República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 112014020734-8 B1

(22) Data do Depósito: 22/02/2013

(45) Data de Concessão: 02/03/2021

(54) Título: MÉTODO PARA PREPARAR IMUNOGLOBULINA HUMANA

(51) Int.Cl.: C07K 16/06; C07K 1/36; C07K 1/18; A61K 39/395.

(30) Prioridade Unionista: 22/02/2012 CN 201210041098.6.

(73) Titular(es): CHENGDU RONGSHENG PHARMACEUTICALS CO., LTD.

(72) Inventor(es): HUICHUAN YANG; JIACHENG LV; HONG LIANG; YAN WANG; PENG WU; ZELIN LI; XUEYUAN LAN.

(86) Pedido PCT: PCT CN2013071754 de 22/02/2013

(87) Publicação PCT: WO 2013/123889 de 29/08/2013

(85) Data do Início da Fase Nacional: 22/08/2014

(57) Resumo: MÉTODO PARA PREPARAR IMUNOGLOBULINA HUMANA. A presente invenção fornece um método para preparar imunoglobulina humana, que compreende tais etapas como: dissolução de componente I+ ??+?II de Cohn ou componente II+?II de Cohn, precipitação de ácido caprílico, cromatografia de troca de ânions de primeira etapa, precipitação de IgM, cromatografia de troca de ânions de segunda etapa, ultrafiltração ou diálise, preparo e inativação de vírus; como resultado, imunoglobulina humana de pureza alta é obtida através do preparo. É fornecida, ainda, imunoglobulina humana preparada através do método e uma composição farmacêutica. O método de preparo da presente invenção é simples, tem um custo baixo e tem uma boa expectativa de aplicação industrial.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"MÉTODO PARA PREPARAR IMUNOGLOBULINA HUMANA".**

Campo da Técnica

[0001] A presente invenção refere-se a um método para preparar preparações sanguíneas e, particularmente, a um método para preparar imunoglobulina humana.

Técnica Antecedente

[0002] A imunoglobulina inclui pelo menos IgG, IgM, IgA, IgE e IgD, dos quais IgG é o mais importante, e uma ausência de IgG resultará na defesa reduzida do corpo. Há principalmente três classes de formulações de imunoglobulina: imunoglobulina humana para injeção intramuscular, imunoglobulina específica e imunoglobulina para injeção intravenosa. Atualmente, as formulações de imunoglobulina são principalmente separadas do plasma.

[0003] Na década de 1940, o Professor E. J. Cohn da Universidade de Harvard inventou um processo de separação de proteínas do plasma com o etanol de baixa temperatura. Depois disso, Nistchmann e Kistler, *et al*, realizaram aprimoramentos com base no método de etanol de baixa temperatura de Cohn, e apresentaram um método aprimorado para separar as proteínas do plasma com o etanol de baixa temperatura, o qual é caracterizado por etapas simplificadas e um período de produção encurtado. Entretanto, o processo de separação de etanol de baixa temperatura tem determinados limites na produção de imunoglobulina, e a recuperação de globulinas fica na faixa entre 3,8 a 4,4 g/l. Além disso, o teor de IgA na formulação de imunoglobulina preparada pelo processo de etanol de baixa temperatura é relativamente alto e, assim, aqueles que sofrem de deficiência de IgA seletiva congênita são suscetíveis aos efeitos adverso após a injeção.

[0004] Em 1969, Steinbruch, *et al*, relataram um método para se-

parar IgG do plasma de mamífero por meio da precipitação de ácido caprílico em combinação com a cromatografia de troca de ânions. Sob as condições fracamente ácidas com um pH ≥ 4,5, as proteínas impuras diferentes da imunoglobulina podem ser precipitadas. Entretanto, esse método requer a purificação adicional de IgG usando-se DEAE-celulose como o meio de troca aniônica, e é caracterizado por um processo complicado e de custo alto e de custo alto.

[0005] O Pedido de Patente nº U.S. 6.307.028 revela um método de purificação por meio da precipitação de ácido caprílico em combinação com cromatografia de troca de ânions de duas etapas, e uma preparação de imunoglobulina altamente pura foi obtida com a mesma distribuição de subclasse de IgG como o plasma normal.

