



(19) **Republik
Österreich
Patentamt**

(11) Nummer:

391 808 B

(12)

PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 2923/86

(51) Int.Cl.⁵ : **A61K 35/16**
A61K 37/02

(22) Anmeldetag: 3.11.1986

(42) Beginn der Patentdauer: 15. 6.1990

(45) Ausgabetag: 10.12.1990

(56) Entgegenhaltungen:

AT-PS 379510 AT-PS 376884 DE-OS3318521 EP-PS 110407

(73) Patentinhaber:

IMMUNO AKTIENGESELLSCHAFT FÜR
CHEMISCH-MEDIZINISCHE PRODUKTE
A-1220 WIEN (AT).

(72) Erfinder:

SCHWARZ OTTO DR.
WIEN (AT).
LINNAU YENDRA DR.
WIEN (AT).

(54) VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG EINER FAKTOR VIII (AHF)-HÄLTIGEN FRAKTION

(57) Es wird ein Verfahren zur Herstellung einer Faktor VIII (AHF)-hältigen Fraktion mit erhöhter spezifischer Aktivität (mindestens 2,5 Einheiten Faktor VIII/mg Protein) und einem geringen Anteil an Immunglobulin-G (höchstens 10 mg/1000 Einheiten Faktor VIII) beschrieben, bei der die Übertragung von viralen oder bakteriellen Infektionen vermieden bzw. weitgehend herabgesetzt ist.

Das Verfahren besteht darin, daß aus einer Faktor VIII (AHF)-hältigen Plasmafraktion zunächst unerwünschte Proteine in Gegenwart von SPS ausgefällt werden, die gereinigte, Faktor VIII enthaltende Lösung mit bestimmten Salzen oder Salzmischungen behandelt wird, um einen Faktor VIII enthaltenden Niederschlag zu gewinnen, dieser gelöst, lyophilisiert und schließlich hitzebehandelt wird.

B
808 391 AT

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung einer Faktor VIII (AHF)-hältigen Fraktion mit einer spezifischen Aktivität von mindestens 2,5 Einheiten Faktor VIII/mg Protein sowie mit einem Anteil an Immunglobulin-G (IgG) von höchstens 10 mg/1000 Einheiten Faktor VIII, bei deren therapeutischer oder prophylaktischer Anwendung das Risiko der Übertragung von viralen oder bakteriellen Infektionen vermieden bzw. weitgehend herabgesetzt ist.

Aus der Literatur ist bereits eine Mehrzahl von Verfahren zur Herstellung von Faktor VIII-Konzentraten bekannt. Diese bedienen sich als Fraktionierungsmaßnahmen einer Behandlung des Plasmas mit Äthanol, mit Äther, mit Polyäthylenglykol und/oder Glycin. Bekannt ist auch die Kryopräzipitation des Plasmas nach Pool (1965, "The New England Journal of Medicine" 273, 1443) oder die Kryoäthanolpräzipitation des Plasmas nach Johnson (Congr. Int. Soc. Blood Transf., Sydney, Australia, Abstracts of Paper, Seite 1109 (1966)).

In der DE-A - 25 16 186 ist des weiteren ein Verfahren beschrieben, bei welchem ein aus Blutplasma gewonnenes Kryopräzipitat mazerisiert, das mazerierte Produkt in einer Citrat-Glucose-Pufferlösung suspendiert, zentrifugiert und der so erhaltene Pufferextrakt auf einen pH-Wert im Bereich von 6,0 bis 6,8 eingestellt wird. Unter diesen Bedingungen erfolgt eine Fällung unerwünschter Verunreinigungen, worauf der den Faktor VIII enthaltende verbleibende Rückstand sterilisiert und lyophilisiert wird. Ein nach diesem Verfahren gewonnenes Faktor VIII-Produkt weist jedoch eine nur geringe spezifische Aktivität an Faktor VIII-Einheiten/mg Protein auf. Weiters ist auch der Anteil an Immunglobulin G (IgG), bezogen auf die Faktor VIII-Einheiten, unerwünscht hoch.

