

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202392930** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
**2024.01.31**

(51) Int. Cl. **G01N 30/88** (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
**2019.02.14**

---

(54) **СИСТЕМЫ И СПОСОБЫ ОБНАРУЖЕНИЯ ТИПА СБОЯ В ПРОМЫШЛЕННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

---

(31) **62/631,167**

(32) **2018.02.15**

(33) **US**

(62) **202290812; 2019.02.14**

(71) Заявитель:

**РИДЖЕНЕРОН  
ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)**

(72) Изобретатель:

**Мао Нэтен Л., Карвер Скотт,  
Шиллинг Бернхард, Ширли Эрик  
(US)**

(74) Представитель:

**Медведев В.Н. (RU)**

---

(57) В настоящем изобретении предложены системы и способы, подходящие для прогнозирования или обнаружения сбоя в процессе хроматографии в реальном времени. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения предложены системы и способы для обнаружения атипичного профиля промышленной хроматограммы в ионообменной хроматографии биологического продукта.

---

**A1**

**202392930**

**202392930**

**A1**

## **СИСТЕМЫ И СПОСОБЫ ОБНАРУЖЕНИЯ ТИПА СБОЯ В ПРОМЫШЛЕННОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**

### **РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

Для настоящей заявки испрашивается приоритет по заявке на патент США с серийным номером 62/631167, поданной 15 февраля 2018 года, полное содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

### **ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ**

Настоящее изобретение относится, в целом, к способам очистки биологических продуктов, включая обнаружение ошибок в процессе хроматографии в реальном времени.

### **УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ**

Успешное и своевременное определение типа сбоя в процессе хроматографии белков может быть проблематичным, и это обусловлено не только специфичностью типа сбоя для каждой отдельной операции, связанной с программой, но и отсутствием доступного для использования способа автоматического обнаружения. Это особенно верно для крупномасштабного производства. Таким образом, давно существует неудовлетворенная потребность в системе и способе масштабируемого обнаружения типа сбоя без остановки производства. В настоящем изобретении предложены новая система и способ, направленные на удовлетворение и решение указанной потребности.

### **РАСКРЫТИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

В настоящем изобретении предложены системы и способы для мониторинга промышленных хроматограмм в автоматическом или полуавтоматическом режиме. В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению сравнивают измеренную интенсивность поглощения в диапазоне интегрального объема с максимальной интенсивностью поглощения, полученной на основании по меньшей мере одной эталонной хроматограммы, и указанную измеренную интенсивность поглощения используют для определения нестабильности хроматографической матрицы, и благодаря прогнозированию и/или идентификации приближающегося сбоя, предложенный способ обеспечивает улучшение производственных показателей в любом масштабе. Соответственно, в настоящем изобретении предложены способы и устройства, подходящие для обнаружения типа сбоя в процессе хроматографии.

В настоящем изобретении предложен способ прогнозирования или обнаружения сбоя в процессе хроматографии, включающий: (a) получение эталонной хроматограммы с помощью хроматографической колонки, (b) получение промышленной хроматограммы с помощью указанной хроматографической колонки, и (c) обнаружение атипичного профиля на промышленной хроматограмме, причем атипичный профиль означает возможный или реальный сбой в процессе хроматографии.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению предложенный способ дополнительно включает (d) генерирование предупредительного сигнала.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению предложенный способ дополнительно включает (е) переупаковку хроматографической колонки.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению хроматографическая колонка подходит для применения в ионообменной хроматографии.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению хроматографическая колонка подходит для применения в аффинной хроматографии.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению хроматографическая колонка подходит для применения в хроматографии гидрофобного взаимодействия.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению возможный или реальный сбой процесса хроматографии обусловлен износом колонки. В некоторых вариантах реализации износ колонки включает разрушение слоя в колонке.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению атипичный профиль включает дополнительный пик на промышленной хроматограмме по сравнению с сопоставимым положением на эталонной хроматограмме. В некоторых вариантах реализации дополнительный пик появляется во время стадии промывания в процессе хроматографии. В некоторых вариантах реализации стадия промывания предшествует стадии элюирования в процессе хроматографии. В некоторых вариантах реализации дополнительный пик появляется во время стадии промывания и предшествует стадии элюирования в процессе хроматографии.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению, включая те, в которых атипичный профиль включает дополнительный пик на промышленной хроматограмме по сравнению с сопоставимым положением на эталонной хроматограмме, интенсивность дополнительного пика означает степень серьезности потенциального или реального сбоя в процессе хроматографии. В некоторых вариантах реализации увеличение интенсивности дополнительного пика означает увеличение степени серьезности потенциального или реального сбоя в процессе хроматографии. В некоторых вариантах реализации сбой в процессе хроматографии вызывает снижение разделительной способности хроматографической колонки.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению, включая те, в которых атипичный профиль включает дополнительный пик на промышленной хроматограмме по сравнению с сопоставимым положением на эталонной хроматограмме, атипичный профиль включает по меньшей мере один пик или по меньшей мере одно углубление на промышленной хроматограмме, имеющее сниженную остроту или сниженную интенсивность по сравнению с пиком или углублением в сопоставимом положении на эталонной хроматограмме. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере один пик или по меньшей мере одно углубление на промышленной хроматограмме, имеющее сниженную остроту или сниженную интенсивность, возникает на стадии промывания. В некоторых вариантах реализации по меньшей мере один пик или по

меньшей мере одно углубление на промышленной хроматограмме, имеющее сниженную остроту или сниженную интенсивность, возникает после стадии элюирования.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению, включая те, в которых атипичный профиль включает дополнительный пик на промышленной хроматограмме по сравнению с сопоставимым положением на эталонной хроматограмме, атипичный профиль включает первый пик или первое углубление, имеющее сниженную остроту или сниженную интенсивность на промышленной хроматограмме по сравнению с пиком или углублением в сопоставимом первом положении на эталонной хроматограмме, и второй пик или второе углубление, имеющее сниженную остроту или сниженную интенсивность на промышленной хроматограмме по сравнению с пиком или углублением в сопоставимом втором положении на эталонной хроматограмме. В некоторых вариантах реализации первый пик или первое углубление возникает после стадии элюирования. В некоторых вариантах реализации первый пик или первое углубление соответствует углублению, возникающему в начале стадии сбора. В некоторых вариантах реализации второй пик или второе углубление возникает после стадии сбора. В некоторых вариантах реализации второй пик или второе углубление включает пик десорбции.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению промышленная хроматограмма имеет измеренную интенсивность поглощения, максимальную интенсивность поглощения и диапазон интегрального объема. В некоторых вариантах реализации атипичный профиль включает измеренную интенсивность поглощения, которая превышает максимальную интенсивность поглощения в диапазоне интегрального объема. В некоторых вариантах реализации измеренную интенсивность поглощения измеряют при длине волны, соответствующей ультрафиолетовому (УФ) свету. В некоторых вариантах реализации измеренную интенсивность поглощения определяют при длине волны от 260 нанометров (нм) до 280 нм, включая конечные точки. В некоторых вариантах реализации измеренную интенсивность поглощения определяют при длине волны 260 нм с получением значения  $A_{260}$ . В некоторых вариантах реализации измеренную интенсивность поглощения определяют при длине волны 280 нм с получением значения  $A_{280}$ . В некоторых вариантах реализации атипичный профиль имеет измеренную интенсивность поглощения, которая превышает максимальную интенсивность поглощения в диапазоне интегрального объема, и при этом максимальная интенсивность поглощения имеет значение  $A_{260}$  или значение  $A_{280}$  по меньшей мере 0,05. В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению атипичный профиль имеет измеренную интенсивность поглощения, которая не превышает максимальную интенсивность поглощения в диапазоне интегрального объема, и при этом максимальная интенсивность поглощения имеет значение  $A_{260}$  или значение  $A_{280}$  по меньшей мере 0,05 или менее.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению значение интенсивности поглощения атипичного профиля и/или типичного профиля

измеряют во время стадии элюирования предыдущего колоночного процесса. В некоторых вариантах реализации значение интенсивности поглощения атипичного профиля и/или типичного профиля определяют при длине волны, соответствующей ультрафиолетовому (УФ) свету. В некоторых вариантах реализации измеренную интенсивность поглощения определяют при длине волны от 260 нанометров (нм) до 280 нм, включая конечные точки. В некоторых вариантах реализации измеренную интенсивность поглощения определяют при длине волны 260 нм с получением значения  $A_{260}$ . В некоторых вариантах реализации измеренную интенсивность поглощения определяют при длине волны 280 нм с получением значения  $A_{280}$ . В некоторых вариантах реализации после получения значения, означающего атипичный профиль, направляют сигнал, который указывает на износ колонки.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению значение интенсивности поглощения атипичного профиля и/или типичного профиля измеряют во время стадии элюирования предыдущего колоночного процесса. В некоторых вариантах реализации значение интенсивности поглощения атипичного профиля и/или типичного профиля определяют посредством оценки уровня рН элюата на стадии элюирования. В некоторых вариантах реализации рН означает атипичный профиль, поскольку данное значение рН выше значения, ожидаемого на основании типичного профиля. В некоторых вариантах реализации рН означает атипичный профиль, поскольку данное значение рН ниже значения, ожидаемого на основании типичного профиля. В некоторых вариантах реализации после получения значения, означающего атипичный профиль, направляют сигнал, который указывает на износ колонки.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению диапазон интегрального объема возникает от 1 л до 5000 л, включая конечные точки. В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению диапазон интегрального объема возникает от 1000 л до 3000 л, включая конечные точки. В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению диапазон интегрального объема возникает от 1000 л до 2500 л, включая конечные точки. В некоторых вариантах реализации диапазон интегрального объема возникает от 1250 л до 2250 л, включая конечные точки. В некоторых вариантах реализации диапазон интегрального объема возникает от 1600 л до 1800 л, включая конечные точки. В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению диапазон интегрального объема возникает в объеме 1 л, 10 л, 100 л, 250 л, 500 л, 1000 л, 1500 л, 2000 л, 2500 л, 3000 л, 4000 л, 5000 л или в любом количестве литров между указанными значениями.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению хроматографическая колонка содержит Q-сефарозную анионообменную смолу.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению стадия (а) получения эталонной хроматограммы включает (1) приведение в контакт исходной композиции, содержащей множество заранее определенных аналитов, и