[0006] Entretanto, a população chinesa tem um teor de IgM mais alto no plasma do que estrangeiros (o teor de IgM no plasma da população chinesa é de cerca de 10% do teor de proteína total, enquanto o teor de IgM no plasma de estrangeiros varia de 1% a 3% do teor de proteína total). Para o preparo da imunoglobulina com a pureza qualificada de acordo com o método anterior, um volume grande da coluna de cromatografia é requerido para absorver uma grande quantidade de IgM, o que tem um custo alto. Portanto, uma produção industrial em grande escala dificilmente pode ser concretizada.

Conteúdo da Invenção

[0007] A fim de solucionar o problema supramencionado, a presente invenção fornece um método inovador para preparar imunoglobulina humana.

[0008] Em primeiro lugar, a presente invenção fornece um método para preparar imunoglobulina humana, que compreende as etapas de:

(1) dissolução: dissolver o componente I+II+III de Cohn ou o componente II+III de Cohn na água para injeção;

(2) precipitação de ácido caprílico: precipitar as impurezas

com ácido caprílico ou caprilato, filtração e obter um filtrado;

(3) a cromatografia de troca de ânions de primeira etapa: ajustar o pH do filtrado obtido na etapa (2) para 5,2, purificação com cromatografia de troca de ânions e obter uma solução de eluição;

(4) precipitação de IgM: ajustar a condutividade da solução de eluição obtida na etapa (3) para 500 a 1.000 us/cm com água e ajustar adicionalmente o pH para 6,0 a 7,3, seguido de repouso por 1 a 2 horas, filtração e obter o filtrado;

(5) a cromatografia de troca de ânions de segunda etapa: ajustar o pH do filtrado obtido na etapa (4) para 5,6, seguida da purificação com a cromatografia de troca de ânions e obter uma solução de eluição;

(6) obter o produto de imunoglobulina humana através de ultrafiltração ou diálise, formulação e inativação de vírus.

[0009] Na etapa (1), o componente I+II+III de Cohn ou o componente II+III de Cohn é adicionado na água para injeção e agitado em 2 a 8 °C até que seja dissolvido, com o pH ajustado para 3,8 a 4,9. Normalmente, a quantidade da água para injeção é: a razão de volume para massa da água para injeção para o componente I+II+III de Cohn ou o componente II+III de Cohn é 10:1 a 15:1.

[0010] Na etapa (2), ácido caprílico ou caprilato em uma concentração de 10 mM a 20 mM é adicionado, e o pH é ajustado para 5,0 a 5,3.

[0011] Na etapa (3), o agente de preenchimento da dita cromatografia de troca de ânions é Capto Q, Gigacap Q ou Unosphere Q, e o volume da coluna de cromatografia de troca é 1/105 a 1/50 daquele da amostra.

[0012] Na etapa (4), o dito pH é preferencialmente 6,3 a 6,74, com preferência adicional 6,51 a 6,7, e mais preferencialmente, ainda, 6,51 ou 6,7.

[0013] Na etapa (5), o agente de preenchimento da dita cromatografia de troca de ânions é Macrocap Q, e o volume da coluna de cromatografia de troca é 1/50 a 1/35 daquele da amostra.

[0014] A presente invenção fornece, além disso, a imunoglobulina humana preparada através do método supracitado.

[0015] A presente invenção eventualmente fornece uma composição farmacêutica, a qual é preparada com a imunoglobulina humana supracitada como um ingrediente ativo, juntamente com o adjuvante farmaceuticamente aceitável ou ingredientes auxiliares.

[0016] O método de preparo fornecido pela presente invenção tem uma etapa adicional de precipitação de IgM engenhosamente inserida entre as duas etapas de cromatografia de ânion e, assim, o volume da cromatografia de troca de ânions de segunda etapa é obviamente reduzido, o custo de produção é diminuído e, assim, o método tem uma expectativa de aplicação promissora no mercado.