Ähnliche Verfahren sind auch in der AT-B - 349.639 sowie in der US-A - 4,170,639 und in der US-A - 4,104,266 beschrieben, wobei ebenfalls ausgehend von Plasma ein Kryopräzipitat gewonnen, dieses in einer Pufferlösung im neutralen pH-Bereich gelöst wird, wobei unerwünschte Proteine abgeschieden werden, der Überstand mit Aluminiumhydroxid behandelt wird, um den Prothrombinkomplex abzuscheiden, und dann die Faktor VIII enthaltende Lösung konzentriert und lyophilisiert wird. Auch bei diesen Verfahren ist die spezifische Aktivität an Faktor VIII-Einheiten/mg Protein unerwünscht gering. So beträgt die spezifische Aktivität bei der Arbeitsweise nach der US-A - 4,104,266 nach den dortigen Angaben nur 0,5 bis 0,6 Einheiten/mg Protein.

Nach der PCT-Veröffentlichung WO 82/04395 ist ein Verfahren zum Reinigen und Konzentrieren eines Faktor VIII-Komplexes bekannt, wobei die Präparation mit einer Glycin-Lösung behandelt und der Überstand mit einer Salzlösung gefällt wird.

Weiters ist gemäß der AT-B - 379.510 (der Anmelderin) ein Verfahren zur Herstellung einer Faktor VIII (AHF)-hältigen Präparation mit erhöhter spezifischer Aktivität (mindestens 1,5 Einheiten Faktor VIII/mg Protein) vorgeschlagen worden, nach welchem die Fällung unerwünschter Proteine in Anwesenheit von sulfatisiertem Polysaccharid im Neutralbereich durchgeführt und das Faktor VIII-Konzentrat aus dem Überstand durch Alkoholfällung gewonnen wird.

Aus kürzlich durchgeführten Untersuchungen (Vox Sang. 49: 319-322 (1985)) ist bekannt geworden, daß IgG-Komplexe in Faktor VIII-Konzentraten schädliche Nebenreaktionen induzieren, wie Lymphozyten-Abnormitäten sowie Änderungen des T-Helper/T-Suppressor Zellverhältnisses in Hämophilie-Patienten.

Es hat sich gezeigt, daß die beschriebenen Verfahren zu Produkten führen, welche abgesehen von dem unerwünscht hohen IgG-Gehalt nicht genügend hitzestabil sind, um einer Inaktivierung durch Hitzebehandlung ohne erhebliche Verluste an Faktor VIII-Aktivität standzuhalten. Es besteht heute die Notwendigkeit, alle Gerinnungsfaktor-Präparationen, die aus Blutplasma hergestellt und an Patienten in großen Mengen verabreicht werden, frei von dem Risiko der Übertragung von viralen oder bakteriellen Infektionen zu halten, wobei die angewendeten Inaktivierungsverfahren in der Regel eine mehrstündige Behandlung bei Temperaturen über 60 °C - wie aus der AT-PS - 376 884 bekannt ist - einschließen. Diese Forderung gilt auch für Faktor VIII-Präparationen, obgleich diese - wie bekannt -, verglichen mit anderen Gerinnungsfaktoren, relativ empfindlich und instabil sind.

Die Erfindung stellt sich die Aufgabe, die aufgezeigten Schwierigkeiten zu vermeiden und ein Verfahren zur Herstellung einer Faktor VIII (AHF)-hältigen Fraktion zu schaffen, bei welcher die spezifische Aktivität auf mindestens 2,5 Einheiten Faktor VIII erhöht und der Anteil an Immunglobulin G möglichst niedrig sein soll. Weiters soll die hergestellte Präparation insoweit hitzestabil sein daß eine Inaktivierung durch Hitzebehandlung möglich ist, ohne die Aktivität an Faktor VIII in unerwünschter Weise herabzusetzen.

Diese Aufgabe wird erfundungsgemäß durch die Kombination der folgenden Maßnahmen gelöst:

- daß aus einer Lösung einer Faktor VIII-hältigen Plasmafraktion unerwünschte Proteine in Anwesenheit von sulfatisierten Polysacchariden bei einem pH-Wert etwa im Neutralbereich gefällt und abgetrennt werden,
- die so gereinigte Faktor VIII enthaltende Lösung mit einem Proteinfällungsmittel, ausgewählt aus Ammoniumsulfat, Ammoniumsulfat-Glycin, Natriumchlorid-Glycin, Natriumsulfat, Natriumsulfat-Natriumcitrat, Ammoniumsulfat-Natriumcitrat, Natriumchlorid-Ammoniumsulfat behandelt wird, um einen Faktor VIII enthaltenden Niederschlag auszufällen,

- der gefällte, den Faktor VIII enthaltende Niederschlag gelöst und lyophilisiert wird, und das Lyophilisat bei einer Temperatur und während einer Zeitspanne, die ausreichen, etwa vorhandene vermehrungsfähige, filtrierbare Krankheitserreger, beispielsweise Hepatitis- oder HIV- (Human immune deficiency)-Viren zu inaktivieren, hitzebehandelt wird.