разделительной композиции, содержащей матрицу, в условиях, достаточных для обратимого связывания с матрицей по меньшей мере одного аналита из исходной композиции, причем хроматографическая колонка содержит разделительную композицию, с получением колонки, связанной с аналитом, и первой отработанной композиции; (2) приведение в контакт колонки, связанной с аналитом, со стадии (1) и промывочной композиции, причем связанным с матрицей остается лишь по меньшей мере один аналит из исходной композиции, с получением очищенной колонки, связанной с аналитом, и второй отработанной композиции; (3) приведение в контакт очищенной колонки, связанной с аналитом, со стадии (2) и элюирующей композиции, причем указанный по меньшей мере один аналит из исходной композиции высвобождается из матрицы в элюирующую композицию, с получением композиции элюированного аналита; (4) сбор композиции элюированного аналита; (5) одновременно с каждой из стадий (1)-(4), приведение в контакт каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного аналита с ультрафиолетовым (УФ) светом, (6) измерение поглощения УФ света каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного аналита; и (7) получение хроматограммы посредством нанесения на график значения поглощения каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного аналита в зависимости от объема жидкости, проходящей через хроматографическую колонку.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению стадия (b) получения промышленной хроматограммы включает (1) приведение в контакт исходной композиции, содержащей множество тестируемых аналитов, и разделительной композиции, содержащей матрицу, в условиях, достаточных для обратимого связывания с матрицей по меньшей мере одного аналита из исходной композиции, причем хроматографическая колонка содержит разделительную композицию, с получением колонки, связанной с аналитом, и первой отработанной композиции; (2) приведение в контакт колонки, связанной с аналитом, со стадии (1) и промывочной композиции, причем связанным с матрицей остается лишь по меньшей мере один аналит из исходной композиции, с получением очищенной колонки, связанной с аналитом, и второй отработанной композиции; (3) приведение в контакт очищенной колонки, связанной с аналитом, со стадии (2), и элюирующей композиции, причем указанный по меньшей мере один аналит из исходной композиции высвобождается из матрицы в элюирующую композицию, с получением композиции элюированного аналита; (4) сбор композиции элюированного аналита; (5) одновременно с каждой из стадий (1)-(4), приведение в контакт каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного аналита с ультрафиолетовым (УФ) светом, (6) измерение поглощения УФ света каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного аналита; и (7) получение хроматограммы посредством нанесения на график значения поглощения каждой из первой отработанной

композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного анализата в зависимости от объема жидкости, проходящей через хроматографическую колонку.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению стадии (а) или (б) получения хроматограммы включают(ет) стадию (5) приведения в контакт и стадию (6) измерения, и, кроме того, указанная стадия (5) приведения в контакт и стадия (6) измерения являются непрерывными. В некоторых вариантах реализации стадии (5) приведения в контакт и стадия (6) измерения являются одновременными, последовательными или чередующимися и непрерывными.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению хроматографическая колонка содержит матрицу, и указанная матрица содержит смолу.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению и, в частности, в отношении стадий (а) или (б) получения хроматограммы, тестируемый анализат представляет собой биологическую композицию. В некоторых вариантах реализации биологическая композиция представляет собой терапевтическую композицию для применения в способе лечения человека. В некоторых вариантах реализации биологическая композиция содержит терапевтический белок.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению предупредительный сигнал передают в электронном виде в процессор, а процессор функционально связан с хроматографической колонкой. В некоторых вариантах реализации процессор принимает предупредительный сигнал и прерывает процесс хроматографии или не допускает начало следующего хроматографического процесса до устранения возможного или реального сбоя хроматографической колонки.

Дополнительные аспекты и варианты реализации настоящего изобретения станут понятны из следующего подробного описания.

#### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ**

На фиг. 1 представлены эталонные хроматограммы, известные по литературным данным.

На фиг. 2 представлена еще одна эталонная хроматограмма.

На фиг. 3 представлена хроматограмма, отображающая не отвечающий нормам пик 2 промывания.

На фиг. 4 представлена хроматограмма, отображающая не отвечающий нормам пик 2 промывания, не отвечающие нормам пики элюирования и снижение остроты пика десорбции.

На фиг. 5 представлена некорректная хроматограмма. Присутствует пик 2 промывания.

На фиг. 6 представлено сравнение типичной и атипичной хроматограмм VEGF-Trap Q. Большинство атипичных УФ следов имеют поглощение  $\geq 0,05$  единиц оптической плотности (AU) при 635 нм при 2 промывании.

На фиг. 7 представлены дополнительные атипичные хроматограммы VEGF-Trap Q, то есть примеры пика 2 промывания.

На фиг. 8 представлены дополнительные типичные хроматограммы VEGF-Trap Q. УФ следы не превышают поглощение 0,05 при 635 литрах при 2 промывании.

### **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ**

Успешное и своевременное определение типа сбоя в процессе хроматографии белков, особенно при крупномасштабном производстве, может быть проблематичным, и это обусловлено не только специфичностью типа сбоя для каждой отдельной операции, связанной с программой, но и отсутствием доступного для использования способа автоматического обнаружения, который обеспечивают композиции и способы согласно настоящему изобретению.

В настоящем изобретении предложена новая система Watch и способ обнаружения типа сбоя. Новая система Watch и способ мониторинга с помощью хроматографической колонки предназначены для оповещения оператора о том, что колонка не выполняет заданную функцию. Системы Watch и способы согласно настоящему изобретению обеспечивают автоматический мониторинг сигналов системы в течение всего времени для определения оптимальной работы колонки. Если система не соответствует критериям приемлемости, то оператор получает сообщение с указанием о необходимости добавления данного события в систему контроля качества и обеспечения возможности дальнейшего изучения и возможного исправления. Контролируемые сигналы, значимая интенсивность сигнала и диапазоны времени интегрирования определяют эмпирически для эксплуатации каждой отдельной хроматографической установки, подлежащей мониторингу.

### ***Хроматография***

Системы и способы согласно настоящему изобретению можно использовать для препаративной или аналитической хроматографии. В некоторых вариантах реализации способы согласно настоящему изобретению используют для очистки белков, которые можно использовать в композиции для лечения какого-либо заболевания. Эффективность процесса очистки особенно важна для тех способов, которые включают препаративную хроматографию для крупномасштабной очистки или очистки терапевтических белков в большом объеме. Системы и способы согласно настоящему изобретению можно использовать в любом масштабе. Однако они особенно применимы, когда в процессе используется большое количество препаратов, а также в том случае, если сбой системы (такой как проскок ценного анализа через разделительную композицию в хроматографической колонке, где он должен улавливаться) приводит к потере ценного продукта и ценного производственного времени. Системы и способы согласно настоящему изобретению обеспечивают прогнозирование и обнаружение сбоя в процессе хроматографии в реальном времени и, благодаря идентификации неисправного процесса, обеспечивают возможность восстановления функции и возврата к эффективной и надежной очистке до выполнения последующих работ с неисправным процессом.

Настоящее изобретение предусматривает любую форму хроматографии. Как метод, хроматография представляет собой способ выделения компонентов из смеси. Выделение осуществляют посредством разделения с помощью подвижной фазы и неподвижной фазы.



Как описано в настоящем документе, исходные композиции, содержащие тестируемый аналит, необязательно также для получения, принадлежат к подвижной фазе. Как описано в настоящем документе, разделительные композиции, содержащие матрицу, принадлежат к неподвижной фазе. Иллюстративные матрицы согласно настоящему изобретению могут содержать любой материал, обладающий способностью разделять элементы подвижной фазы по химическим свойствам (заряду) и/или по физическим свойствам (размеру).

В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения, включая способы получения терапевтических белков, процессы хроматографии могут включать, но не ограничиваются ими, колоночную и плоскостную хроматографию. В некоторых предпочтительных вариантах реализации процессы хроматографии могут включать, но не ограничиваются ими, колоночную хроматографию.

#### ***Колоночная хроматография***

Настоящее изобретение предусматривает любую форму колоночной хроматографии, включая влажный и сухой способы. В сухом способе разделительная композиция содержит сухую матрицу, которую затем приводят в контакт с жидкой исходной композицией, оптимально смачивая всю матрицу и не допуская высыхания матрицы до окончания всего процесса. Во влажном способе разделительная композиция содержит суспензию или взвесь матрицы и элюента, которую вводят в колонку и затем приводят в контакт с жидкой исходной композицией.