[0017] Aparentemente, de acordo com o conteúdo supracitado da presente invenção, em combinação com o conhecimento técnico comum e meios técnicos habituais na técnica, muitas outras formas de emendas, substituições ou alterações podem ser feitas sem se distanciar dos pensamentos técnicos básicos da presente invenção conforme mencionado acima.

[0018] O conteúdo supracitado da presente invenção é adicionalmente elaborado pelas modalidades específicas na forma de exemplos, as quais, entretanto, não devem ser entendidas como limitantes do escopo de assunto da presente invenção aos seguintes exemplos. Todos os conjuntos de procedimentos realizados com base no conteúdo supracitado são cobertos pelo escopo da presente invenção.

Descrição das Figuras

[0019] A Figura 1 é uma figura esquemática de um método para preparar a imunoglobulina humana da presente invenção.

[0020] A Figura 2 mostra a relação entre pH, quantidade de precipitação de IgM e rendimento de IgG.

MODALIDADES

EXEMPLO 1: PREPARO DA IMUNOGLOBULINA HUMANA ATRAVÉS DO MÉTODO DA PRESENTE INVENÇÃO

1. MATERIAIS EXPERIMENTAIS

[0021] O componente I+II+III de Cohn ou o componente II+III: preparado pelo método de precipitação de etanol de baixa temperatura conforme revelado na página 1.194 de *Medical Biologicology*, 2ª edição (People's Medical Publishing House Co., LTD).

[0022] Ácido clorídrico, ácido caprílico, agente de preenchimento Capto Q, agente de preenchimento Gigacap Q, agente de preenchimento Unosphere Q, Macrocap Q, diatomita e kit de detecção de IgA IMMAGE da Beckman são todos comercialmente disponíveis.

2. MÉTODO EXPERIMENTAL

[0023] Conforme mostrado na Figura 1, a imunoglobulina foi preparada:

(1) Componente I+II+III de Cohn: 4 kg de precipitados de componente I+II+III de Cohn foram dissolvidos em 40 l de API (água para injeção) a 5°C, e agitados por uma hora. O pH foi ajustado para 4,20 com ácido clorídrico 0,5 M, e a solução obtida foi aquecida e agitada em banho-maria a 25°C por duas horas;

(2) Precipitação de ácido caprílico: o ácido caprílico foi adicionado diretamente até que a concentração final fosse 15 mM, e o pH foi ajustado para 5,20 com NaOH 0,5 M. A solução obtida foi aquecida e agitada em banho-maria a 25°C por duas horas, seguido de repouso a 8°C por duas horas;

(3) A cromatografia de troca de ânions de primeira etapa: a suspensão da reação de precipitação de ácido caprílico foi submetida a filtração com lâmina de filtro de profundidade comum e o pH do fil-

trado foi ajustado para 5,20 com ácido clorídrico 0,5 M ou NaOH 0,5 M. Subsequentemente, a cromatografia de troca de ânions de primeira etapa foi realizada com agente de preenchimento Capto Q, com uma cromatografia de pH 5,20 e uma taxa de fluxo linear de 200 cm/h. O volume da coluna de cromatografia de troca foi 1/75 daquele da amostra;

(4) Precipitação de IgM: em primeiro lugar, a condutividade da solução de eluição de cromatografia foi ajustada para 700 μs/cm. Subsequentemente, o pH da solução foi ajustado para 6,3 com NaOH 0,5 M, seguido de repouso por uma hora;

(5) a cromatografia de troca de ânions de segunda etapa: com a adição de diatomita, a filtração foi efetuada e o pH do filtrado foi ajustado para 5,6, conduzindo a cromatografia de troca de ânions de segunda etapa. O agente de preenchimento usado foi Macrocap Q com uma taxa de fluxo linear de 75 cm/h e o volume da coluna de cromatografia de troca foi 1/40 daquele da amostra;

