секунд, перед добавлением раствора фосфата натрия, для поддержания pH осадка между 3,0 и 4,0, предпочтительно между 3,2 и 3,5, почти на протяжении всей реакции, за исключением последней составляющей 5-10% части добавления.

Растворы добавляют к воде при перемешивании со скоростью не менее 400 об/мин, предпочтительно между 500 и 600 об/мин и более подходяще в пределах от среднего до более высокого.

Растворы хлорида алюминия и тринатрийфосфата добавляют к воде при комнатной температуре или при температуре от 20 до 25°C.

Растворы хлорида алюминия и тринатрийфосфата добавляют и смешивают с водой в сосуде, который имеет перегородки, минимум 2 и предпочтительно от 2 до 4 перегородок. Механизм перемешивания установлен сверху, и перемешивающий стержень имеет по крайней мере 3 лопастных колеса, каждое из которых имеет не менее 4

лопастей.

В соответствии со способом согласно настоящему изобретению гель образуется при pH от 3,2 до 3,5 без добавления какой-либо другой кислоты или щелочи. Этот способ может использоваться для обеспечения геля с концентрацией не более 3 мг/мл алюминия, предпочтительно в области до 2,5 мг/мл «алюминия».

Алюминийфосфатный гель, полученный в соответствии с настоящим изобретением, имеет распределение частиц по размеру, в случае которого $d(90)$ находится в области <15 мкм, предпочтительно от 5 до 10 мкм.

Эффективность способа значительно увеличивают, добавляя хлорид алюминия и трехосновный фосфат натрия к воде в постоянном соотношении и поддерживая pH и температуру. Такой способ также делает стадии, необходимые для очистки и концентрирования конечного продукта, т.е. алюминийфосфатного геля, излишними.

В еще одном варианте осуществления способ включает стерилизацию осадка фосфата алюминия со стадии (i) путем нагревания осадка фосфата алюминия до температуры, превышающей 120°C, предпочтительно 120-150°C, в течение периода, составляющего не менее 30 минут и предпочтительно от 30 до 90 минут.

Другим усовершенствованием настоящего изобретения является выполнение стадий способа в замкнутой системе, что увеличивает гарантию стерильности конечного продукта и уменьшает потребность в проверке на стерильность. Это делает весь способ более эффективным, поскольку это уменьшает число проверок на стерильность, которые необходимо выполнить.

В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения асептически в пределах 60 минут, более предпочтительно в пределах 45 минут, с использованием предварительно стерилизованной WFI (воды для инъекций) в сосуде, подвергнутых стерилизации фильтрованием химических растворов и других связанных со способом вспомогательных средств, стерильного алюминийфосфатного геля, который может быть немедленно использован для получения вакцин без какой-либо

очистки, определения размеров или другой проверки.

В еще одном варианте осуществления алюминийфосфатный гель, полученный в соответствии с настоящим изобретением, более устойчив к изменениям размеров частиц и других физико-химических параметров. Кроме того, pH геля после стерилизации находится в диапазоне, более подходящем для смешивания антигенов, которые имеют изоэлектрическую точку (pI) выше 5,0 и, таким образом, не требуют регулировки pH.

В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения стерильного алюминийфосфатного геля, который неожиданно помогает избежать стадий осаждения, и, таким образом, не образуется супернатант. Следовательно, весь способ завершается в пределах периода времени от 1 до 5 часов, около последнего значения, если соблюдается режим стерилизации после приготовления, что делает его простым, экономичным и в эксплуатационном отношении очень возможным.

В предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения алюминийфосфатного геля, который включает стадии:

i) добавления растворов хлорида алюминия и тринатрийфосфата к воде для инъекций при перемешивании в течение 60 минут, предпочтительно от 35 до 55 минут, поддерживая pH образуемого осадка между 3,0 и 4,0, предпочтительно между 3,2 и 3,5;

ii) стерилизации осадка фосфата алюминия со стадии (i) путем нагревания осадка фосфата алюминия до температуры в диапазоне 120–150°C в течение периода времени от 30 до 90 минут; и

iii) получения алюминийфосфатного геля, имеющего частицы с распределением по размеру, характеризующимся $d(50)$ в пределах от 3,0 мкм до 9,0 мкм и средним размером частиц менее 7 мкм, причем этот способ лишен стадий осаждения суспензии фосфата алюминия и удаления супернатанта.