Es ist an sich bekannt, daß die angeführten Salze bzw. Salz-Aminosäure-Kombinationen Proteinfällungsmittel sind und also solche, wie die einleitende Übersicht des Standes der Technik zeigt, bei der

Herstellung von Gerinnungsfaktor-Präparaten schon verwendet worden sind.

Indessen ist es der Vorzug der erfundungsgemäßen Kombination, daß es möglich ist, Produkte zu gewinnen, die den bisher bekannten überlegen sind, indem sie einerseits eine hohe spezifische Aktivität an Faktor VIII bei möglichst geringem Gehalt an IgG aufweisen und andererseits genügend hitzestabil sind.

5 Vorzugsweise wird das Lyophilisat auf einen Wassergehalt von mehr als 0,05 (5 Gew.%) und weniger als 0,70 (70 Gew.%), vorzugsweise weniger als 0,40 (40 Gew.%) eingestellt und in einem geschlossenen Behälter bei einer Temperatur im Bereich von 50 bis 121 °C unter Erhöhung des Wasserdampf-Partialdruckes behandelt.

Zweckmäßig wird die Behandlung des Lyophilisates mit Wasserdampf bei einem Druck von 0,01 bis 2 bar während einer Dauer von bis zu 100 h durchgeführt.

10 Als vermehrungsfähige filtrierbare Krankheitserreger kommen insbesondere Hepatitis-Viren oder HIV (Human immune deficiency virus) in Betracht.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird die Fällung der Faktor VIII enthaltenden Lösung mit dem Proteinfällungsmittel bei einem pH-Wert von 5,6 bis 6,8 und bei einer Temperatur von 1 bis 40 °C vorgenommen.

15 Eine vorteilhafte Ausführungsform des erfundungsgemäßen Verfahrens ist durch die Kombination der folgenden Maßnahmen gekennzeichnet:

- daß aus der Lösung eines Kryopräzipitates in einem Citratpuffer, der gegebenenfalls Heparin, Heparinoid, eine Komplexverbindung von Heparin und Antithrombin III ("Atheplex") und/oder Aprotinin enthält, die unerwünschten Proteine bei einem pH-Wert von 6,0 bis 6,4 und einer Temperatur von 0 bis 25 °C, vorzugsweise 20 4 bis 8 °C, ausgefällt und abgetrennt werden,

- der gereinigte, Faktor VIII enthaltende Überstand mit einer Lösung, die Ammoniumsulfat, Ammoniumsulfat-Glycin, Natriumsulfat, Natriumsulfat-Natriumcitrat, Ammoniumsulfat-Natriumcitrat, Natriumchlorid-Ammoniumsulfat in einer Konzentration von 8 bis 35 % enthält, bei einem pH-Wert von 5,6 bis 6,8 behandelt wird, um einen Faktor VIII-hältigen Niederschlag auszufällen,

25 - und der gefällte, Faktor VIII enthaltende Niederschlag in einer Natriumchlorid-Natriumcitrat-Pufferlösung, die einen Antithrombin-Heparinoid- oder Antithrombin III-Heparinoid-Komplex sowie Albumin enthält, gelöst, ultrafiltriert oder dialysiert, lyophilisiert und durch Hitzebehandlung inaktiviert wird.

Die Erfindung wird durch die folgenden Beispiele näher erläutert:

30 Beispiel 1:

Aus 16,5 l Plasma wurden durch Tieffrieren und Wiederaufstauen 150 g Kryopräzipitat gewonnen. Dieses wurde in 900 ml Trinatrium-Citrat-Puffer, in dem 90 mg sulfatisiertes Polysaccharid "SP 54" (Firma Benechemie), 9 Einheiten Athoplex sowie 27.000 Einheiten Aprotinin enthalten war, gelöst. Der pH-Wert der Lösung wurde auf 6,25 und die Temperatur auf 4 °C gestellt, wobei unerwünschte Proteine ausgefällt und durch Zentrifugieren abgetrennt wurden. Dem Überstand wurden Glycin und Ammoniumsulfat langsam unter Rühren bei einem pH-Wert von 6,0 bis 6,3 und bei Raumtemperatur zugesetzt, bis eine Fällungskonzentration von 120 g/l Glycin und 85 g/l Ammoniumsulfat erreicht wurden.