#### ***Ионообменная хроматография***

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения разделительная композиция может содержать любой материал, обладающий способностью разделения элементов подвижной фазы по заряду. Например, разделительная композиция может содержать матрицу, которая обратимо связывает заряженный белковый аналит из исходной композиции. Таким образом, разделительная матрица может быть пригодна для анионо- или катионообменной хроматографии и может содержать матрицу, имеющую суммарный отрицательный или положительный заряд, соответственно. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения разделительная композиция содержит матрицу, содержащую сефарозу или Q-сефарозу. В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения хроматографическая колонка представляет собой Q-колонку.

#### ***Аффинная хроматография***

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения разделительная композиция может содержать любой материал, обладающий способностью разделения элементов подвижной фазы на основании специфических взаимодействий между партнерами по связыванию, включая, но не ограничиваясь ими, партнеры по связыванию антиген/антитело, партнеры по связыванию фермент/субстрат, партнеры по связыванию рецептор/лиганд, партнеры по связыванию белок/белок, партнеры по связыванию белок/нуклеиновая кислота и партнеры по связыванию нуклеиновая кислота/нуклеиновая кислота. Например, разделительная композиция может содержать матрицу, которая обратимо связывается с одним партнером из партнеров по связыванию (например, с

аналитом из исходной композиции), поскольку содержит другой партнер из партнеров по связыванию. Например, разделительная композиция может содержать матрицу, которая содержит антиген, с которым специфически связывается анализ из исходной композиции, что обеспечивает селективную очистку антитела-аналита из исходного материала. В качестве дополнительной иллюстрации, разделительная композиция может содержать матрицу, которая содержит эпитоп белка VEGF, с которым селективно связывается VEGF-Trap, что обеспечивает селективную очистку анализа VEGF-Trap из исходного материала.

### ***Хроматография гидрофобного взаимодействия (HIC)***

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения разделительная композиция может содержать любой материал, обладающий способностью разделения элементов подвижной фазы на основании их относительной гидрофобности. HIC можно использовать для селективной очистки белкового анализа с сохранением его биологической активности благодаря применению условий и матриц, которые работают в менее денатурирующих условиях. В некоторых вариантах реализации анализы согласно настоящему изобретению, содержащие гидрофобные и гидрофильные области, приводят в контакт с колонкой HIC в буфере с высоким содержанием соли. Соль в буфере снижает сольватацию растворенного вещества анализа в исходном материале. В результате снижения сольватации гидрофобные области, которые становятся обнаженными, адсорбируются средой. Чем более гидрофобной является молекула в исходном материале, тем меньше соли нужно для промотирования связывания. Можно использовать убывающий градиент соли для элюирования образцов из колонки в порядке повышения гидрофобности. Элюирующие буферы согласно настоящему изобретению также могут содержать слабый органический модификатор или мягкий детергент.

### ***Эксклюзионная хроматография (SEC)***

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения разделительная композиция может содержать любой материал, обладающий способностью разделения элементов подвижной фазы на основании их относительного размера или, в некоторых случаях, относительной молекулярной массы. SEC можно использовать для селективной очистки крупных молекул или макромолекулярных комплексов, таких как белки и полимеры. В некоторых вариантах реализации, например, в тех вариантах реализации, в которых используют водный раствор для переноса подвижной фазы через колонку, указанная технология известна как гельфильтрационная хроматография. В некоторых вариантах реализации, например, в тех вариантах реализации, в которых в качестве подвижной фазы, пропускаемой через колонку, используют органический растворитель, указанная технология известна как гельпроникающая хроматография. В некоторых вариантах реализации хроматографическая колонка упакована мелкими пористыми гранулами, состоящими, например, из декстрановых полимеров (Sephadex), агарозы (Sephacrose) или полиакриламида (Sephacryl или BioGel P). Размер пор указанных гранул используют для оценки размеров макромолекул. Гельфильтрационную хроматографию

можно использовать для фракционирования белковых анализов и других водорастворимых полимеров, а гелепроницающую хроматографию можно использовать для фракционирования растворимых в органических растворителях полимеров по молекулярно-массовому распределению.

### ***Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)***

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения разделительная композиция может содержать любой материал, обладающий способностью разделения элементов подвижной фазы по их взаимодействию с материалом адсорбента разделительной композиции, которое обуславливает различную скорость движения различных компонентов и приводит к разделению компонентов по мере их вытекания из колонки. Аналиты в подвижной фазе можно разделять, например, на основании гидрофобного, ионного или диполь-дипольного взаимодействия. В основе ВЭЖХ лежит действие насоса, обеспечивающего прохождение под давлением жидкого растворителя, содержащего подвижную фазу, через колонку, наполненную твердым материалом адсорбента. В некоторых вариантах реализации активный компонент колонки, адсорбент, содержит гранулированный материал из твердых частиц (например, диоксида кремния или полимеров). Иллюстративный размер частиц включает 2-50 мкм, и столь малый размер может обеспечивать превосходную эффективность разделения ВЭЖХ хроматографии. В некоторых вариантах реализации подвижная фаза под давлением представляет собой смесь растворителей, таких как вода, ацетонитрил и/или метанол. В некоторых вариантах реализации ВЭЖХ насос обеспечивает смешение нескольких растворителей друг с другом в соотношениях, изменяющихся в зависимости от времени, что обеспечивает градиентный состав подвижной фазы. В некоторых вариантах реализации водный компонент подвижной фазы содержит кислоты (такие как муравьиная, фосфорная или трифторуксусная кислота) или соли для облегчения разделения компонентов образца. В некоторых вариантах реализации ВЭЖХ включает распределительную хроматографию, нормально-фазовую хроматографию, вытеснительную хроматографию, обращенно-фазовую хроматографию, эксклюзионную хроматографию, ионообменную хроматографию, аффинную хроматографию, хроматографию гидрофобного взаимодействия или водную нормально-фазовую хроматографию.

### ***Жидкостная экспресс-хроматография белков (FPLC)***

В некоторых вариантах реализации настоящего изобретения разделительная композиция может содержать любой материал, обладающий способностью разделения элементов подвижной фазы на основании их различного сродства к разделительной композиции. Жидкостная экспресс-хроматография белков (FPLC) представляет собой форму жидкостной хроматографии, которую используют для разделения смесей белковых анализов. В некоторых вариантах реализации разделение возможно, поскольку различные компоненты подвижной фазы обладают разной аффинностью к подвижной фазе и неподвижной фазе (разделительной композиции). В некоторых вариантах реализации

подвижная фаза представляет собой водный раствор или буфер. Скорость потока буфера можно регулировать с помощью насоса вытесняющего действия. В некоторых вариантах реализации скорость потока буфера является постоянной, а состав буфера варьируется. В некоторых вариантах реализации неподвижная фаза представляет собой смолу, состоящую из гранул, например, из гранул агарозы. Специалисты в данной области техники могут изменять размеры гранул и поверхность лигандов неподвижной фазы в зависимости от подвижной фазы и аналитов в конкретном случае применения.

В некоторых вариантах реализации FPLC включает ионообменную хроматографию. Например, смола неподвижной фазы связывается с белковым аналитом благодаря взаимодействию зарядов в первом буфере (подвижном буфере), но диссоциирует во втором буфере (элюирующем буфере). Смесь, содержащую один или более белковых аналитов, растворяют в первом буфере и закачивают в колонку под давлением. Требуемые белки связываются со смолой, а другие компоненты выходят вместе с первым буфером. Общую скорость потока буфера поддерживают постоянной. С течением времени процент элюирующего буфера постепенно повышают от 0% до 100% в соответствии с запрограммированным изменением концентрации с получением градиента. В определенный момент градиентного изменения каждый из связанных белковых аналитов диссоциирует и появляется в элюате. Затем элюат пропускают через детекторы. Иллюстративные детекторы могут обеспечивать измерение концентрации соли в элюате (по проводимости) и концентрации белка в элюате (по поглощению ультрафиолетового света).

#### *Повышение давления*

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению поток подвижной фазы через неподвижную фазу регулируется силой тяжести. В некоторых вариантах реализации гравитационную хроматографию используют для одностадийной очистки, такой как обессоливание и аффинное связывание. Типичная гравитационная колонка содержит верхний элемент, буферный резервуар, функционально связанный с хроматографической колонкой, имеющей выходное отверстие в нижней части. Поток регулируют с помощью запорного крана или зажима на трубке между буферным резервуаром и колонкой. Можно использовать адаптеры потока для минимизации вариабельности при загрузке образца. В некоторых вариантах реализации гравитационная хроматография включает распределительную хроматографию, нормально-фазовую хроматографию, вытеснительную хроматографию, обращенно-фазовую хроматографию, эксклюзионную хроматографию, ионообменную хроматографию, аффинную хроматографию, хроматографию гидрофобного взаимодействия или водную нормально-фазовую хроматографию.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению хроматография включает хроматографию низкого давления. В некоторых вариантах реализации хроматографическая система низкого давления представляет собой систему, которая работает при давлении менее 50 фунт/кв.дюйм (~3 бар (0,3 МПа)).