[0024] (6) a solução de eluição da cromatografia foi colecionada e o pH da mesma foi ajustado para 3,9 a 4,2 com ácido clorídrico 0,5 M. Então, a solução foi submetida a uma concentração de ultrafiltração até que a concentração proteína alcançasse 20 mg/ml. A fim de efetuar a filtração de vírus, a solução foi passada através de um filtro de vírus com um tamanho de poro de 200 a 15 nm para filtração, tal como, DV50, DV20, Planova75, Planova35 e similares. Após essa etapa ter sido concluída, a solução foi concentrada à concentração de proteína requerida pela formulação final, tal como 5% ou 10% (P/V). Depois disso, aditivos adequados foram adicionados para permitir que o valor de pressão osmótica da solução satisfizesse o requisito para injeção intravenosa, em que os aditivos podem ser açúcares ou aminoácidos. O pH da solução foi reajustado para 4,0 a 4,8. A solução foi incubada a 25°C por 21 dias, e embalada separadamente em garrafas de infu-

são de acordo com o requisito para formulação.

3. DETECÇÃO DE PRODUTO

(1) Método de Detecção

[0025] Em conformidade com o método prescrito na *Farmacopeia Chinesa* (2010), índices tais como a pureza de produto, a distribuição do monômero+dímero do produto (isto é, tamanho molecular), a distribuição da subclasse do produto, e similares, foram detectados respectivamente.

[0026] O teor de IgA do produto foi detectado em um analisador de proteína de plasma IMMAGE da Beckman por meio do método de turbidimetria imune. Além disso, a detecção foi conduzida usando-se um kit de detecção de IgA IMMAGE da Beckman, e o método de detecção específico é mostrado nas instruções do dito kit de detecção.

[0027] Método para detectar o rendimento: após a concentração de ultrafiltração, a concentração de proteína da preparação foi determinada pelo método de determinação de Kjeldahl (o qual é o primeiro método conforme estipulado no Apêndice VI B da *Farmacopeia Chinesa* 2010), no qual um rendimento rendimento=concentração de proteína ×volume de preparação/volume de plasma.

[0028] (2) Resultado de detecção

[0029] O resultado de detecção é mostrado na Tabela 1:

TABELA 1: Comparação de índices de qualidade entre a preparação de imunoglobulina preparada na presente invenção e a preparação preparada pelo método de etanol de baixa temperatura atual

Índices de detecção	Amostra de teste do presente processo (5% de IVIG)			Produtos atuais (método de etanol de baixa temperatura)
	20110309	20110312	20110414	
Pureza	99,9%	99,3%	99,9%	～98%
Monômero +dímero	99,9%	99,9%	99,2%	～98%

Índices de detecção	Amostra de teste do presente processo (5% de IVIG)			Produtos atuais (método de etanol de baixa temperatura)
	20110309	20110312	20110414	
IgA (mg/l)	12,5	14,5	18,1	～150
IgG_1	54,50%	55,50%	53,47%	～55%
IgG_2	37,39%	35,80%	36,99%	～35%
IgG_3	6,13%	6,21%	7,05%	～8%
IgG_4	2,08%	2,46%	2,48%	～2%
outros índices	os mesmos satisfazem o requisito da *Farmacopeia Chinesa*			
Rendimento (g/l de plasma)	5,85	5,71	5,61	～5,0

[0030] De acordo com a Tabela 1, todos os índices da imunoglobulina humana preparada de acordo com o processo da presente invenção cumprem o requisito conforme estipulado na *Farmacopeia Chinesa*. Em comparação com o processo de etanol de baixa temperatura tradicional, o processo da presente invenção pode intensificar a pureza da preparação, reduzir o teor de multímero e IgA, e aprimorar adicionalmente a segurança no caso de infusão de dose alta. Ademais, o método para preparar imunoglobulina humana no presente pedido tem um rendimento alto, o qual é aumentado em mais de 10% em comparação com o método de etanol de baixa temperatura atual.

EXEMPLO 2: EXPERIMENTOS DE OTIMIZAÇÃO DE PARÂMETRO

[0031] A condutividade e o valor de pH na precipitação de IgM na etapa (4) do método da presente invenção foram triados:

(1) Experimento de otimização de condutividade

[0032] Método experimental: com outras condições constantes, a condutividade e o pH na etapa (4) do Exemplo 1 foram alterados para detectar a relação entre a condutividade e a quantidade de precipitado de IgM e o rendimento de IgG.

