

Цей винахід стосується способу виділення та, зокрема, цей винахід стосується способів виділення паклітакселу та споріднених таксанів.

Паклітаксел є добре відомим хіміотерапевтичним препаратом для лікування різних видів метастатичного раку. Його було схвалено FDA (Агентством харчових та лікарських препаратів) та HPB (Бюро захисту здоров'я) для лікування раку яєчників та молочної залози.

Ця сполука є природним продуктом, яку вперше було виділено з кори тисового дерева, *Taxus brevifolia*, та яку також знаходять у *T. baccata*, *T. walichiana*, *T. yunnanensis* та *T. canadensis*.

Концентрація паклітакселу у різних сировинних матеріалах звичайно є низькою, наприклад, десь між 0,0004-0,01% у ваговому відношенні (w/w) у корі тисового дерева. Така низька концентрація дуже ускладнює виділення та очищення сполуки з сировинних матеріалів для застосування у фармацевтичних цілях, внаслідок чого до цього часу його виробництво було непрактичним з точки зору комерційного рівня. Для очищення паклітакселу з сирого екстракту сировини були розроблені різні способи хроматографії з нормальною або зворотною фазами, а також способи колонкової, хроматографії низького та високого тиску.

Успіх хроматографії низького тиску суттєво залежить від природи колонки. Різні проблеми зумовлюються застосуванням силікагелю та оксиду алюмінію, усі різновиди яких є класичними носіями стаціонарної фази розділених систем. Вони утворюють стабільну стаціонарну фазу з більшістю систем, що містять розчинник, проте вони є сильними абсорбентами і можуть брати участь у процесі сепарації, доки вони впливають на хроматографічну поведінку та виділення зразків.

Були розроблені хроматографічні способи для визначення та виділення паклітакселу з різних видів *Taxus* на підставі аналітичної та препаративної хроматографії. Способи виділення, головним чином, здійснюють у невеликому лабораторному масштабі. Їх недоліками є низький рівень селективності та виділення та висока вартість виробництва. Внаслідок цього існує серйозна та нездійснена потреба в економічному практичному способі для відділення цінної протипухлинної сполуки паклітакселу від його близького аналога цефаломаніну, а також інших близько споріднених таксанів.

Способи згідно з попереднім рівнем описують застосування різних типів хроматографічних процедур для виділення паклітакселу та споріднених таксанів, до яких належать хроматографія з нормальною та зворотною фазами на колонці з силікагелем або зв'язаним силікагелем. Способи згідно з попереднім рівнем мають низький вихід, високу вартість виробництва та застосовують численні етапи виділення, які важко пристосувати для великомасштабного промислового виробництва.

Характерний спосіб згідно з попереднім рівнем описано у патенті США №5,620,875, виданому 15 квітня 1997, автори Hoffman та інші. Документ пропонує виділення паклітакселу та інших таксанів шляхом багатоетапної гексанової екстракції та високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Спосіб, що застосовується, є трудомістким та має лише помірні виходи бажаних сполук.

У патенті США №5,670,673, виданому 23 вересня 1997, автор Rao, описано виділення та очищення таксолу та його аналогів. Спосіб включає застосування рідинної зворотно-фазової хроматографії на адсорбенті C18 з елюванням адсорбованих аналогів. Незважаючи на переважність цього способу, він має обмеження з точки зору продуктивності та чистоти сполук, що отримують.

Цей винахід пропонує простий спосіб виділення на основі колонки з полімерною смолою, який дозволяє уникнути обмежень існуючих способів.

Отже, задачею цього винаходу є розробка простого способу з більш низькою вартістю для економічного виділення та очищення важливих таксанів, таких як 13-ацетил-9-дигідробаккатин III, 10-деацетилбаккатин III, баккатин III, цефаломанін та паклітаксел.

Звичайні способи виділення таксанів, включаючи паклітакселу, 13-ацетил-9-дигідробаккатину III та баккатину III, взагалі включають етапи екстрагування таксанів з сировини спиртовим розчинником, знежирювання екстракту та виділення й очищення окремого таксану шляхом хроматографії.