Хроматографию низкого давления можно использовать для разделения белков, не требующего высокого разделения.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению хроматография включает хроматографию среднего давления. В некоторых вариантах реализации хроматографическая система среднего давления представляет собой систему, которая работает при давлении до 3500 фунт/кв.дюйм (~24 МПа). Хроматографическая система среднего давления обеспечивает достаточное давление для размещения композиций неподвижной фазы с высокой разделительной способностью, например, с гранулами размером 5-15 мкм. В некоторых вариантах реализации хроматография среднего давления включает распределительную хроматографию, нормально-фазовую хроматографию, вытеснительную хроматографию, обращенно-фазовую хроматографию, эксклюзионную хроматографию, ионообменную хроматографию, аффинную хроматографию, хроматографию гидрофобного взаимодействия или водную нормально-фазовую хроматографию.

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению хроматография включает хроматографию высокого давления, например, ВЭЖХ.

#### ***Подвижная фаза***

Настоящее изобретение предусматривает любую форму подвижной фазы, включая, но не ограничиваясь ими, элюент, растворитель, стерильный растворитель и фармацевтически приемлемый носитель. Элюирующие композиции согласно настоящему изобретению могут содержать фармацевтически приемлемый носитель.

#### ***Неподвижная фаза***

Настоящее изобретение предусматривает любую форму неподвижной фазы, включая, но не ограничиваясь ими, диоксид кремния, оксид алюминия ( $Al_2O_3$ ), целлюлозу, сефарозу и Q-сефарозу. Иллюстративные разделительные композиции согласно настоящему изобретению могут содержать матрицу, полимер, смолу, белок или их комбинацию. В некоторых вариантах реализации разделительная композиция содержит сефарозу или Q-сефарозу.

#### ***Хроматограммы***

В данном контексте хроматограмма представляет собой визуальный выходной сигнал хроматографа. Как правило, время удерживания и/или объем выходящего потока элюата представляют на оси x хроматограммы, а сигнал наносят на оси y. Иллюстративные сигналы включают, но не ограничиваются ими, электрическую проводимость, поглощение света и масс-спектрометрию и соответствуют реакции детектора на аналиты, выходящие из хроматографа. В некоторых вариантах реализации указанный сигнал пропорционален концентрации конкретного аналита, выделяемого с помощью хроматографа.

В одном иллюстративном варианте реализации концентрацию белка, измеренную по поглощению света, наносят на ось y хроматограммы. Многие белки в растворе поглощают свет, например, ультрафиолетовый свет с длиной волны 280 нм, что можно

использовать для расчета концентрации белка в образце. В зависимости от белка, предусмотрены дополнительные длины волн света. Например, белки, содержащие группы гемма или флуорофоры, обнаруживают при другой длине волны света. Специалисты в данной области техники могут выбрать подходящую систему обнаружения для конкретного аналита.

### ***Биологические образцы***

В некоторых вариантах реализации способов согласно настоящему изобретению аналит содержит белок, пептид, нуклеиновую кислоту или вирус. В некоторых вариантах реализации нуклеиновая кислота представляет собой дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) или рибонуклеиновую кислоту (РНК). В некоторых вариантах реализации вирус представляет собой аденовирус, аденоассоциированный вирус или лентивирус.

## **ПРИМЕРЫ**

### **Пример 1: Очистка VEGF Trap**

На фиг. 1-8 представлены иллюстративные эталонные хроматограммы (фиг. 1 и 2), а также иллюстративные промышленные хроматограммы, имеющие атипичный профиль (фиг. 3-5), с использованием VEGF-Trap в качестве иллюстративного аналита для очистки.

Кратко, хроматограммы на фиг. 1-8 получали посредством приведения в контакт исходной композиции, содержащей множество аналитов (аналиты VEGF-Trap, а также множество примесей (например, белков клетки-хозяина, ДНК и слабо сиаилированных белков)), и разделительной композиции, содержащей матрицу (в данном примере Q-сефарозу), в условиях, достаточных для обратимого связывания по меньшей мере одного белка VEGF-Trap исходной композиции с матрицей, причем хроматографическая колонка содержала разделительную композицию, с получением колонки, связанной с аналитом, и первой отработанной композиции. Затем приводили в контакт колонку, связанную с аналитом, и первую промывочную композицию, причем белок VEGF-Trap исходной композиции оставался связанным с матрицей, с получением очищенной колонки, связанной с аналитом, и второй отработанной композиции. Приводили в контакт колонку, связанную с аналитом, и вторую промывочную композицию, причем на эталонной хроматограмме, отображающей типичный профиль, белок VEGF-Trap исходной композиции оставался связанным с матрицей, с получением очищенной колонки, связанной с аналитом, и третьей отработанной композиции. Для получения промышленной хроматограммы, отображающей атипичный профиль, приводили в контакт колонку, связанную с аналитом, и вторую промывочную композицию, при этом на промышленной хроматограмме, отображающей атипичный профиль, связанным с матрицей оставался лишь белок VEGF-Trap исходной композиции, с получением очищенной колонки, связанной с аналитом, и третьей отработанной композиции, однако третья отработанная композиция содержала примесь или белок VEGF-Trap. И на эталонной, и на промышленной хроматограмме очищенную колонку, связанную с аналитом, и элюирующую композицию приводили в контакт, при этом по меньшей мере один аналит из исходной композиции высвобождался из матрицы в элюирующую

композицию с образованием композиции элюированного аналита. И на эталонной, и на промышленной хроматограмме собирали композицию элюированного аналита. Одновременно с каждым из описанных выше действий приводили в контакт каждую из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции, третьей отработанной композиции и композиции элюированного аналита с ультрафиолетовым (УФ) светом. Одновременно или последовательно измеряли поглощение УФ света каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции, третьей отработанной композиции и композиции элюированного аналита с получением значения поглощения для каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции, третьей отработанной композиции и композиции элюированного аналита. Значения поглощения для каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции, третьей отработанной композиции и композиции элюированного аналита наносили на график в зависимости от объема жидкости, прошедшей через хроматографическую колонку, с получением хроматограммы. Хроматограмму получали в реальном времени процесса хроматографии, и определяли возникновение атипичного профиля, как только на хроматограмме появлялся дополнительный пик. Возникновение атипичного профиля инициирует передачу предупредительного сигнала от детектора и/или процессора на процессор, функционально связанный с хроматографической колонкой, который, свою очередь, предотвращает дальнейший процесс хроматографии до устранения неисправности колонки.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ обнаружения сбоя в работе хроматографической колонки в процессе хроматографии, включающий следующие стадии, выполняемые системой:

(a) приведение в контакт эталонного образца, содержащего множество аналитов и терапевтический белок, с хроматографической колонкой, содержащей разделительную композицию, содержащую матрицу, в условиях, достаточных для обратимого связывания терапевтического белка с матрицей и его элюирования из матрицы при контакте с матрицей, с получением тем самым эталонной хроматограммы на основе данной хроматографической колонки;

(b) приведение в контакт промышленного образца, содержащего множество аналитов и терапевтический белок, с указанной хроматографической колонкой, в условиях, достаточных для обратимого связывания терапевтического белка с матрицей и его элюирования из матрицы при контакте с матрицей, с получением тем самым промышленной хроматограммы на основе данной хроматографической колонки;

(c) сравнение промышленной хроматограммы с эталонной хроматограммой с обнаружением посредством этого атипичного профиля на промышленной хроматограмме, где атипичный профиль содержит один или несколько признаков, которые указывают на сбой в работе, выбранных из группы, включающей:

(i) дополнительный пик на промышленной хроматограмме по сравнению с сопоставимым положением на эталонной хроматограмме;

(ii) измеренную интенсивность поглощения, которая превышает максимальную интенсивность поглощения в диапазоне интегрального объема;

(iii) по меньшей мере один пик или по меньшей мере одно углубление на промышленной хроматограмме, имеющие сниженную остроту или сниженную интенсивность по сравнению с пиком или углублением в сопоставимом положении на эталонной хроматограмме;

(d) генерирование предупредительного сигнала при обнаружении атипичного профиля; и

(e) остановку процесса хроматографии при обнаружении атипичного профиля, до тех пор, пока сбой в работе хроматографической колонки не будет устранен.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что процесс хроматографии включает ионообменную хроматографию, аффинную хроматографию или хроматографию гидрофобного взаимодействия.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что сбой в работе хроматографической колонки обусловлен износом хроматографической колонки.

4. Способ по п. 3, отличающийся тем, что износ хроматографической колонки включает разрушение слоя в хроматографической колонке.

5. Способ по п. 1, отличающийся тем, что дополнительный пик возникает на стадии промывания в процессе хроматографии.



6. Способ по п. 1, отличающийся тем, что интенсивность дополнительного пика показывает степень серьезности возможного или реального сбоя процесса хроматографии.

7. Способ по п. 6, отличающийся тем, что увеличение интенсивности дополнительного пика показывает увеличение степени серьезности сбоя в процессе хроматографии.

8. Способ по п. 1, отличающийся тем, что по меньшей мере одно углубление на промышленной хроматограмме, имеющее сниженную остроту или сниженную интенсивность, возникает непосредственно перед стадией сбоя.

9. Способ по п. 1, отличающийся тем, что по меньшей мере одно углубление на промышленной хроматограмме, имеющее сниженную остроту или сниженную интенсивность, возникает непосредственно перед пиком десорбции.

10. Способ по п. 1, отличающийся тем, что сбой процесса хроматографии вызывает снижение разделительной способности хроматографической колонки.

11. Способ по п. 1, отличающийся тем, что измеренную интенсивность поглощения определяют при длине волны, соответствующей ультрафиолетовому (УФ) свету.