Адъювант в виде фосфата алюминия, полученный в соответствии с настоящим изобретением, оставался стабильным в течение срока годности при хранении при комнатной температуре или ниже

комнатной.

В более предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения алюминийфосфатного геля, имеющего распределение частиц по размеру, в случае которого $d(90)$ находится в области <15 мкм, который включает стадии:

i) добавления растворов хлорида алюминия и тринатрийфосфата в концентрации от 400 до 500 миллимоль (мМ) к воде для инъекций, причем начальное количество раствора хлорида алюминия добавляют за 2-10 секунд до добавления раствора фосфата натрия, при перемешивании в течение 60 минут, предпочтительно от 35 до 55 минут, поддерживая pH образуемого осадка между 3,0 и 4,0, предпочтительно между 3,2 и 3,5;

ii) стерилизации осадка фосфата алюминия со стадии (i) путем нагревания осадка фосфата алюминия до температуры в диапазоне 120-150°C в течение периода времени от 30 до 90 минут; и

iii) получения алюминийфосфатного геля, имеющего частицы с распределением по размеру, характеризующимся $d(50)$ в пределах от 3,0 мкм до 9,0 мкм и средним размером частиц менее 7 мкм, причем этот способ лишен стадий осаждения суспензии фосфата алюминия и удаления супернатанта.

Механизм адъювантности соединений алюминия включает образование депо, эффективное поглощение антигенных частиц, адсорбированных на алюминии, антиген-презентирующими клетками вследствие природы частиц и оптимального размера (<10 мкм); и стимуляцию иммунокомпетентных клеток организма посредством активации комплемента.

В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения вакцины, который включает стадии:

i. добавления растворов подвергнутых стерилизации фильтрованием хлорида алюминия и тринатрийфосфата к предварительно стерилизованной воде для инъекций при перемешивании в течение 60 минут, предпочтительно от 35 до 55 минут, поддерживая pH образуемого осадка между 3,0 и 4,0,

предпочтительно между 3,2 и 3,5;

ii. добавления антигенов к алюминийфосфатному гелю, полученному на стадии (i), незамедлительно без какой-либо очистки, стерилизации, определения размеров.

В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению алюминийфосфатного геля, полученного в соответствии со способом адсорбции антигенов, в вакцинных препаратах.

Преимущества настоящего изобретения

1. Способ согласно настоящему изобретению не включает какое-либо добавление кислоты/щелочи для регулирования pH.

2. Способ не включает какую-либо стадию для уменьшения размера частиц алюминийфосфатного геля.

3. Способ не включает стадии осаждения и, таким образом, удаления супернатанта.

4. Способ не включает какую-либо стадию промывки.

5. Способ позволяет избежать высокотемпературных условий и более длительных периодов для образования.

Настоящее изобретение будет конкретнее проиллюстрировано со ссылкой на следующие примеры. Однако следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается этими примерами каким-либо образом, но включает его варианты в пределах параметров, описанных здесь, как это бывает хорошо известно специалистам в данной области техники.

Пример-1. Приготовление алюминийфосфатного геля.

Растворы хлорида алюминия и тринатрийфосфата в концентрации 485 ± 1 mM использовали в качестве сырья, а воду для инъекций (WFI) в качестве растворителя для получения алюминийфосфатного геля. Оба раствора добавляли, как показано в таблице, приведенной ниже, с постоянной скоростью в течение 45 ± 10 минут к WFI (в объеме 3,1-3,15X объема раствора) при перемешивании при 550 ± 50 об/мин в сосуде, имеющем 2-4 перегородки, установленную сверху мешалку с минимум 3 лопастными колесами на разных высотах, и каждое из которых имеет 4-лопасти. Добавление раствора хлорида алюминия начинали за 2-5 секунд до начала добавления раствора

фосфата натрия для поддержания pH осаждения ниже 3,5 на протяжении всего процесса, за исключением последних 5–10% времени добавления, в течение которого наблюдалось повышение значения pH до приблизительно 5,0. После завершения добавления гель подвергали *in situ* стерилизации с использованием пара при $>121,1^{\circ}\text{C}$ в течение 30–45 минут. pH геля, после стерилизации, уменьшали на ~1 единицу, чтобы достичь приблизительно $4,0 \pm 0,3$.