35 Der entstandene Niederschlag wurde durch Zentrifugieren abgetrennt, in einem Natriumchlorid-Citrat-Puffer gelöst und gegen den gleichen Puffer dialysiert. Zum Dialysat wurden Glycin und Albumin bis zu einer Konzentration von 10 mg/ml Glycin und 2 mg/ml Albumin zugesetzt und die Lösung lyophilisiert. Ein Teil des erhaltenen pulverförmigen Lyophilisates wurde mit Wasserdampf auf einen Feuchtigkeitsgehalt von 8 G/G % und ein anderer Teil auf einen Feuchtigkeitsgehalt von 24 bis 26 G/G % eingestellt.

40 Diese angefeuchteten Präparate wurden in geschlossenen Behältern unter Stickstoffatmosphäre einer Hitzebehandlung bei 60 bzw. 70 °C während einer Dauer von 10 bis 100 h unterworfen, um etwa vorhandene Viren zu inaktivieren. Anschließend wurde ihre spezifische Faktor VIII-Aktivität bestimmt. Die Ergebnisse im Vergleich zum nicht hitzeinaktivierten, nach Beispiel 1 hergestellten Lyophilisat sind aus der folgenden Tabelle I zu entnehmen:

Tabelle I

		Beispiel 1 erfindungsgemäß
50	Faktor VIII, Lyophilisat, nicht erhitzt spezifische Aktivität Gehalt an IgG pro 1000 Einheiten	54,7 E/ml 100 % 4,31 E/mg
55	Faktor VIII	1,8 mg
60	Faktor VIII, Lyophilisat mit Feuchtigkeitsgehalt 7,9 % nach 10 h 60 °C erhitzt nach 70 h 60 °C erhitzt nach 100 h 60 °C erhitzt nach 10 h 70 °C erhitzt	53,6 E/ml 98 % 42,5 E/ml 78 % 40,0 E/ml 73 % 43,3 E/ml 79 %

Tabelle I - Fortsetzung

		Beispiel 1 erfindungsgemäß
5	Faktor VIII, Lyophilisat mit Feuchtigkeitsgehalt 25,2 % nach 10 h 60 °C erhitzt	45,0 E/ml 82 %

Beispiel 2:

10 Um die Überlegenheit der erfindungsgemäß hergestellten Präparationen hinsichtlich der Hitzestabilität gegenüber bekannten (etwa aus der AT-B - 379.510 bekannten) zu veranschaulichen, wurde der erste Teil des Beispiels 1 wiederholt, es wurde jedoch statt der Fällung mit Glycin und Ammoniumsulfat 8 % Äthylalkohol in Anwesenheit von 1,45 Mol/l Glycin bei einem pH-Wert von 6,0 verwendet. Der Niederschlag wurde abgetrennt, in einem Citrat-NaCl-Glycin-Albumin-Puffer gelöst, lyophilisiert und das Lyophilisat wieder auf einen Feuchtigkeitsgehalt von 8 G/G % bzw. 24 bis 26 G/G % mit Wasserdampf eingestellt und, wie in Verbindung mit Beispiel 1 beschrieben, unter Stickstoffatmosphäre erhitzt. Die Ergebnisse sind aus der folgenden Tabelle II zu entnehmen, wobei einerseits der erhöhte Gehalt an IgG (30 mg gegenüber 1,8 mg) signifikant ist und andererseits bei dem zum Stand der Technik gehörenden Vergleichsbeispiel die nach der Hitzebehandlung noch vorhandenen spezifischen Aktivitäten, besonders bei längerer Erhitzung, deutlich niedriger sind.