Однією з задач цього винаходу є розробка способу виділення та очищення таксанових аналогів з джерела, що містить таксани, при цьому спосіб включає:

- екстрагування джерела таксанів в органічному екстрагенті;

- покривання робочого абсорбувального середовища екстрагентом та завантаження середовища у колонку, при цьому колонка містить абсорбент;

- елювання у першому етапі сумішшю органічного розчинника при тиску 68,95-137,90кПа (10-20psi) для отримання фракцій, що містять таксанові сполуки;

- кристалізування фракцій для отримання твердої таксанової сполуки та маточного розчину;

- концентрування маточного розчину;

- елювання у другому етапі маточного розчину сумішшю полярного розчинника крізь полімерну смолу для отримання, принаймні, другої таксанової сполуки.

Наступною задачею цього винаходу є розробка способу виділення та очищення таксанів з джерела, що містить таксани, при цьому спосіб включає:

- забезпечення джерелом таксанів;

- екстрагування таксанів зі джерела в органічне екстрагувальне середовище для того, щоб отримати органічний шар, що містить таксанові сполуки;

- обробку матеріалу-носія органічним шаром;

- забезпечення колонкою низького тиску, що містить абсорбент;

- елювання у першому етапі органічного розчинника крізь колонку для елювання очищених таксанових фракцій;

- кристалізування таксанових фракцій для того, щоб отримати перший таксановий аналог та маточний розчин;

- елювання у другому етапі маточного розчину крізь полімерну смолу у хроматографічній колонці для того, щоб очистити та елювати, принаймні, другий таксановий аналог та третій таксановий аналог;

та

збирання відокремлених таксанових аналогів.

Іще наступною задачею цього винаходу є розробка способу виділення та очищення таксанів з джерела, що містить таксани, при цьому спосіб включає:

забезпечення джерелом таксанів;

екстрагування таксанів зі згаданого джерела в органічне екстрагувальне середовище для того, щоб отримати органічний шар, що містить таксанові сполуки;

обробку матеріалу-носія органічним шаром;

забезпечення колонкою низького тиску, що містить абсорбент;

елюювання у першому етапі при тиску 68,95-137,90кПа (10-20psi) органічного розчинника крізь колонку для елюювання очищених таксанових фракцій та видалення флавоноїдних та лігнанових домішок;

кристалізування таксанових фракцій для того, щоб отримати перший таксановий аналог та маточний розчин;

елюювання у другому етапі при тиску 206,84кПа (30psi) маточного розчину крізь смолу полістиролу-дивінілбензолу У хроматографічній колонці для очищення та елюювання, принаймні, другого таксанового аналога та третього таксанового аналога;

елюювання у третьому етапі другого таксанового аналога та третього таксанового аналога крізь колонку нормальної фази з силікагелем для очищення другого таксанового аналога та третього таксанового аналога; та

збирання відокремлених таксанових аналогів.

Початкове джерело таксанів було рослинним матеріалом, *Taxus canadensis*, що є широко розповсюдженим у Східній Канаді. Застосовували гілочки та голки *Taxus canadensis* або їх суміші. Матеріал може бути свіжим або висušеним.

Сировину розмолоти та екстрагували метанолом при 60°C протягом 5 годин та відфільтрували. Метаноловий екстракт змішали з вугіллям та залишили на одну годину при кімнатній температурі. Потім цю суміш профільтрували. Фільтрат концентрували до приблизно 15% від початкового об'єму шляхом випаровування. Суміш води:дихлорометану у об'ємному відношенні 1:1 (v/v) додали до концентрату для отримання збагаченої на паклітаксел частини (органічний шар).

Органічний шар концентрували до зменшеного об'єму та нанесли на матеріал-носії. У цьому випадку матеріалом-носієм був броунмілерит (Celite 545).

Матеріал з покриттям завантажили у верхню частину промислової препаративної колонки, наприклад, колонки з розміром 150мм x 1500мм, та заповнили абсорбентом Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Колонку елюювали сумішшю гексан:ацетону (почали з 100:0 та закінчили 45:55) під тиском 68,95-137,90кПа (10-20psi). Фракції, що містили таксани, зібрали та проаналізували шляхом тонкошарової хроматографії (ТШХ) та потім об'єднали згідно з результатами ТШХ.