Таблица 1: Приготовление алюминийфосфатного геля

Исходные растворы	Кол-во/л	Объемы растворов, требуемые для приготовления геля, объем		
		1,8 л	18 л	40 л
Хлорид алюминия (раствор 1)	117,1 г/л	350 мл	3,5 л	7,7 л
Тринатрийфосфат (раствор 2)	184,3 г/л	350 мл	3,5 л	7,7 л
WFI, требуемое кол-во		1,1 л	11 л	24,6 л
Конечная концентрация обеих солей в геле составляет 94,3 мМ; соотношение 1:1				

Алюминийфосфатный гель был получен в масштабе от 1 до 40 литров с использованием вышеописанного способа, воспроизводимо дающего результаты в каждом масштабе при условии, что параметры находятся в заданном диапазоне. В этом способе нет другого осаждения, очистки – т.е. промывки геля с использованием каких-либо буферов для, например, физиологического раствора и т.п., и, следовательно, он является очень простым, прямым и приводит к получению геля, который готов для смешивания. Этот способ, таким образом, доказал свою универсальность, масштабируемость и экономическую эффективность, подтвердив тем самым его пригодность для коммерческого производства.

Пример-2. Размер частиц препарата алюминийфосфатного геля

Определяли размер частиц алюминийфосфатного геля, приготовленного как описано в примере 1, и было установлено, что средний размер частиц находится в области не более 7 мкм, при этом пределы для $d(10)$, $d(50)$ и $d(90)$ составляют >1 мкм, 3–8 мкм и <14 мкм, соответственно, без какой-либо дополнительной стадии обработки, например, гомогенизации, отбора/удаления мелких частиц и т.д. Репрезентативные данные для значений pH и

размеров частиц, вместе со значениями PZC и Дзета-потенциала, установленные во время приготовления партий геля, изготовленных в масштабе 18 л и 40 л, как до, так и после стерилизации, приведены в таблице 2. Данные показывают, что без каких-либо дополнительных требований к способу этот способ доказал свою простоту и воспроизводимость.

Таблица 2: pH, пределы размеров частиц и другие параметры, проверенные на каждой из 3 партий алюминийфосфатного геля (AlPhos Gel), приготовленного в масштабе 18 л и 40 л.

№ партии		18 л						40 л					
		APG 18/01		APG 18/02		APG 18/03		APG 40/01		APG 40/02		APG 40/03	
		BS	AS	BS	AS	BS	AS	BS	AS	BS	AS	BS	AS
pH		5,2	4,3 1	5,2 3	4,1	4,8 8	3,9 1	4,9	4,0 6	5,1	4,2	4,9	3,8 2
Размер частиц (мкм)	Среднее значение	3,64	4,7 5	3,5 9	5,6 4	3,6 8	4,1 8	4,2 6	4,8 5	3,4 2	4,6 3	3,6 4	4,3 3
	d ₁₀	2,07	3,1 5	2,0 7	2,6 8	2,0 1	2,7 1	2,7 3	3,2 6	2,0 3	3,1 9	2,2 8	2,6 6
	d ₅₀	4,77	6,7	4,5 1	7,8 4	4,3 5	5,6 2	4,7 4	6,1 3	3,9 2	6,5 4	4,0 7	5,2 8
	d ₉₀	8,26	10,9	7,7	12,7	8,8 9	9,8 8	7,3 3	10,0	6,7 5	10,2	6,5 4	8,8 3
PZC		5,19	5,4	5,2 3	5,3 9	5,4 8	5,4 4	5,1	5,1 8	5,2 7	5,3 5	5,2 7	5,3 4
Дзета-потенциал @ pH 7,5		-31,1	- 35, 7	- 31, 8	- 32, 0	- 26, 5	- 28, 8	- 33, 5	- 35, 0	- 31, 9	- 32, 4	- 30, 8	- 32, 3
BS=до стерилизации; AS=после стерилизации.													

Пример-3. Представление адъюванта в виде алюминийфосфатного геля в иммуногенных композициях

Алюминийфосфатный гель, приготовленный как описано в примере 1, использовали в препарате жидкой пятивалентной вакцины (LPV), содержащей дифтерийный анатоксин (DT), столбнячный анатоксин (TT), цельноклеточный коклюшный антиген (wP), поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) и конъюгат

полирибозил-рибитол-фосфата *Haemophilus influenzae* типа-b с ТТ (Hib) в качестве антигенных компонентов, в физиологическом растворе в качестве конечного разбавителя. В этом препарате к гелю, полученному как в примере 1, при перемешивании при 200–300 об/мин добавляли один за другим антигены HBsAg, DT и ТТ без необходимости какого-либо регулирования pH, так как это идеальный pH для их адсорбции на геле (адъюванте), согласно литературе и как доказано в наших исследованиях. Затем эту смесь дополняли до 80% физиологическим раствором, необходимым для конечного объемного состава, с последующим добавлением wP; затем всю смесь охлаждали до температуры ниже 10°C и добавляли компонент Hib при перемешивании. Затем конечный объем доводили до требуемого уровня физиологическим раствором. Затем pH смеси, если требуется, регулировали так, чтобы он составлял от 6,2 до 6,5, но в большинстве случаев не было установлено, что это необходимо.