20

Tabelle II

		Vergleichsbeispiel
25	Faktor VIII, Lyophilisat, nicht erhitzt spezifische Aktivität Gehalt an IgG pro 1000 Einheiten Faktor VIII	54,3 E/ml 100 % 2,69 E/mg 30 mg
30	Faktor VIII, Lyophilisat mit Feuchtigkeitsgehalt 7,9 % nach 10 h 60 °C erhitzt nach 70 h 60 °C erhitzt nach 100 h 60 °C erhitzt nach 10 h 70 °C erhitzt	50,5 E/ml 93 % 24,4 E/ml 45 % 26,6 E/ml 49 % 29,3 E/ml 54 %
35	Faktor VIII, Lyophilisat mit Feuchtigkeitsgehalt 25,2 % nach 10 h 60 °C erhitzt	24,4 E/ml 45 %

40

Beispiel 3:

Der erste Teil des Beispiels 1 wurde wiederholt, zur Ausfällung des Faktor VIII-Konzentrates wurde jedoch eine Salzkombination von NaCl und Ammoniumsulfat in wässriger Lösung verwendet, bis eine Fällungskonzentration von 10 % NaCl und 12 % Ammoniumsulfat erreicht war. Die weitere Aufarbeitung, Zentrifugieren, Lösen, Dialysieren, Lyophilisieren und Anfeuchten, erfolgte, wie in Beispiel 1 beschrieben. Die Ergebnisse sind aus der Tabelle III zu entnehmen.

45

Tabelle III

50	Faktor VIII, Lyophilisat, nicht erhitzt spezifische Aktivität Gehalt an IgG pro 1000 Einheiten Faktor VIII	42,6 E/ml 100 % 3,18 E/mg 9 mg
55	Faktor VIII, Lyophilisat mit Feuchtigkeitsgehalt 8 % nach 10 h 70 °C erhitzt	30 E/ml 71 %
60	Faktor VIII, Lyophilisat mit Feuchtigkeitsgehalt 24,6 % nach 10 h 60 °C erhitzt	32 E/ml 75 %

Beispiel 4:

Der erste Teil des Beispieles 1 wurde wiederholt, zur Ausfällung des Faktor VIII-Konzentrates wurde jedoch eine Salzkombination von Natriumcitrat und Ammoniumsulfat in wässriger Lösung verwendet, bis eine Fällungskonzentration von 5 % Natriumcitrat und 12,5 % Ammoniumsulfat erreicht war. Die weitere Aufarbeitung, Zentrifugieren, Lösen, Dialysieren, Lyophilisieren und Anfeuchten, erfolgte, wie in Beispiel 1 beschrieben. Die Ergebnisse sind aus der Tabelle IV zu entnehmen.

Tabelle IV

10	Faktor VIII, Lyophilisat, nicht erhitzt spezifische Aktivität Gehalt an IgG pro 1000 Einheiten	42,2 E/ml 100 % 3,49 E/mg
15	Faktor VIII Faktor VIII, Lyophilisat mit Feuchtigkeitsgehalt 8,3 % nach 10 h 70 °C erhitzt	2,6 mg 32,8 E/ml 78 %
20	Faktor VIII, Lyophilisat mit Feuchtigkeitsgehalt 27,1 % nach 10 h 60 °C erhitzt	34,5 E/ml 82 %
25	<u>Beispiel 5:</u>	

Der erste Teil des Beispieles 1 wurde wiederholt, zur Ausfällung des Faktor VIII-Konzentrates wurde jedoch eine Salzlösung von Ammoniumsulfat verwendet, bis eine Fällungskonzentration von 13,2 % Ammoniumsulfat erreicht war. Die weitere Aufarbeitung, Zentrifugieren, Lösen, Dialysieren, Lyophilisieren und Anfeuchten, erfolgte, wie in Beispiel 1 beschrieben. Die Ergebnisse sind aus der Tabelle V zu entnehmen.

30	Faktor VIII, Lyophilisat mit Feuchtigkeitsgehalt 8,3 % nach 10 h 70 °C erhitzt	34,5 E/ml 82 %
35	Faktor VIII, Lyophilisat, nicht erhitzt spezifische Aktivität Gehalt an IgG pro 1000 Einheiten	48,6 E/ml 100 % 5,70 E/mg
40	Faktor VIII, Lyophilisat mit Feuchtigkeitsgehalt 7,7 % nach 10 h 70 °C erhitzt	0,6 mg 28,9 E/ml 59 %
45	Faktor VIII, Lyophilisat mit Feuchtigkeitsgehalt 23,7 % nach 10 h 60 °C erhitzt	39,2 E/ml 81 %

50 In allen Fällen ist der IgG-Gehalt der erhaltenen Faktor VIII-Konzentrate weit unter 10 mg und die nach der Hitzebehandlung noch vorhandenen Restaktivitäten über 70 %.