[0033] Resultado experimental: foi observado através de uma plu-

ralidade de experimentos que, quando a condutividade da solução de eluição da cromatografia foi mais alta que 1 ms/cm, mesmo que o pH da solução fosse aumentado, não houve nenhuma precipitação de IgM. Quando a condutividade da solução de eluição da cromatografia estava entre 500 e 1.000 us/cm, o pH foi ajustado para 6,0 acima, e a IgM foi aparentemente precipitada.

(2) Experimento de optimização de pH

[0034] Método experimental: com outras condições constantes, o pH na etapa (4) do Exemplo 1 foi alterado para detectar a relação entre o pH e a quantidade de precipitação de IgM e o rendimento de IgG.

[0035] Resultado experimental: foi observado através de uma pluralidade de experimentos que a taxa de remoção de IgM foi aprimorada à medida que o pH aumentou, mas um pH excessivamente alto levou a uma crescente perda de IgG.

[0036] Conforme mostrado na Tabela 2 e na Figura 1:

TABELA 2: Relação entre a quantidade de precipitação de IgM, o rendimento de IgG e o pH

Número de série	pH	Rendimento de IgG	Quantidade de precipitação de IgM (%)
1	6,2	100	37,5
2	6,28	91,63	43,04
3	6,3	98	50
4	6,3	100	41,57
5	6,31	100	47
6	6,51	100	60
7	6,52	98,64	51,23
8	6,59	96,44	55
9	6,7	100	60

Número de série	pH	Rendimento de IgG	Quantidade de precipitação de IgM (%)
10	6,7	98,87	60
11	6,74	97	48,9
12	7,01	92	70
13	7,3	100	61,58

[0037] De acordo com a Tabela 2 e a Figura 1, quando o pH está entre 6,2 e 7,3, a IgM é obviamente precipitada. Quando o pH é entre 6,3 e 6,74, a IgM é altamente precipitada e o rendimento de IgG é alto. Quando o pH é entre 6,51 e 6,7, tanto a quantidade de precipitação de IgM quanto o rendimento de IgG são melhores.

[0038] Para resumir, para equilibrar a taxa de remoção de IgM e o rendimento de IgG, a condutividade na etapa (4) do método da presente invenção foi ajustada para 500 a 1.000 us/cm e o pH foi ajustado para 6,0 a 7,0.

[0039] A fim de elaborar adicionalmente o efeito vantajoso do método da presente invenção, um experimento comparativo é fornecido como segue:

1. PREPARO DE IMUNOGLOBULINA HUMANA

(1) O método de preparo da presente invenção: conforme revelado no Exemplo 1;

(2) Método de preparo comparativo:

1) Dissolução do componente I+II+III de Cohn: 4 kg precipitados de componente I+II+III de Cohn foram dissolvidos em 40 l de API (água para injeção) a 5°C e agitados por uma hora. O pH foi ajustado para 4,20 com ácido clorídrico 0,5 M, e a solução obtida foi aquecida e agitada em banho-maria a 25°C por duas horas;

2) Precipitação de ácido caprílico: ácido caprílico foi adicionado diretamente até que concentração final fosse 15 mM e o pH foi

ajustado para 5,20 com NaOH 0,5 M. A solução obtida foi aquecida e agitada em banho-maria a 25°C por duas horas, seguido de repouso a 8°C por duas horas;

3) A cromatografia de troca de ânions de primeira etapa: a suspensão da reação de precipitação de ácido caprílico foi submetida a filtração com uma lâmina de filtro de profundidade comum e o pH do filtrado foi ajustado para 5,20 com ácido clorídrico 0,5 M ou NaOH 0,5 M. Subsequentemente, a cromatografia de troca de ânions de primeira etapa foi realizada com agente de preenchimento Capto Q, com uma cromatografia de pH 5,20 e uma taxa de fluxo linear de 200 cm/h;