12. Способ по п. 11, отличающийся тем, что измеренную интенсивность поглощения определяют при длине волны от 260 нанометров (нм) до 280 нм, включая конечные точки.

13. Способ по п. 11, отличающийся тем, что измеренную интенсивность поглощения определяют при длине волны 260 нм с получением значения  $A_{260}$ .

14. Способ по п. 13, отличающийся тем, что максимальная интенсивность поглощения имеет значение  $A_{260}$  по меньшей мере 0,05.

15. Способ по п. 11, отличающийся тем, что измеренную интенсивность поглощения определяют при длине волны 280 нм с получением значения  $A_{280}$ .

16. Способ по п. 15, отличающийся тем, что максимальная интенсивность поглощения имеет значение  $A_{280}$  по меньшей мере 0,05.

17. Способ по п. 1, отличающийся тем, что эталонная хроматограмма имеет измеренную интенсивность поглощения, которая не превышает максимальную интенсивность поглощения в диапазоне интегрального объема, и при этом максимальная интенсивность поглощения имеет значение  $A_{260}$  или значение  $A_{280}$ , составляющее 0,05 или менее.

18. Способ по п. 1, отличающийся тем, что диапазон интегрального объема составляет от 1000 л до 2500 л, или составляет от 1250 л до 2250 л, или составляет от 1600 л до 1800 л, включая конечные точки.

19. Способ по п. 1, отличающийся тем, что хроматографическая колонка содержит анионообменную смолу.

20. Способ по п. 1, отличающийся тем, что стадия (а) получения эталонной хроматограммы включает:

(1) связывание терапевтического белка с матрицей, с получением хроматографической колонки, связанной с терапевтическим белком, и первой отработанной композиции;

(2) приведение в контакт хроматографической колонки, связанной с терапевтическим белком, со стадии (1) и промывочной композиции, причем терапевтический белок остается связанным с матрицей, с получением очищенной хроматографической колонки, связанной с терапевтическим белком, и второй отработанной композиции;

(3) приведение в контакт очищенной хроматографической колонки, связанной с терапевтическим белком, со стадии (2) и элюирующей композиции, причем терапевтический белок высвобождается из матрицы в элюирующую композицию, с получением композиции элюированного терапевтического белка;

(4) сбор композиции элюированного терапевтического белка;

(5) одновременно с каждой из стадий (1)-(4), приведение в контакт каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного терапевтического белка с ультрафиолетовым (УФ) светом,

(6) измерение поглощения УФ света каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного терапевтического белка с получением значения поглощения для каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного терапевтического белка;

и

(7) получение хроматограммы посредством нанесения на график значения поглощения каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного терапевтического белка в зависимости от объема жидкости, проходящей через хроматографическую колонку.

21. Способ по п. 20, отличающийся тем, что стадия (5) приведения в контакт и стадия (6) измерения являются непрерывными.

22. Способ по п. 1, отличающийся тем, что стадия (b) получения промышленной хроматограммы включает:

(1) связывание терапевтического белка с матрицей, с получением хроматографической колонки, связанной с терапевтическим белком, и первой отработанной композиции;

(2) приведение в контакт хроматографической колонки, связанной с терапевтическим белком, со стадии (1) и промывочной композиции, причем терапевтический белок остается связанным с матрицей, с получением очищенной хроматографической колонки, связанной с терапевтическим белком, и второй отработанной композиции;

(3) приведение в контакт очищенной хроматографической колонки, связанной с терапевтическим белком, со стадии (2) и элюирующей композиции, причем

терапевтический белок высвобождается из матрицы в элюирующую композицию, с получением композиции элюированного терапевтического белка;

(4) сбор композиции элюированного терапевтического белка;

(5) одновременно с каждой из стадий (1)-(4), приведение в контакт каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного терапевтического белка с ультрафиолетовым (УФ) светом,

(6) измерение поглощения УФ света каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного терапевтического белка с получением значения поглощения для каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного терапевтического белка;

и

(7) получение хроматограммы посредством нанесения на график значения поглощения каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного терапевтического белка в зависимости от объема жидкости, проходящей через хроматографическую колонку,

причем получение хроматограммы процесса происходит одновременно с приведением в контакт каждой из первой отработанной композиции, второй отработанной композиции и композиции элюированного терапевтического белка с ультрафиолетовым (УФ) светом, и

процесс хроматографии прерывается при обнаружении атипичного профиля, до тех пор, пока не будет устранен сбой в работе хроматографической колонки.

23. Способ по п. 22, отличающийся тем, что стадия (5) приведения в контакт и стадия (6) измерения являются непрерывными.

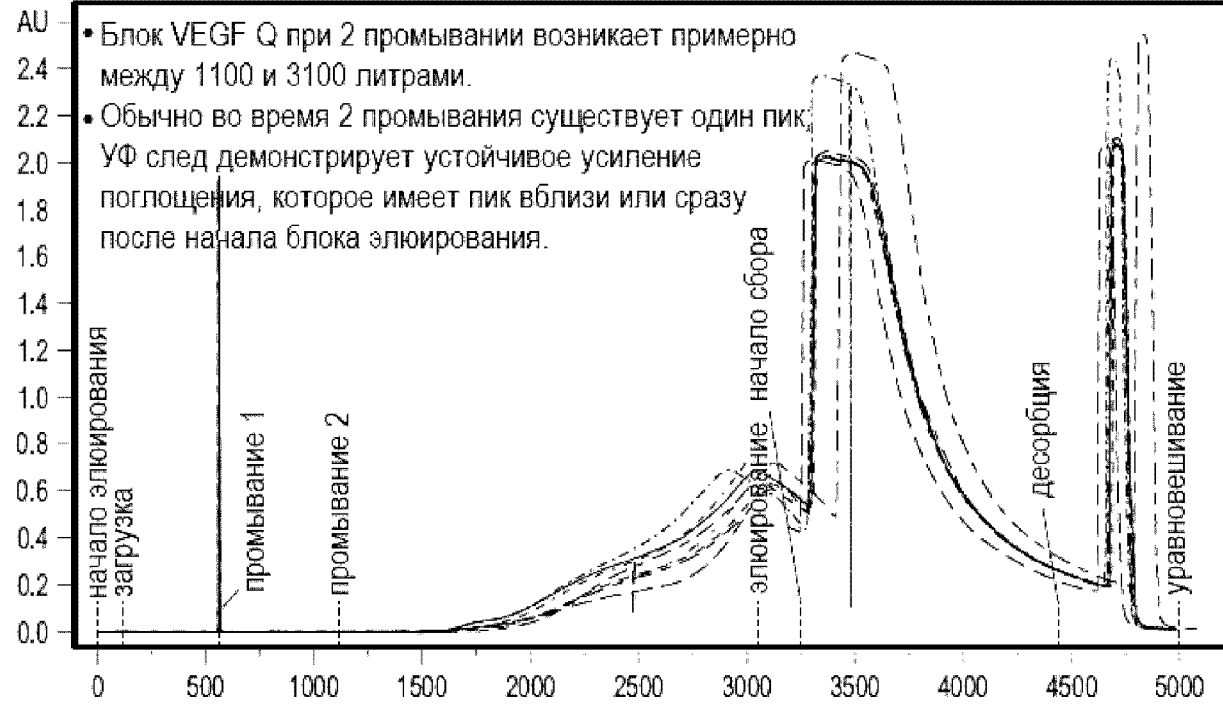
24. Способ по п. 1, отличающийся тем, что предупредительный сигнал передают в электронном виде в процессор, а процессор функционально связан с хроматографической колонкой.

25. Способ по п. 24, отличающийся тем, что процессор принимает предупредительный сигнал и прерывает процесс хроматографии или не допускает начало следующего хроматографического процесса до устранения сбоя в работе хроматографической колонки.

26. Способ по п. 1, отличающийся тем, что устранение сбоя в работе хроматографической колонки включает повторную упаковку хроматографической колонки.