Фракції, які зібрали, потім концентрували у вакуумі, отриманий матеріал розчинили у метанолі та витримували при кімнатній температурі протягом ночі. Кристал, що утворився, відфільтрували та промили метанолом, потім перекристалізували з ацетону. Отримали 13-ацетил-9-дигідробаккатин III у вигляді білого кристалу.

Маточний розчин концентрували до сухості та залишок розчинили в ацетоні, Розчин ацетону змішали з полімерною смолою (смолою Dowex™, полістиролу-дивінілбензолу). Суміш випарювали у вакуумі для того, щоб видалити ацетон. Отриманий порошок піддали хроматографії низького тиску. Промислову хроматографічну колонку (150мм x 1500мм) заповнили смолою Dowex™ та елюювали ацетоном:водою (45:55, v/v) при швидкості потоку 150мл/хвилину при робочому тиску 206,84кПа (30psi). Зібрали фракції з об'ємом приблизно 2л кожна, які контролювали шляхом ТШХ та ВЕРХ. Фракції, що містили баккатин III та 10-деацетилбаккатин III, об'єднали та випарювали у вакуумі для того, щоб видалити майже увесь органічний розчинник, потім їх розвели водою та екстрагували CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Екстракт потім концентрували до сухості та отриманий залишок потім розчинили у EtOAc та очистили на колонці нормальної фази з силікагелем гексаном:EtOAc, що застосовували як розчинювальну систему (почали з 5:5 та закінчили при 35:65). Зрештою, отримали баккатин III та 10-деацетилбаккатин III у вигляді білого порошку, чистота якого перебільшувала 98%.

Фракції, що містили паклітаксел та цефаломанін об'єднали та випарювали у вакуумі для того, щоб видалити практично увесь ацетон, потім розподілили між водою та CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Органічний шар виділили та випарили до сухості у вакуумі. Залишок розчинили у метанолі. До розчину додали приблизно 30% (w/v) (у відношенні ваги до об'єму) води та суміш нагрівали до 60°C протягом 5 хвилин, потім витримували при кімнатній температурі протягом ночі. Сиру кристалічну тверду речовину з метанолового розчину відфільтрували та висušили у вакуумі при 70°C-75°C. Тверду речовину проаналізували шляхом ВЕРХ. Вона складалася з приблизно 70% паклітакселу та 25% цефаломаніну та деяких інших таксанів.

Сирий паклітаксел можна обробляти згідно з одним з трьох альтернативних способів. Щодо першої можливості, його розчинили в ацетоні та очистили шляхом колонкової зворотно-фазової хроматографії. Колонку заповнили полімерною смолою (смола Diaion, HP2MG) та елюювали ацетонітрилом:водою (45:55). Паклітаксел отримали у вигляді білого кристала, чистота якого перебільшувала 99%. Цефаломанін отримали у вигляді білого порошку, чистота якого перебільшувала 98%.

Альтернативно, щодо другої можливої обробки, очищення паклітакселу та цефаломаніну здійснювали шляхом хімічної реакції, а потім очищували шляхом колонкової зворотно-фазової хроматографії на зв'язаному силікагелі. Суміш сирого паклітакселу та цефаломаніну розчинили у CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> або CHCl<sub>3</sub> (1:10, w/v) та здійснили реакцію з 10 еквівалентами бром у колбі з круглим дном, що знаходилася у льодяній бані (0°C-5°C) протягом приблизно 40 хвилин. Отриману суміш паклітакселу та 2",3"-бромоцефаломаніну легко розділили на хроматографічній колонці зі зворотною фазою (C<sub>18</sub> або

феніл), при цьому елюювальним розчинником був  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  (45:55). Паклітаксел отримали у вигляді білого кристалу, чистота якого перебільшувала 99%. 2",3"-бromoцефаломанін отримали у вигляді суміші діастереомерів, які піддали реакції з активованим цинком у оцтовій кислоті при кімнатній температурі та які потім очистили шляхом колонкової флеш-хроматографії для того, щоб отримати чистий цефаломанін з чистотою більш ніж 95%.