4) a cromatografia de troca de ânions de segunda etapa: coletando-se a solução de eluição da cromatografia, a filtração foi efetuada com a adição de diatomita e o pH do filtrado foi ajustado para 5,6, conduzindo-se a cromatografia de troca de ânions de segunda etapa. O agente de preenchimento usado foi Macrocap Q com uma taxa de fluxo linear de 75 cm/h, e o volume da coluna de cromatografia de troca foi 1/19 daquele da amostra;

5) a solução de eluição da cromatografia foi colecionada e o pH foi ajustado para 3,9 a 4,2 com ácido clorídrico 0,5 M. Então, a solução foi submetida a uma concentração de ultrafiltração até que a concentração proteína alcançasse 20 mg/ml. A fim de efetuar a filtração de vírus, a solução foi passada através de um filtro de vírus com um tamanho de poro de 200 a 15 nm para filtração, tal como DV50, DV20, Planova75, Planova35 e similares. Após essa etapa ter sido concluída, a solução foi concentrada para a concentração de proteína requerida pela formulação final, tal como 5% ou 10% (P/V). Depois disso, aditivos adequados foram adicionados para permitir que o valor de pressão osmótica da solução satisfizesse o requisito para injeção intravenosa, em que os aditivos podem ser açúcares ou aminoácidos. O pH da solução foi reajustado para 4,0 a 4,8. A solução foi incubada

a 25°C por 21 dias e embalada separadamente em garrafas de infusão de acordo com o requisito para formulação.

2. DETECÇÃO DE PRODUTO

[0040] (1) Método de detecção

[0041] O método de detecção é o mesmo do Exemplo 1.

[0042] (2) Resultado de detecção

[0043] O resultado de detecção é conforme mostrado na Tabela 3:

TABELA 3: Comparação de qualidade entre imunoglobulinas humanas preparadas através do método da presente invenção e do método comparativo

Índices de detecção	Amostra de teste do presente processo (5% IVIG)			Produto do experimento comparativo
	20110309	20110312	20110414	
Pureza	99,9%	99,8%	99,9%	99,8%
Monômero+dímero	99,9%	99,7%	99,2%	99,7%
IgA (mg/l)	12,5	21	18,1	21
IgG_1	54,50%	57,26%	53,47%	57,26%
IgG_2	37,39%	31,59%	36,99%	31,59%
IgG_3	6,13%	8,08%	7,05%	8,08%
IgG_4	2,08%	3,07%	2,48%	3,07%
outros índices	os mesmos satisfazem o requisito da *Farmacopeia Chinesa*			
Rendimento (g/l de plasma)	5,85	5,71	5,61	5,7

[0044] Conforme mostrado na Tabela 3, os índices de qualidade das imunoglobulinas preparadas através dos dois métodos não têm

diferenças significativas e o rendimento das mesmas é de 5,5 a 6,0 g/l de plasma e 5,7 g/l de plasma, respectivamente, também sem qualquer diferença significativa.

[0045] Na cromatografia de troca de ânions de segunda etapa, o volume da coluna de cromatografia de troca é 1/40 daquele da amostra no método da presente invenção, enquanto 1/19 no método comparativo.

[0046] Os experimentos provam que, para o preparo das imunoglobulinas com índices de qualidade correspondentes, o método da presente invenção tem a capacidade de reduzir de modo significativo o volume da coluna de cromatografia requerido pela cromatografia de troca de ânions de segunda etapa em comparação com o método comparativo.

[0047] Para resumir, o método fornecido pela presente invenção é bem sucedido em solucionar o problema da produção de imunoglobulina humana em um alto custo causado pelo teor excessivamente alto de IgM no plasma da população chinesa, reduz drasticamente o custo de produção, possibilita uma produção industrial em grande escala de imunoglobulinas humanas e apresenta uma expectativa de aplicação promissora no mercado.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para preparar imunoglobulina humana, caracterizado pelo fato de que compreende as etapas de:

(1) dissolução: dissolver o componente I+II+III de Cohn ou o componente II+III de Cohn na água para injeção;

(2) precipitação de ácido caprílico: precipitar as impurezas com ácido caprílico ou caprilato, filtração e obter um filtrado;