55

60

PATENTANSPRÜCHE

10

1. Verfahren zur Herstellung einer Faktor VIII (AHF)-hältigen Fraktion mit einer spezifischen Aktivität von mindestens 2,5 Einheiten Faktor VIII/mg Protein sowie mit einem Anteil an Immunglobulin-G (IgG) von höchstens 10 mg/1000 Einheiten Faktor VIII, bei deren therapeutischer oder prophylaktischer Anwendung das Risiko der Übertragung von viralen oder bakteriellen Infektionen vermieden bzw. weitgehend herabgesetzt ist, gekennzeichnet durch die Kombination der Maßnahmen:

15

- daß aus einer Lösung einer Faktor VIII-hältigen Plasmafraktion unerwünschte Proteine in Anwesenheit von sulfatisierten Polysacchariden bei einem pH-Wert etwa im Neutralbereich gefällt und abgetrennt werden,
- die so gereinigte Faktor VIII enthaltende Lösung mit einem Proteinfällungsmittel, ausgewählt aus Ammoniumsulfat, Ammoniumsulfat-Glycin, Natriumchlorid-Glycin, Natriumsulfat, Natriumsulfat-Natriumcitrat, Ammoniumsulfat-Natriumcitrat, Natriumchlorid-Ammoniumsulfat behandelt wird, um einen Faktor VIII enthaltenden Niederschlag auszufällen,
- der gefällte, den Faktor VIII enthaltende Niederschlag gelöst und lyophilisiert wird, und
- das Lyophilisat bei einer Temperatur und während einer Zeitdauer, die ausreichen, etwa vorhandene vermehrungsfähige, filtrierbare Krankheitserreger, beispielsweise Hepatitis- oder HIV-(Human immune deficiency)-Viren zu inaktivieren, hitzebehandelt wird.

20

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Lyophilisat auf einen Wassergehalt von mehr als 0,05 (5 Gew.%) und weniger als 0,70 (70 Gew.%), vorzugsweise weniger als 0,40 (40 Gew.%) eingestellt und in einem geschlossenen Behälter bei einer Temperatur im Bereich von 50 bis 121 °C unter Erhöhung des Wasserdampf-Partialdruckes behandelt wird.

25

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Behandlung des Lyophilisates mit Wasserdampf bei einem Druck von 0,01 bis 2 bar während einer Dauer von bis zu 100 h durchgeführt wird.

30

4. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Fällung der Faktor VIII enthaltenden Lösung mit dem Proteinfällungsmittel bei einem pH-Wert von 5,6 bis 6,8 und bei einer Temperatur von 1 bis 40 °C vorgenommen wird.

35

5. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, gekennzeichnet durch eine Kombination der folgenden Maßnahmen:

40

- daß aus der Lösung eines Kryopräzipitates in einem Citratpuffer, der gegebenenfalls Heparin, Heparinoid, eine Komplexverbindung von Heparin und Antithrombin III ("Atheplex") und/oder Aprotinin enthält, die unerwünschten Proteine bei einem pH-Wert von 6,0 bis 6,4 und einer Temperatur von 0 bis 25 °C, vorzugsweise 4 bis 8 °C, ausgefällt und abgetrennt werden,

45

- der gereinigte, Faktor VIII enthaltende Überstand mit einer Lösung, die Ammoniumsulfat, Ammoniumsulfat-Glycin, Natriumsulfat, Natriumsulfat-Natriumcitrat, Ammoniumsulfat-Natriumcitrat, Natriumchlorid-Ammoniumsulfat in einer Konzentration von 8 bis 35 % enthält, bei einem pH-Wert von 5,6 bis 6,8 behandelt wird, um einen Faktor VIII-hältigen Niederschlag auszufällen,

50

- und der gefällte, Faktor VIII enthaltende Niederschlag in einer Natriumchlorid-Natriumcitrat-Pufferlösung, die einen Antithrombin-Heparinoid- oder Antithrombin III-Heparinoid-Komplex sowie Albumin enthält, gelöst, ultrafiltriert oder dialysiert, lyophilisiert und durch Hitzebehandlung inaktiviert wird.