Описанный выше способ был оптимизирован для способа смешивания LPV, используя алюминийфосфатный гель, приготовленный как описано в примере 1, в разных масштабах. С помощью этого способа были изготовлены смеси LPV объемом от 100 мл до 60 л, и все они были проверены и, как было доказано, соответствуют спецификациям для вакцины, включая параметры безопасности и активности каждого антигена, используемого в препарате.

Было также показано, что алюминийфосфатный гель подходит для приготовления жидкой четырехвалентной вакцины (LQV), содержащей дифтерийный анатоксин (DT), столбнячный анатоксин (TT), цельноклеточный коклюшный антиген (wP) и конъюгат полирибозил-рибитол-фосфата *Haemophilus influenzae* типа-b с ТТ (Hib) в качестве антигенных компонентов, в физиологическом растворе в качестве конечного разбавителя. В препарате этой вакцины прослеживаются те же антигены и следуют тем последовательностям их добавления, за исключением того, что не используется HBsAg, который первым добавляют в препарате LPV.

Смеси LPV объемом от 100 мл до 60 л были приготовлены, используя этот способ, и все они были проверены и, как было

доказано, соответствуют спецификациям для вакцины, включая параметры безопасности и активности каждого антигена, используемого в препарате.

Пример 4. Процедура и результаты способности к адсорбции антигенов

Среди антигенов, используемых для приготовления LPV, HBsAg, DT и TT были тремя, которые связываются с алюминийфосфатным гелем. Собственное требование для связывания в LPV для HBsAg составляло >90%, для DT – >28%, а для TT оно составляло >30%. Алюминийфосфатный гель, полученный в разных масштабах, постоянно соответствовал этим требованиям при проверке в случае производства партии геля до 40 л и объема смеси LPV до 60 л. Вариации значений % адсорбции между обеими смесями LPV, полученными с использованием алюминийфосфатного геля, приготовленного в соответствии с описанной в примере 1 процедурой, изготовленного в разных масштабах, являются незначительными. Кроме того, подвергание вакцины воздействию напряженных состояний (37°C в течение 14 дней) не меняло значительно значения % адсорбции. Репрезентативный пример этого свойства геля, изготовленного в разных масштабах (1 л и 18 л) и используемого для смеси LPV в масштабах 2 л и 60 л, вместе с 2-л и 60-л смесями LPV, полученными с использованием Adju-Phos® от Brenntag Biosector (коммерческий поставщик), приведен в таблице 3.

В качестве примера доказательства стабильности смеси гель/LPV, полученной с использованием алюминийфосфатного геля, полученного в соответствии с примером 1, результаты в виде % адсорбции для трех антигенов 4-л смеси LPV, полученной и проверенной в дни 0 (выпуска готового продукта), после инкубации при 37°C в дни 5, 7 и 14 суммированы в таблице 4.

Таблица 3: Результаты в виде % адсорбции, в случае смесей LPV с использованием различных источников гелей и размеров смесей

Номер по порядку	Антиген	Adju-Phos® (Brenntag)	При приготовлении в соответствии с процедурой, описанной
------------------	---------	--------------------------	--

				в примере 1.	
		2 л LPV	60 л LPV	2 л LPV	60 л LPV
1	HBsAg	94,8	99,7	98,8	98,9
2	Дифтерийный анатоксин	47,6	59,6	50,0	58,3
3	Столбнячный анатоксин	41,7	46,7	44,8	46,7

Данные, представленные в таблице 3, подтверждают, что % адсорбции алюминийфосфатного геля, приготовленного в соответствии с описанной в примере 1 процедурой, соответствует таковому для Adju-Phos от Brenntag.