(3) a cromatografia de troca de ânions de primeira etapa: ajustar o pH do filtrado obtido na etapa (2) para 5,2, purificação com cromatografia de troca de ânions e obter solução de eluição;

(4) precipitação de IgM: ajustar a condutividade da solução de eluição obtida na etapa (3) para 500 a 1.000 us/cm com água e ajustar adicionalmente o pH para 6,0 a 7,3, seguido de repouso por uma a duas horas, filtração e obter o filtrado;

(5) a cromatografia de troca de ânions de segunda etapa: ajustar o pH do filtrado obtido na etapa (4) para 5,6, seguido de purificação com a cromatografia de troca de ânions e obter uma solução de eluição;

(6) obter o produto de imunoglobulina humana através de ultrafiltração ou diálise, formulação e inativação de vírus.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que, na etapa (1), o componente I+II+III de Cohn ou o componente II+III de Cohn é adicionado na água para injeção e agitado em 2 a 8°C até que sejam dissolvidos, com o pH ajustado para 3,8 a 4,9.

3. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que, na etapa (2), ácido caprílico ou caprilato em uma concentração de 10 mM a 20 mM é adicionado e o pH é ajustado para 5,0 a 5,3.

4. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado

pelo fato de que o agente de preenchimento da dita cromatografia de troca de ânions na etapa (3) é Capto Q, Gigacap Q ou Unosphere Q.

5. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o dito pH na etapa (4) é 6,3 a 6,74.

6. Método, de acordo com a reivindicação 5, caracterizado pelo fato de que o dito pH na etapa (4) é 6,51 a 6,7.

7. Método, de acordo com a reivindicação 6, caracterizado pelo fato de que o dito pH na etapa (4) é 6,51 ou 6,7.

8. Método, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o agente de preenchimento da dita cromatografia de troca de ânions na etapa (5) é Macrocap Q.

9. Composição farmacêutica caracterizada pelo fato de que é preparada a partir da imunoglobulina humana preparada pelo método, conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 8, como um ingrediente ativo, juntamente com os ingredientes auxiliares ou adjuvantes farmaceuticamente aceitáveis.