Щодо третього альтернативного способу, паклітаксел та bromoцефаломанін очищували на колонці нормальної фази з силікагелем. Системи елюювального розчинника можуть включати гексан:EtOAc (починаючи з 6:4 та закінчуючи при 4:6) або  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{Me}_2\text{CO}$  (починаючи з 8:2 та закінчуючи при 65:35), або  $\text{CHCl}_3:\text{EtOAc}$  (починаючи з 75:25 та закінчуючи при 6:4). Внаслідок цього способу паклітаксел отримали у вигляді білого кристалу, чистота якого перебільшувала 99%, цефаломанін був присутнім у кількості менш ніж 0,2%.

Після приведення вище обговорення, винахід далі буде описано докладніше шляхом прикладів.

#### Приклад 1

Приблизно 200 кілограмів сухих гілочок-та голок *Taxus canadensis* екстрагували 1000 літрами метанолу при 60°C у промисловому багатофункціональному екстракторі протягом п'яти годин, а потім відфільтрували. Сировину екстрагували 700 літрами метанолу при температурі 55°C-60°C протягом ще 4 годин та відфільтрували. Фільтрат з'єднали та змішали з 10 кілограмами активованого вугілля (5% w/w) та витримували при кімнатній температурі протягом години, потім профільтрували для того, щоб видалити активоване вугілля. Фільтрат потім концентрували у вакуумі до приблизно 100 літрів, потім додали 300 літрів води:дихлорометану (1:1). Органічний шар зібрали та водний розчин екстрагували ще двічі 200 літрами дихлорометану. Розчин дихлорометану з'єднали та випарювали у вакуумі, доки він не придбав консистенції сметани, потім його розвели 20 літрами ацетону.

Розчин ацетону нанесли на 20 кілограмів броунмілериту (Celite 545). Покритий матеріал висушували на повітрі, а потім його завантажили у вер-ню 1,- гину трьох промислових хроматографічних колонок низького тиску (розмір: 150 x 15см) „ Кожну колонку заповнили 15 кілограмами абсорбенту оксиду алюмінію  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . Слід зазначити, що точний розмір колонок не є вирішальним. Колонки лише повинні бути досить великими, щоб вмістити об'єм  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , що є необхідним для виділення. Застосування оксиду алюмінію ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) є ефективним для абсорбування флавоноїдів та лігнанів, що екстрагуються разом з матеріалу джерела. Їх також важко видалити, що стає проблемою для кінцевої чистоти продукту паклітакселу.

Колонки елюювали системою розчинника гексан:ацетон (починаючи з 100:0 та закінчуючи при 45:55) при тиску 68,95-103,42кПа (10-15psi) зі швидкістю потоку приблизно 150мл/хвилину.

Фракції, що містили таксани, зібрали та з'єднали згідно з результатами ТШХ, та потім концентрували у вакуумі для того, щоб видалити усі розчинники. Отриманий матеріал розчинили у метанолі та витримували порошок завантажили у верхню частину промислової хроматографічної колонки низького тиску, заповненої співполімерною смолою полістиролу-дивінілбензолу, та елюювали 45% розчином ацетону у воді при швидкості потоку 150мл/хвилину при робочому тиску менш ніж 206,84кПа (30psi). Зібрали фракції по 2 літри кожна та їх контролювали шляхом ТШХ та ВЕРХ.

Маточний розчин з кристалізації 13-ацетил-9дигідробаккату III концентрували до сухості у вакуумі. Залишок розчинили у 3 літрах ацетону. Розчин ацетону змішали з 1,5 кілограмами співполімерної смоли полістиролу-дивінілбензолу. Суміш випарювали для того, щоб видалити розчинник, та отриманий порошок завантажили у верхню частину промислової хроматографічної колонки низького тиску, заповненої співполімерною смолою полістиролу-дивінілбензолу, та елюювали 45% розчином ацетону у воді при швидкості потоку 150мл/хвилину при робочому тиску менш ніж 206,84кПа (30psi). Зібрали фракції по 2 літри кожна та їх контролювали шляхом ТШХ та ВЕРХ.

Фракції, що містили паклітаксел та цефаломанін, з'єднали та випарювали у вакуумі для того, щоб видалити більшу частину ацетону, потім розвели деіонізованою водою та екстрагували тричі 2,5 літрами дихлорометану. Органічний шар концентрували до сухості у вакуумі, цей залишок розчинили у одному літрі метанолу.