Таблица 4: Результаты в виде % адсорбции – 4 л смеси LPV в момент выпуска готовой продукции (день 0) и после инкубации при 37°C в течение 14 дней

День отбора образца	Дифтерийный анатоксин	Столбнячный анатоксин	HBsAg
День 0	50,0	40,72	96,5
День 5	77,1	53,8	98,7
День 7	41,7	48,6	99,2
День 14	56,8	47,5	98,9

Пример-5. Другие процедуры для характеристики геля и их результаты.

Несколько партий алюминийфосфатного геля, полученного как описано в примере 1, были проанализированы на различные физико-химические свойства, чтобы они были полностью охарактеризованы. Кроме pH, размера частиц и содержания алюминия, было также проверено несколько более параметров, которые, наряду с причинами их анализа, суммированы в таблице 5.

Таблица 5: Проверяемые физико-химические свойства AlPhos геля и основная причина

Параметр	Предел	Влияние/причина анализа
Внешний вид	Белая мутная суспензия, в	Описывает общий физический вид

		которой минеральный носитель имеет тенденцию к медленному оседанию	
Содержание алюминия		Не менее 2 мг/мл	Определяет связывание
Размер частиц (мкм)	Среднее значение	Не более 7	Определяет площадь поверхности, возможность агрегации, связывающую способность
	D ₁₀	≥1	
	D ₅₀	3–8	
	D ₉₀	≤14	
PZC (pI)		5,1±0,5	
Дзета-потенциал (@pH 7,5)		От -28 до -40 мВ	Определяет коэффициент/скорости адсорбции; основной фактор, определяющий агрегацию, также определяет
Способность к адсорбции антигенов		rHBsAg: ≥90%	Определяет относительное распределение антигенов в фазах раствор/гель
		DN: ≥28%	
		TT: ≥30%	
Профиль распределе ния концентраци и примеси	Свободны й алюминий	Не более 50 ч./мл.	Определяет степень чистоты геля
	Раствори мые фосфаты	Не более 0,5% в виде PO ₄	
Удельный вес		1,00–1,03	Определяет вес/единицу
Скорость осаждения		Не более 35%	Определяет

		осаждаемость геля
Осмотическое давление	550±50 мосмоль/кг	Отражает концентрацию растворенных веществ в геле

Репрезентативные количественные данные от шести партий алюминийфосфатного геля, полученных в масштабе 18 л, приготовленных в соответствии с описанной в примере 1 процедурой, для партий валидации способа – партий LPV и LQV приведены в таблицах 6 и 7. Все эти партии соответствовали требованиям для всех параметров, проверенных на обеих стадиях после и до стерилизации; в то время как все партии соответствовали спецификациям для внешнего вида, стерильности и уровней примесей, количественные параметры среди них были проанализированы в этих таблицах.

Таблица 6: Анализ результатов физико-химических параметров. Проверка алюминийфосфатного геля, приготовленного в соответствии с описанной в примере 1 процедурой – стадия до стерилизации

Номер по порядку	Тест		В партиях LPV			В партиях LQV			Анализ		
			LPV -1	LPV -2	LPV -3	LQV -A	LQV -B	LQV -C	Среднее значение	Стандартное отклонение	% CV
1	Размер частиц (мкм)	Среднее значение	3,5 0	3,1 9	3,2 4	3,5 0	3,6 2	3,7 3	3,46	0,21	6,1 0
		D ₁₀	2,0 3	1,8 6	1,9 3	1,9 7	2,1 2	2,2 6	2,03	0,14	7,0 9
		D ₅₀	4,2 7	3,6 7	3,6 8	4,4 9	4,1 9	4,2 9	4,07	0,32	7,7 7
		D ₉₀	7,3 4	6,4 3	6,2 8	7,8 2	7,2 6	7,1 9	7,05	0,59	8,3 1
2	PZC		5,3 3	5,4 4	5,4 1	5,4 9	5,5 0	5,3 6	5,3	5,43	0,0 6
3	Дзета-потенциал (@ pH 7,5)		– 32, 8	– 32, 6	– 31, 8	– 33, 4	– 30, 7	– 33, 7	– 32,3	– 32,3	1,5

4	Скорость осаждения @ 48 часов (в %)	27	25	25	25	25	25	25	25,0	0,0
---	---	----	----	----	----	----	----	----	------	-----

Значения CV (коэффициента вариации) для всех проверенных параметров, без учета индивидуальных пределов распределения размеров частиц, находились в пределах 10% и даже более в случае стадии после стерилизации; это свидетельствовало о большом постоянстве процедуры приготовления геля в пределах шести проанализированных партий, изготовленных в течение 6 месяцев с использованием различных партий исходных материалов. Данные также подтвердили, что только минорные, незначительные изменения в физико-химических параметрах геля происходят после стерилизации.