По доверенности

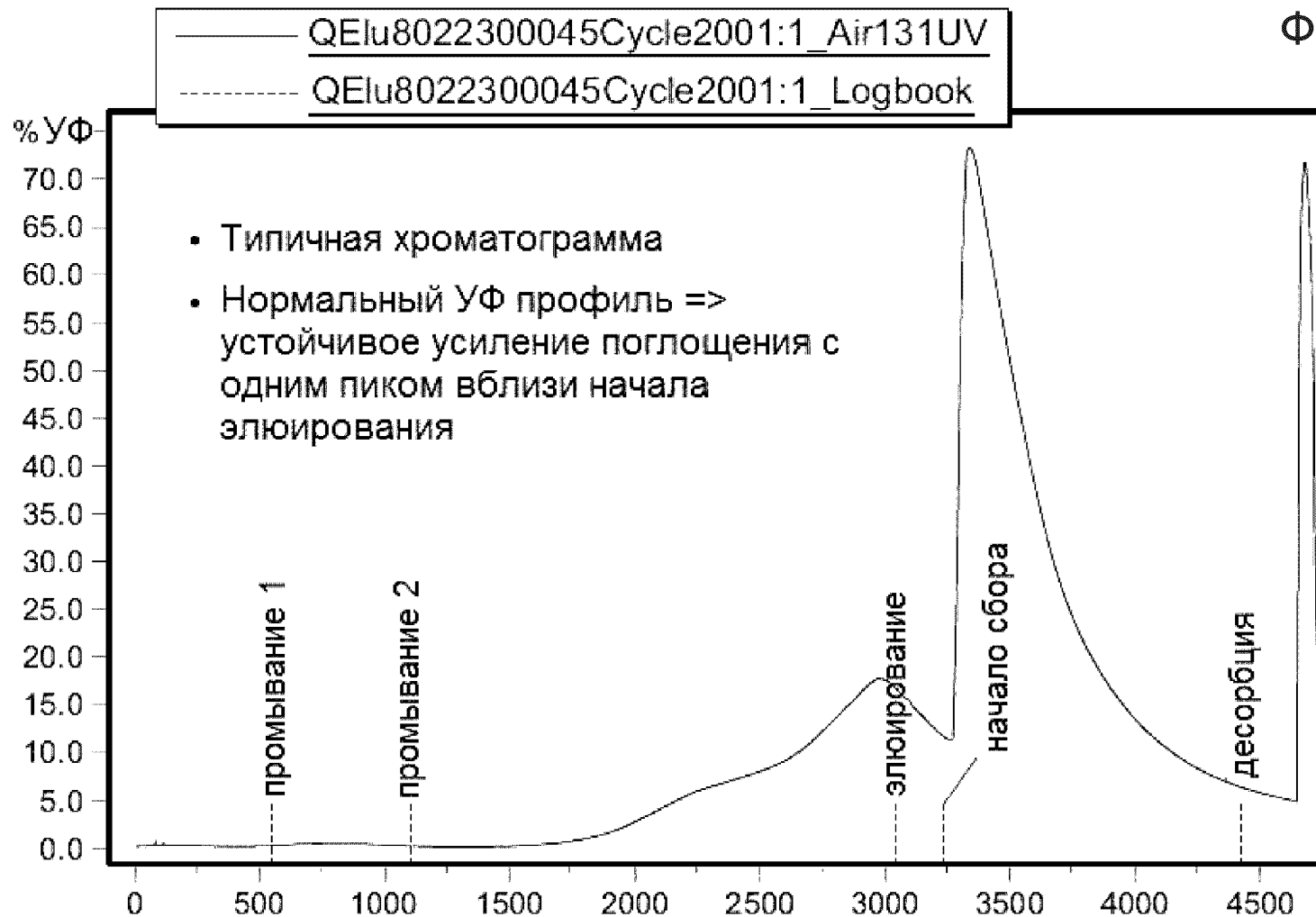
—— QElu8022300074Cycle2001:10_UV1:131_280нм	----- QElu8022300074Cycle2001:10_Logbook
-- QElu8115400012Cycle2001:10_UV1:131_280нм	----- QElu8022300072Cycle2001:10_UV1:131_280нм
- - - QElu8116700014Cycle2001:10_UV1:131_280нм	----- QElu8115400021Cycle2001:10_UV1:131_280нм
---- QElu8022300061Cycle2001:10_UV1:131_280нм	----- QElu8022300077Cycle2001:10_UV1:131_280нм
----- QElu8115400015Cycle2001:10_UV1:131_280нм	----- QElu8116700010Cycle2001:10_UV1:131_280нм