До розчину метанолу додали приблизно 30% (w/v) води та суміш нагрівали до 60°C протягом декілька хвилин, потім витримували при кімнатній температурі протягом ночі. Сиру кристалічну тверду речовину з метанолового розчину відфільтрували та висушили у вакуумній печі при температурі 70°C-75°C. Тверда речовина складалася з приблизно 70% паклітакселу та 25% цефаломаніну. Вихід становив 31 грам.

Сирий паклітаксел (30г) розчинили у 200мл ацетонітрилу, розвели 250мл деіонізованої води та нагнічували у верхівку хроматографічної колонки низького тиску (розмір: 10x150см), заповненої полімерною смолою (Diaion, макропориста смола поліметакрилату). Після нагнічування зразка колонку елюювали зі ступінчастим градієнтом 35, 40, 45 та 50% ацетонітрилу у воді. На зміну розчинника вказували результати ТШХ та ВЕРХ фракцій.

Зібрали фракції, об'ємом приблизно 1 л кожна. Їх контролювали шляхом ТШХ та ВЕРХ. Швидкість потоку становила 75мл/хвилину. Колонкові фракції, що містили паклітаксел або цефаломанін, з'єднали окремо. Два з'єднаних розчини залишили при температурі приблизно 5°C до завершення кристалізації окремої сполуки.

Кристали відфільтрували окремо та обидва перекристалізували з розчину метанолу у воді при 65°C.

Паклітаксел отримали у вигляді білих голкоподібних кристалів з чистою, що перебільшувала 99%, та у кількості 18,5г (0,009%).

Цефаломанін отримали у вигляді білих голок з чистотою, що перебільшувала 98%, та у кількості 6,5г (0,003%).

Фракції, що містили баккату III та 10-деацетилбаккату III з попереднього етапу, об'єднали та

випарювали у вакуумі для того, щоб видалити практично ацетон, потім їх розподілили між 3 літрами води та дихлорометану (1:1 v/v). Органічний шар концентрували до сухості та залишок піддали хроматографії з нормальною фазою. Розмір колонки, яку застосовували, становив 10,16x122см (4"x4"); вона була заповнена силікагелем (200-300меш). Елюювальний розчинник гексан:етилацетат мав ступінчастий градієнт (починаючи з 50:50 та закінчуючи при 35:65). Зібрали фракції об'ємом приблизно 1000мл кожна. Кожну фракцію контролювали шляхом ТШХ.

Фракції, що містили баккатин III або 10-деацетилбаккатин III, зібрали окремо та об'єднали згідно з результатами ТШХ, потім концентрували до сухості.

Частину з баккатином III розчинили у 200мл метанолу та витримували у холодильнику протягом ночі. Утворені білі кристали відфільтрували та перекристалізували з метанолу, внаслідок чого отримали 7,5г (0,003%) баккату III у вигляді білих кристалів.

Сирий 10-деацетилбаккатин III розчинили у 150мл ацетону, а потім розвели 150мл гексану. Суміш витримували при кімнатній температурі протягом ночі. Утворені білі кристали відфільтрували та перекристалізували з такого ж розчинника, внаслідок чого отримали 15г (0,007%) 10-деацетилбаккату III у вигляді білих кристалів.

#### Приклад 2

Застосовуючи подібний пристрій та методологію, як і у Прикладі 1, отримали сирий паклітаксел. Сирий паклітаксел розчинили у 300мл дихлорометану, який додали до 1000мл тригорлої круглодонної колби. Колбу розташували у льодяній бані та розчин перемішували магнітною мішалкою. Коли температура досягла приблизно 5°C, розчин бром у (10 еквівалентів) у дихлорометані (1:1 v/v) повільно додали при перемішуванні. Співвідношення цефаломаніну до бром у становило 1:10 молів.

Бром ування протягом 5-10 хвилин контролювали шляхом ТШХ. Потім реакційну суміш розвели 300мл дихлорометану та перенесли до ділильної лійки після завершення реакції (час завершення становив 40-50 хвилин). У реакційну суміш додали 350мл 10% водного тіосульфату натрію ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) для того, щоб абсорбувати надмірний об'єм бром у. Шар дихлорометану виділили та промили водою та концентрованим соляним розчином, а потім концентрували до сухості у вакуумі. Отримали світло-коричневий порошок.