Таблица 7: Анализ результатов физико-химических параметров. Проверка алюминийфосфатного геля, приготовленного в соответствии с описанной в примере 1 процедурой - стадия после стерилизации

Номер по порядк у	Тест		В партиях LPV			В партиях LQV			Анализы		
			LPV- 1	LPV- 2	LPV- 3	LQV -A	LQV- B	LQV- C	Среднее значение	Стандартное отклонение	% CV
1	Содержание алюминия		2,42	2,42	2,39 5	2,0 5	2,15	2,10	2,2 6	0,17	7, 71
2	pH		3,77	4,28	4,31	3,9 1	4,04	4,21	4,0 9	0,22	5, 32
3	Разме р части ц (мкм)	Средне е значен ие	4,13	3,91	4,00	4,2 4	3,90	4,00	4,0 3	0,13	3, 28
		D ₁₀	2,49	2,57	2,39	2,5 2	2,46	2,38	2,4 7	0,07	3, 00
		D ₅₀	5,48	4,07	4,97	5,7 3	5,15	4,68	5,0 1	0,59	11 ,8 1
		D ₉₀	9,29	7,63	8,45	9,6 3	8,51	7,85	8,5 6	0,78	9, 14
4	PZC		5,33	5,48	5,54	5,4	5,44	5,4	5,4	0,07	1,

					7			4		33
5	Дзета- потенциал (@ pH 7,5)	- 32,8	- 31,2 7	- 33,4 3	- 33, 9	- 33,0 3	- 34,1 7	- 33, 7	0,60	1, 77
6	Удельный вес	1,02 0	1,02 0	1,01 9	Не проверено			Не применимо		
7	Осмотическое давление	528	542	507	Не проверено			Не применимо		
8	Скорость осаждения @ 48 часов (в %)	27	28	28	28	27	28	27, 7	0,52	1, 87

Некоторые из этих параметров для нескольких партий проверялись на протяжении периода хранения геля (до 7 дней) на разных стадиях, а именно: после приготовления, после in-situ стерилизации и после автоклавирования in-situ стерилизованного геля. Репрезентативные данные от одной партии, проверенной в отношении эффекта хранения на различные параметры, суммированы в таблице 8. Данные подтверждают, что параметры не изменяются значительно до 7 дней после стерилизации/автоклавирования. Эти характеристики и их анализ подтверждают единообразие гелей, полученных в разных масштабах, а также подтверждают надежность способа приготовления геля.

Таблица 8: Физико-химические параметры партии алюминийфосфатного геля на различных стадиях приготовления и хранения

Стадия	Размер частиц (мкм)				pH	PZ C	Дзета-потенциал (@ pH 7,5)	Осмотическое давление (мосмоль/л)	Скорость осаждения (%)
	D ₁₀	D ₅₀	D ₉₀	Среднее значение					
После приготовления	2,2 1	4,7 3	8,38	3,7 9	5,5 1	5, 2	- 32,8 7	518	25
После in-situ стерилизации	2,9 0	5,6 0	9,30	4,4 4	4,2 0	5, 0	- 31,9 3	Не провер	28

После автоклавирования in-situ стерилизованного геля (День 0)		2,9 9	5,7 9	9,73	4,5 2	4,2 0	5, 0	– 32,1 0		28
После автоклавирования in-situ стерилизованного геля (День 7)		2,9 4	5,7 9	10,0 4	4,5 4	4,6 5	5, 0	– 34,6 7		28
После автоклавирования только	День 0	2,1 9	4,7 4	8,45	3,7 8	4,3 0	5, 1	– 32,0 0	523	26
	День 7	2,3 3	4,9 2	9,19	3,9 4	4,6 8	5, 2	– 33,2 7	524	25

Пример-6. Эффективность и стабильность AlPhos геля в качестве адъюванта в вакцинных препаратах.

Три партии 60 л LPV были приготовлены с использованием трех различных партий алюминийфосфатного геля, приготовленного как описано в примере 1, и одна 60-л партия LPV была приготовлена с использованием Adju-Phos геля от Brenntag в качестве «контроля» – для сравнения продукта, полученного с использованием описанной в примере 1 процедуры, и AlPhos гелей от Brenntag. Алюминийфосфатный гель был приготовлен в масштабе 18 л с использованием стерилизованных растворов и в стерильном сосуде и перенесен в стерильные стеклянные бутылки для стерилизации автоклавированием; этот стерильный гель был перенесен в сосуд для смешивания для смеси LPV.