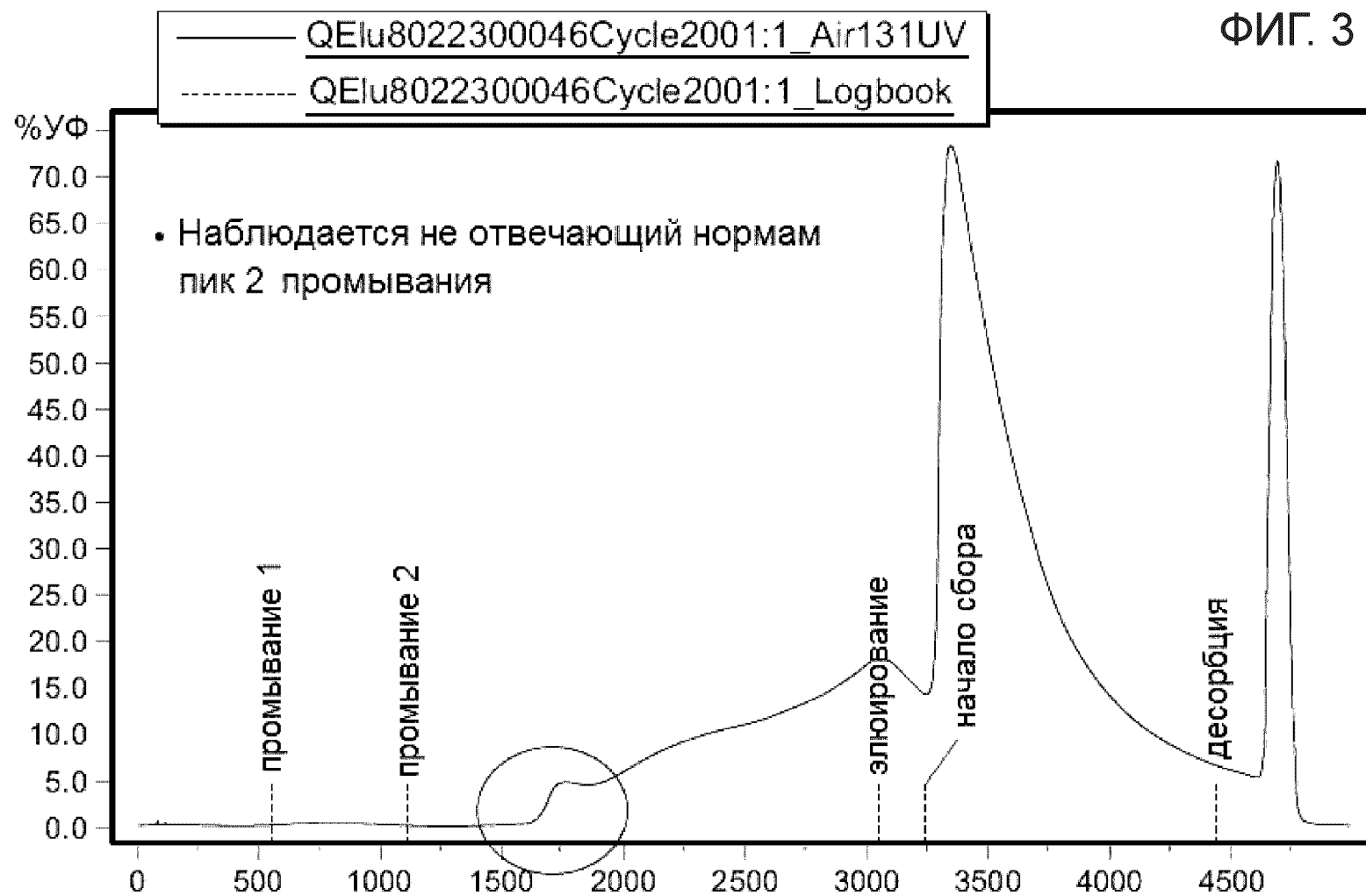
1/8

ФИГ. 1

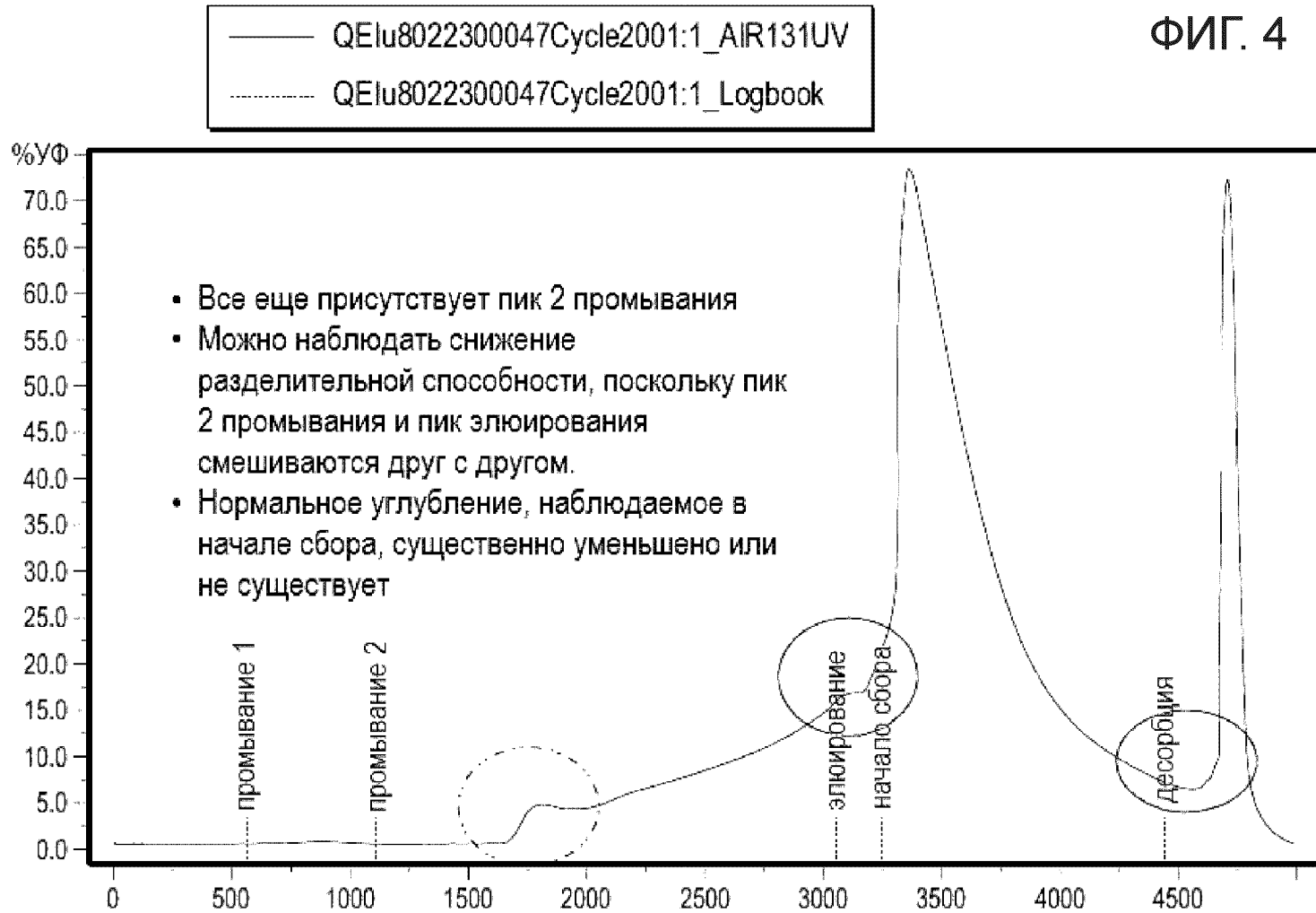
ФИГ. 2



ФИГ. 3

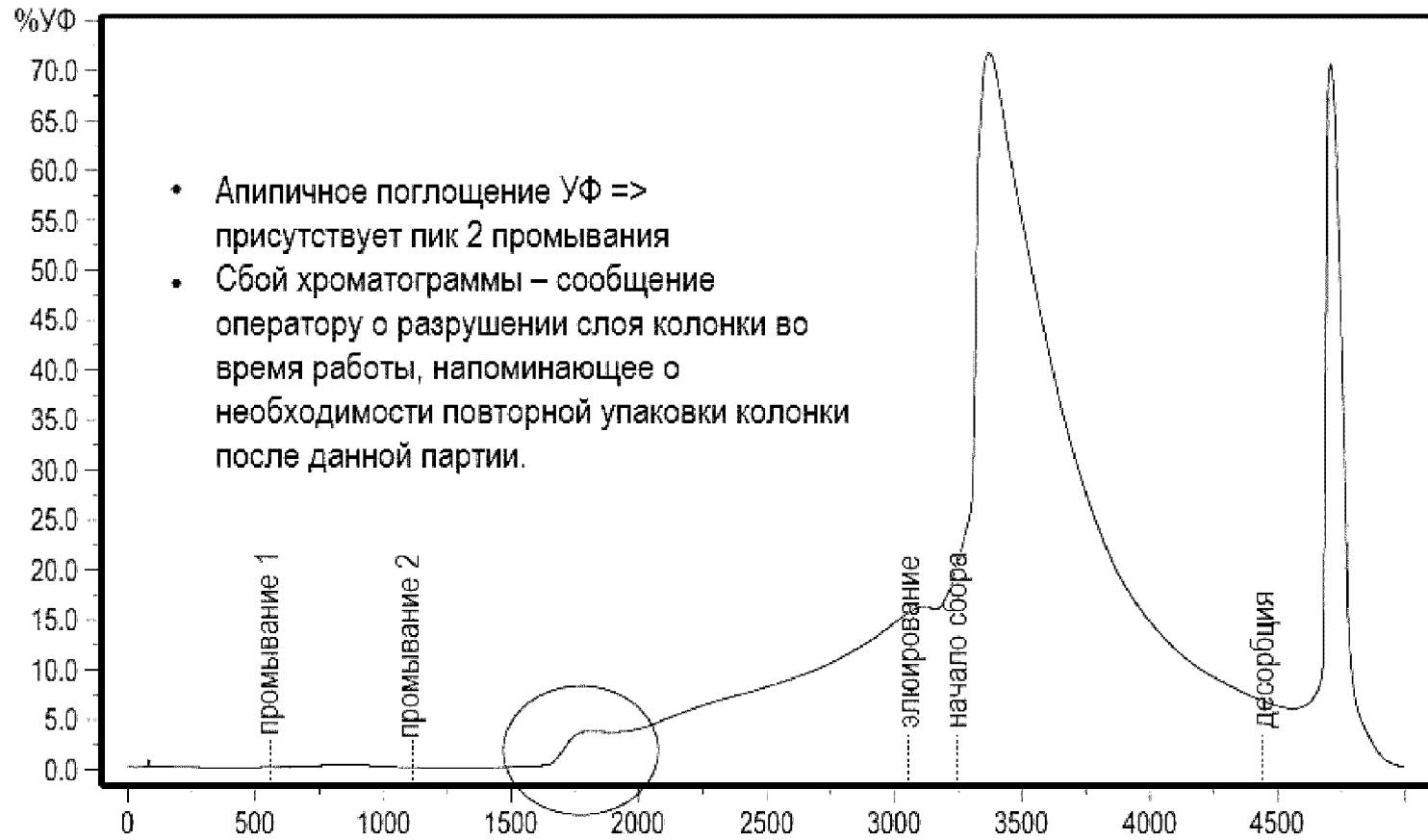


ФИГ. 4



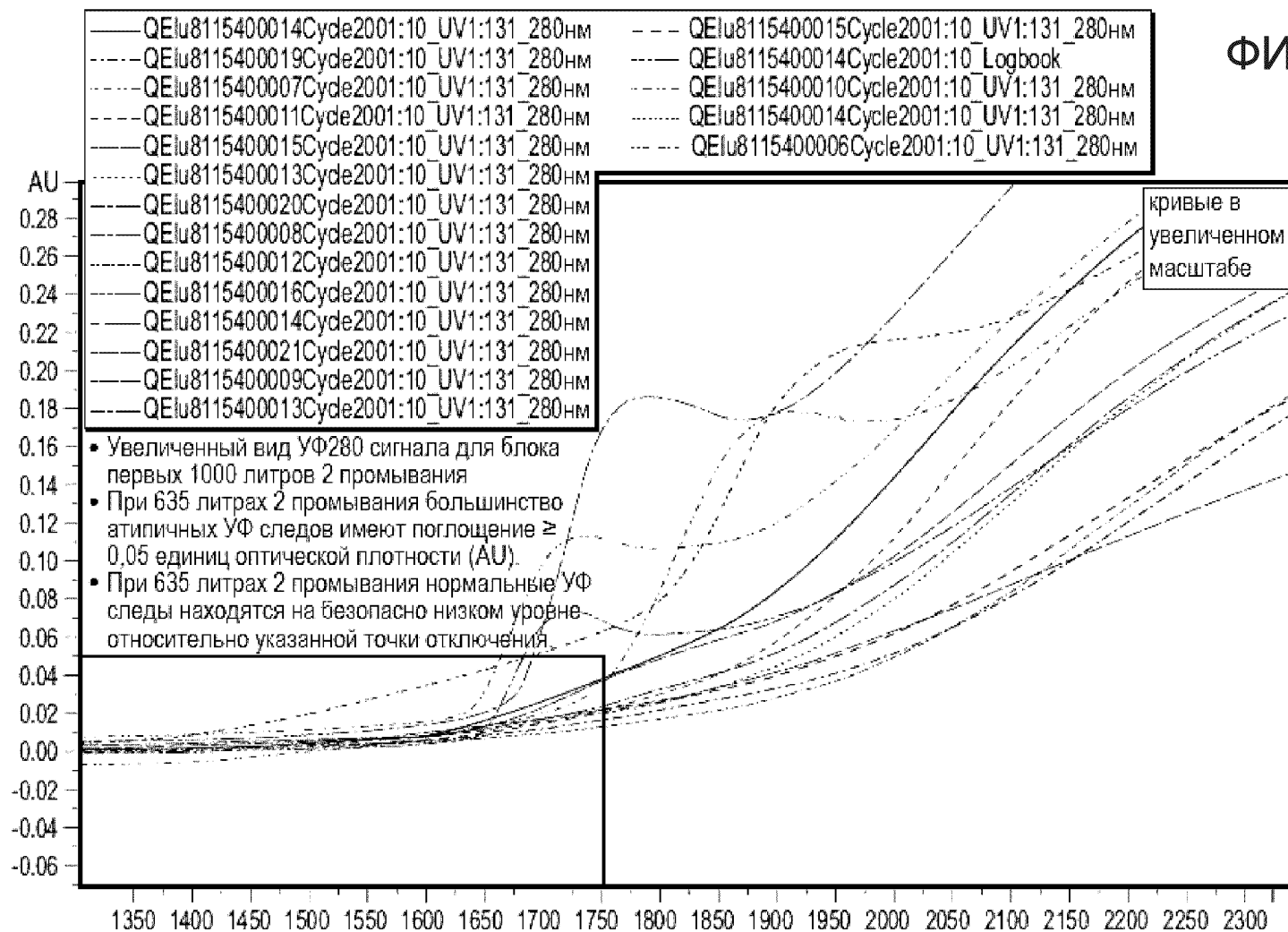
ФИГ. 5

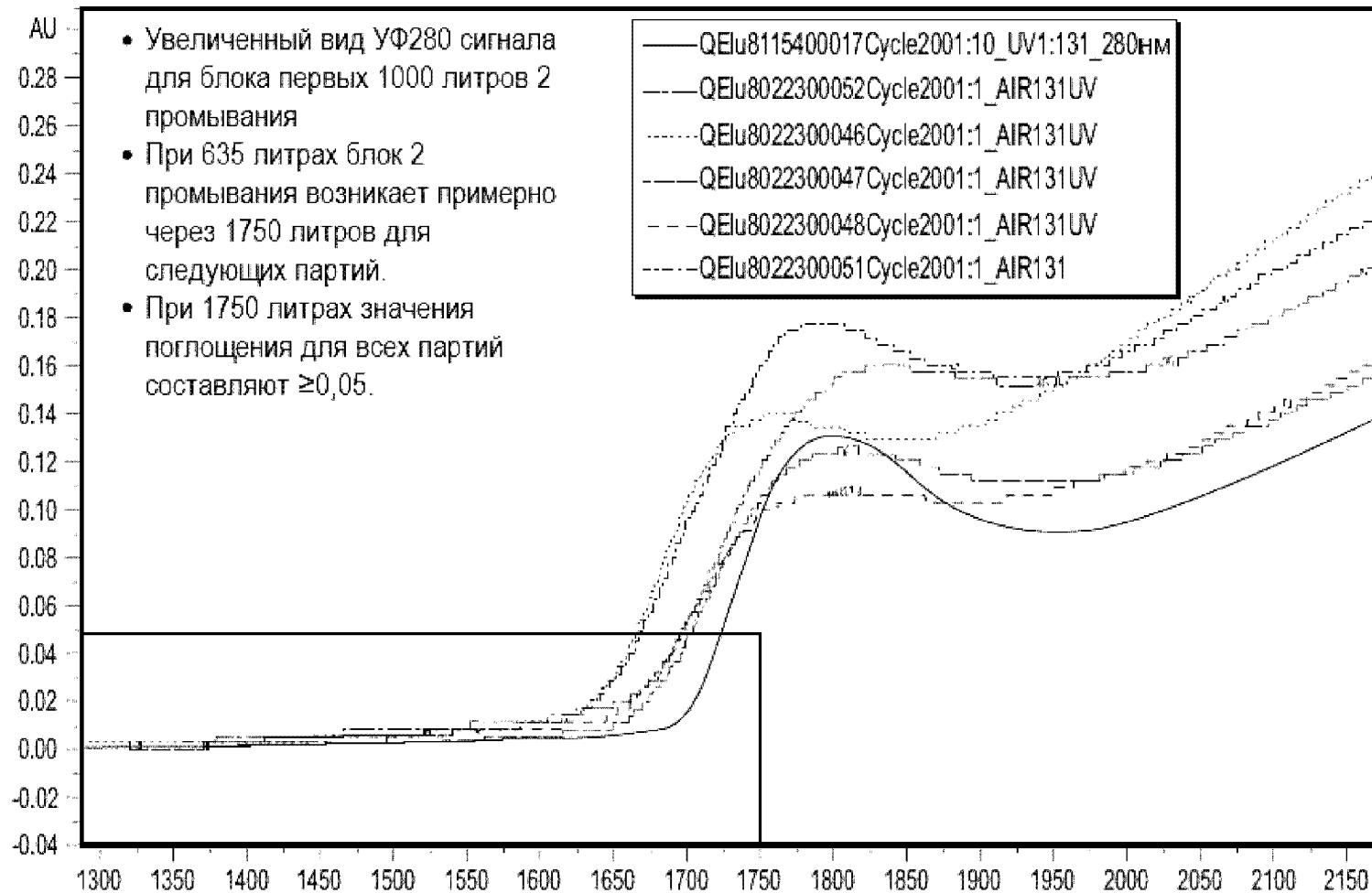
— QElu8022300048Cycle2001:1\_AIR131UV  
- - - QElu8022300048Cycle2001:1\_Logbook





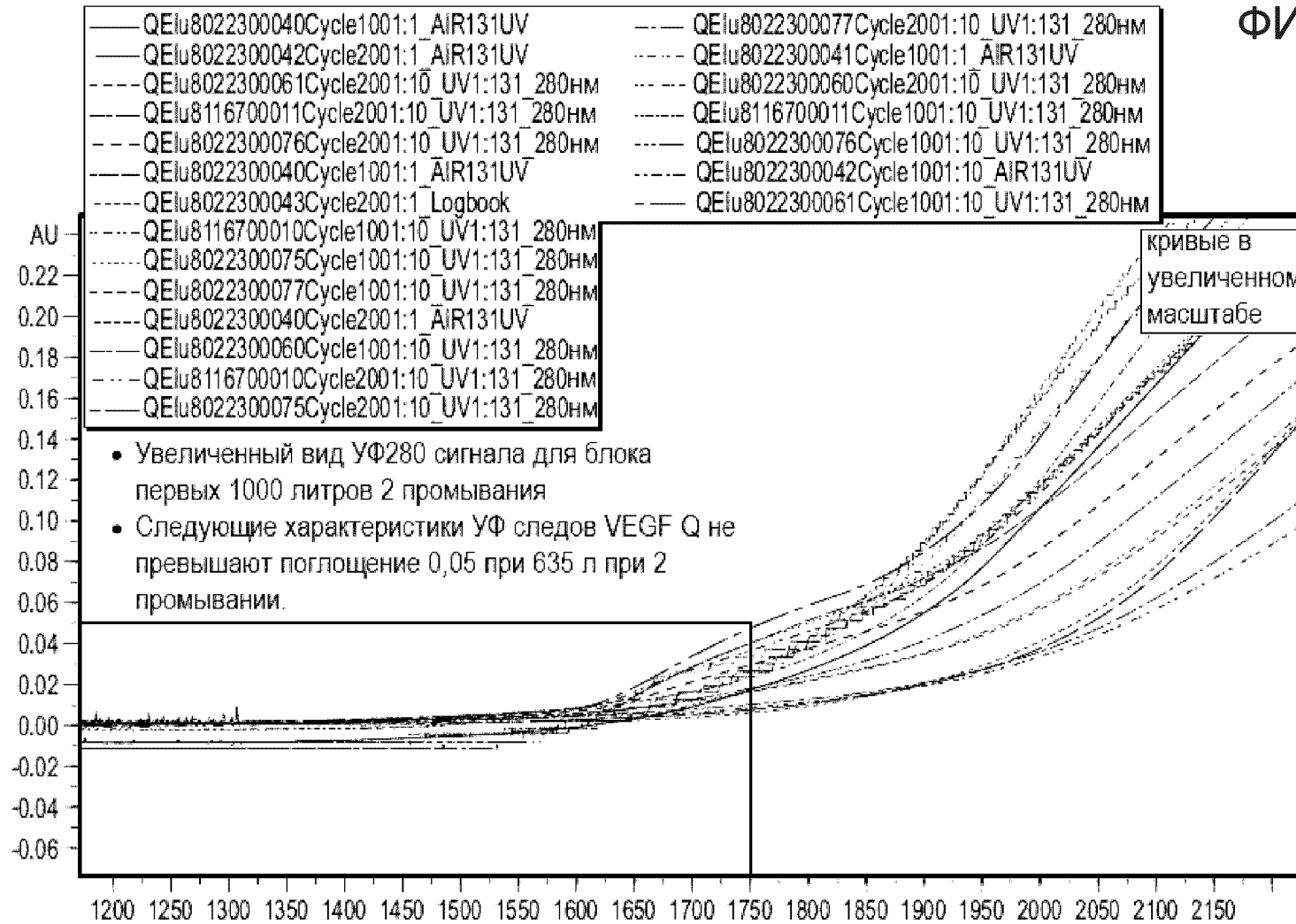
ФИГ. 6





ФИГ. 7

ФИГ. 8



**ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ**  
(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:  
**202290812**

**А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:**  
G01N 30/88 (2006.01)

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

**Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:**

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)  
B01D 15/20, B01D 15/32, B01D 15/36, B01D 15/38, B01D 15/42, C07K 1/16, G01N 30/02, G01N 30/04, G01N 30/56, G01N 30/74, G01N 30/86 G01N 30/88, G01N 33/48

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)  
Espacenet, ЕАПАТИС, ЕРОQUE Net, Reaxys, Google

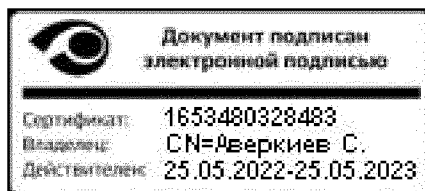
**В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ**

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	EP 1957969 B1 (PALL CORPORATION) 28.06.2017	1-26
A	JP 2006292446 A (SHIMADZU CORPORATION) 26.10.2006	1-26
A	US 8389289 B2 (SHIMADZU CORPORATION) 05.03.2013	1-26
A	US 2010/0050737 A1 (WOLTERS ANDREW MARK) 04.03.2010	1-26

<input type="checkbox"/> последующие документы указаны в продолжении	
<p>* Особые категории ссылочных документов: «А» - документ, определяющий общий уровень техники «D» - документ, приведенный в евразийской заявке «Е» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее «О» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д. "P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"</p>	<p>«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения «Х» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности «У» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории «&amp;» - документ, являющийся патентом-аналогом «L» - документ, приведенный в других целях</p>

Дата проведения патентного поиска: 14 сентября 2022 (14.09.2022)

Уполномоченное лицо:  
Начальник Управления экспертизы



С.Е. Аверкиев