#### Приклад 3

Сирий матеріал (10г) з Прикладу 2 розчинили у 120мл ацетонітрилу, потім розвели 150мл деіонізованої води. Розчин нагнічували до верхівки хроматографічної зворотно-фазової колонки (5x100см), заповненої зв'язаним силікагелем  $\text{C}_{18}$ .

Колонку елюювали ацетонітрилом:водою (45:55) при робочому тиску 206,84-275,79кПа (30-40psi). Швидкість потоку становила 30мл/хвилину. Фракції зібрали (250мл кожна), контролювали шляхом ТШХ та об'єднали.

Частина, що містила паклітаксел, витримувалася протягом ночі; утворені кристали відфільтрували та перекристалізували з 70% метанолу. Паклітаксел отримали у вигляді білих голкоподібних кристалів. Його чистота становила більш ніж 99%, та вихід становив 6,1г.

Фракції, що містили 2", 3"-бромоцефаломанін, об'єднали, розподілили між водою та дихлорометаном. Органічний шар зібрали та випарювали до сухості у вакуумі. Залишок розчинили у 150мл метанолу, який розвели 50мл води, для того, щоб отримати голкоподібні кристали. Біловатий кристал перекристалізували з метанолу:води і отримали 2",3"-бромоцефаломанін у вигляді білих кристалів.

Два грама 2",3"-бромоцефаломаніну розчинили у 30мл  $\text{AsOH}$  та додали щойно активований цинк (2г). Суміш перемішували протягом трьох годин при кімнатній температурі та реакцію контролювали шляхом ТШХ. Після того, як аналіз ТШХ показав, що реакція закінчилася, суміш розподілили між дихлорометаном та 10%  $\text{NaHCO}_3$  (300мл, 2:1). Органічний шар промили водою та концентрували до сухості. Сирий продукт очистили шляхом флеш-хроматографії і отримали цефаломанін у вигляді білого порошку.

#### Приклад 4

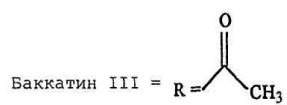
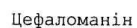
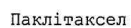
Сирий матеріал (10г) з Прикладу 2 розчинили у 120мл дихлорометану. Органічний шар концентрували до сухості та залишок піддали хроматографії з нормальною фазою. Розмір колонки, яку застосували, становив 10,16x122см (4"x4"). Її було заповнено силікагелем (200-300меш). Елюювальний розчинник дихлорометан:етилацетат мав ступінчастий градієнт (починаючи з 75:25 та закінчуючи при 6:4). Для виділення паклітакселу та 2",3"-бромоцефаломаніну можна також застосовувати розчинювальну систему гексан:етилацетат (починаючи з 6:4 та закінчуючи при 4:6) та дихлорометан:ацетон (починаючи з 8:2 та закінчуючи при 65:35). Зібрали фракції об'ємом приблизно 500 мл кожна та кожну контролювали шляхом ТШХ.

Фракції, що містили паклітаксел та 2",3"-бромоцефаломанін, зібрали окремо та об'єднали згідно з результатами ТШХ, потім концентрували до сухості.

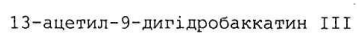
Частину з паклітакселем розчинили у 100мл метанолу та розвели 35 мл води, потім витримували у холодильнику. Утворені білі кристали відфільтрували та перекристалізували з метанолу:води та отримали паклітаксел (5,5г) у вигляді білих кристалів.

Сирий 2",3"-бромоцефаломанін розчинили у 50мл ацетону і потім розвели 50мл гексану. Суміш витримували при кімнатній температурі протягом ночі. Утворені білі кристали відфільтрували та перекристалізували з такого ж розчинника і отримали 2",3"-бромоцефаломанін у вигляді білих кристалів.

Наступні приклади ілюструють сполуки у структурній формі.



10-деацетилбаккатин IV = R=H



Незважаючи на описані вище варіанти здійснення винаходу, винахід не обмежується ними. Для

фахівців у науці буде зрозуміло, що численні модифікації утворюють частину цього винаходу, доки вони не суперечать духові, природі та обсягу описаного винаходу та формули цього винаходу.