Три конечных балка LPV были получены с использованием алюминийфосфатного геля собственного производства со следующими номерами партий (как указано в таблицах 6 и 7 в примере 5): LPV-1, LPV-2 и LPV-3. «Контрольной» партии конечного балка LPV, полученного с использованием Adju-Phos от Brenntag, присвоен номер «LPV-4».

Множество антигенов, используемых для приготовления LPV-1 и LPV-4, было одинаковым, чтобы можно было сравнить влияние геля, полученного в соответствии с настоящим изобретением, и влияние Adju-Phos, имеющегося в продаже, изготовленного Brenntag Biosector.

Результаты всех качественных и количественных тестов

соответствовали критериям приемлемости для соответствующего параметра и, таким образом, подтверждают, что AlPhos гель, приготовленный в соответствии с настоящим изобретением, создавал партии LPV, которые были очень сопоставимы с партиями, полученными с использованием Adju-Phos от Brenntag, тем самым подтверждая пригодность AlPhos геля собственного производства при изготовлении вакцинных препаратов.

Подобно LPV, три конечных балка LQV (вакцины D-T-P-Hib) были также получены с использованием алюминийфосфатного геля, приготовленного в соответствии с настоящим изобретением, со следующими номерами партий (как указано в таблицах 6 и 7 в примере 5): LQV-A, LQV-B и LQV-C. Результаты всех качественных и количественных тестов соответствовали критериям приемлемости (таким же, как для LPV) для соответствующего параметра, тем самым подтверждая, что гель, приготовленный в соответствии с настоящим изобретением для смешивания партий LQV, также был очень единообразным. Эти данные вновь подтверждают пригодность AlPhos геля настоящего изобретения при изготовлении вакцинных препаратов.

Все партии LPV и LQV, полученные как указано выше, загружали в стеклянные флаконы в виде 10 однократных доз (0,5 мл) (всего 5,0 мл) и подвергали исследованиям стабильности в режиме реального времени (2-8°C) и в условиях ускоренных испытаний в виде хранения при температурах (25±2°C). Все параметры тестов, которые были оценены для проверки стабильности, соответствовали спецификациям до 3 месяцев хранения, при последней проверке, в обоих условиях для обеих вакцин; и результаты параметров стабильности, проверенных на загруженных конечных партиях LPV-1 и LPV-4 до составляющего 9 месяцев момента времени при сохранении в условиях хранения в режиме реального времени, снова являются сопоставимыми, что указывает на отсутствие изменения какого-либо из проверенных параметров из-за смены источника AlPhos геля.

Следовательно, доказано, что способ согласно настоящему изобретению для приготовления алюминийфосфатного геля с

использованием уникального процесса является легко воспроизводимым, масштабируемым и очень подходящим для применения в вакцинных препаратах в качестве адъюванта.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Вакцинная композиция, содержащая один или более антигенов, адсорбированных на геле фосфата алюминия, причем гель фосфата алюминия получен способом, включающим следующие стадии:

i) добавление растворов хлорида алюминия и тринатрийфосфата к воде в постоянном соотношении при перемешивании, при поддержании pH от 3,0 до 4,0, без добавления какой-либо другой кислоты или щелочи для регулировки pH, с получением осадка фосфата алюминия;

ii) стерилизация осадка фосфата алюминия, полученного на стадии (i), путем нагревания осадка фосфата алюминия до температуры в диапазоне от 120 до 150°C в течение периода от 30 до 90 минут;

с получением, таким образом, геля фосфата алюминия, имеющего частицы с распределением по размеру, имеющим $d(50)$ в пределах от 3,0 мкм до 9,0 мкм и средний размер частиц менее 7 мкм, причем способ осуществляют без стадий осаждения суспензии фосфата алюминия и удаления супернатанта.

2. Вакцинная композиция по п.1, в которой концентрации используемых растворов хлорида алюминия и тринатрийфосфата находятся в диапазоне от 400 до 500 миллимоль (мМ).

3. Вакцинная композиция по п.1, в которой добавление растворов хлорида алюминия и тринатрийфосфата осуществляют при перемешивании со скоростью не менее 400 об/мин.

4. Вакцинная композиция по п.1, в которой добавление на стадии (i) проводят при комнатной температуре.