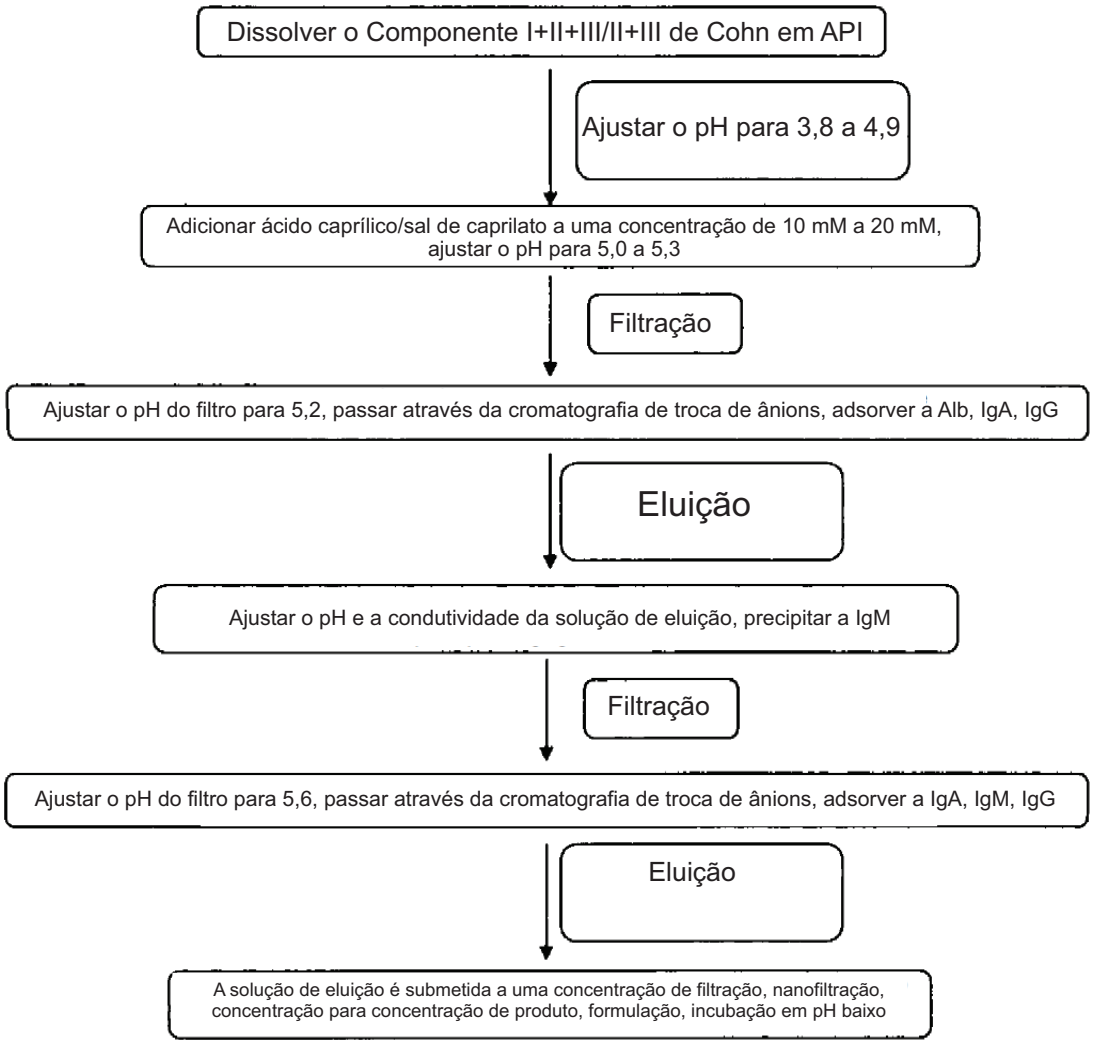

Dissolver o Componente I+II+III/II+III de Cohn em API
Ajustar o pH para 3,8 a 4,9
Adicionar ácido caprílico/sal de caprilato a uma concentração de 10 mM a 20 mM, ajustar o pH para 5,0 a 5,3
Filtração
Ajustar o pH do filtro para 5,2, passar através da cromatografia de troca de ânions, adsorver a Alb, IgA, IgG
Eluição
Ajustar o pH e a condutividade da solução de eluição, precipitar a IgM
Filtração
Ajustar o pH do filtro para 5,6, passar através da cromatografia de troca de ânions, adsorver a IgA, IgM, IgG
Eluição
A solução de eluição é submetida a uma concentração de filtração, nanofiltração, concentração para concentração de produto, formulação, incubação em pH baixo

Fig 1

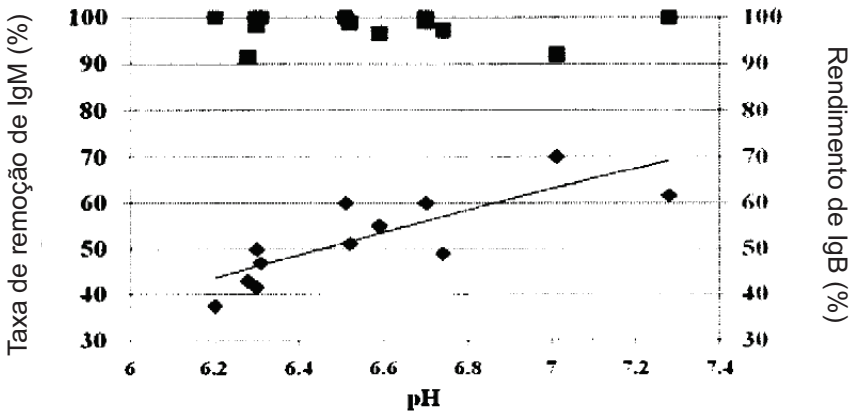

Taxa de remoção de IgM (%)
Rendimento de IgB (%)
100
90
80
70
60
50
40
30
6
6.2
6.4
6.6
6.8
7
7.2
7.4
pH

Fig 2