5. Вакцинная композиция по п.1, в которой добавление на стадии (i) проводят в течение периода от 10 до 60 минут.

6. Вакцинная композиция, содержащая один или более антигенов, адсорбированных на геле фосфата алюминия, полученная способом, который включает стадии:

i) добавления растворов хлорида алюминия и тринатрийфосфата к воде в постоянном соотношении при перемешивании в течение 60 минут, при поддержании pH от 3,0 до 4,0 без добавления какой-либо другой кислоты или щелочи для регулировки pH, с получением осадка фосфата алюминия;

ii) стерилизации осадка фосфата алюминия, полученного на стадии (i), путем нагревания осадка фосфата алюминия до температуры в диапазоне от 120 до 150°C в течение периода от 30 до 90 минут;

iii) с получением, таким образом, геля фосфата алюминия, имеющего частицы с распределением по размеру, имеющим $d(50)$ в пределах от 3,0 мкм до 9,0 мкм и средний размер частиц менее 7 мкм, причем способ осуществляют без стадий осаждения суспензии фосфата алюминия и удаления супернатанта.

7. Способ получения вакцинной композиции, включающий адсорбцию одного или более антигенов на геле фосфата алюминия, где гель фосфата алюминия получают способом, включающим стадии:

i) добавление растворов хлорида алюминия и тринатрийфосфата к воде в постоянном соотношении при перемешивании, при поддержании pH от 3,0 до 4,0, без добавления какой-либо другой кислоты или щелочи для регулировки pH, с получением осадка фосфата алюминия; и

ii) стерилизации осадка фосфата алюминия, полученного на стадии (i), путем нагревания осадка фосфата алюминия до температуры в диапазоне 120–150°C в течение периода от 30 до 90 минут, с получением, таким образом, геля фосфата алюминия, имеющего частицы с распределением по размеру, имеющим $d(50)$ в пределах от 3,0 мкм до 9,0 мкм и средний размер частиц менее 7 мкм, причем способ осуществляют без стадий осаждения суспензии фосфата алюминия и удаления супернатанта.

8. Способ по п.7, в котором концентрация используемых растворов хлорида алюминия и тринатрийфосфата находится в диапазоне от 400 до 500 миллимоль (мМ).

9. Способ по п.7, в котором добавление растворов хлорида алюминия и тринатрийфосфата проводят при перемешивании со скоростью не менее 400 об/мин.

10. Способ по п.7, в котором добавление на стадии (i) проводят при комнатной температуре.

По доверенности

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference KFN6003BE	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/IN2016/000151	International filing date (<i>day/month/year</i>) 13 June 2016 (13-06-2016)	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 12 June 2015 (12-06-2015)
Applicant BIOLOGICAL E LIMITED		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 4 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
- ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6**bis**(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
- ☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
- ☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
- ☐ as suggested by the applicant
- ☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
- ☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IN2016/000151

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/39 C01B25/36
ADD.

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 C01B

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)

EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BURRELL L S ET AL: "Aluminium phosphate adjuvants prepared by precipitation at constant pH. Part I: composition and structure", VACCINE, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 19, no. 2-3, 15 September 2000 (2000-09-15), pages 275-281, XP027321946, ISSN: 0264-410X [retrieved on 2000-09-15] cited in the application	6,11
Y	page 276, column 1, paragraph 2; table 1	1-5,7,9, 10
A	----- -/--	8



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 November 2016

Date of mailing of the international search report

29/11/2016

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lonnoy, Olivier

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IN2016/000151

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BURRELL L S ET AL: "Aluminium phosphate adjuvants prepared by precipitation at constant pH. Part II: physicochemical properties", VACCINE, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 19, no. 2-3, 15 September 2000 (2000-09-15), pages 282-287, XP027321947, ISSN: 0264-410X [retrieved on 2000-09-15] cited in the application figure 4	6,11
X	----- WO 2013/078102 A1 (MERCK SHARP & DOHME [US]; THIRIOT DAVID S [US]; AHL PATRICK L [US]; CA) 30 May 2013 (2013-05-30)	6,11
Y	claim 13; examples 3,4; tables 10,13 -----	1-5,7,9, 10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IN2016/000151

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013078102 A1	30-05-2013	EP 2782594 A1	01-10-2014
		KR 20140100530 A	14-08-2014
		US 2014314653 A1	23-10-2014
		WO 2013078102 A1	30-05-2013
