

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 025033

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2016.11.30

(21) Номер заявки
201391158

(22) Дата подачи заявки
2011.08.15

(51) Int. Cl. C07D 279/20 (2006.01)
A61K 31/5415 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(54) ДИАМИНИЕВЫЕ СОЛИ ФЕНОТИАЗИНА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 201101060-0; 61/485,880

(32) 2011.02.11; 2011.05.13

(33) SG; US

(43) 2014.02.28

(86) PCT/GB2011/001221

(87) WO 2012/107706 2012.08.16

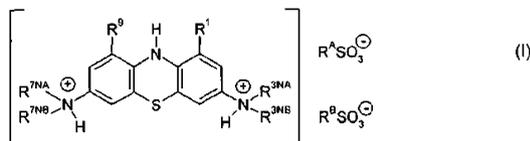
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
УИСТА ЛЭБОРЭТЭРИЗ ЛТД. (SG)

(72) Изобретатель:
Маршалл Колин, Клунас Скотт,
Стори Джон Мервин Дэвид, Синклер
Джеймс Питер, Баделли Томас
Кравен, Ишак Ахтшам, Симпсон
Майкл, Уилльямсон Крейг, Вуд
Барри Алан, Вишик Клод Мишель,
Харрингтон Чарльз Роберт, Рикард
Дженет Элизабет, Хорсли Дэвид
(GB), Лох Инь Сзе (SG), Кхан Каррар
Ахмад, Ларч Кристофер Пол (GB)

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

(56) DATABASE REGISTRY
[Online] CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE,
COLUMBUS, OHIO, US; 2010, XP002661598,
retrieved from stn, Database accession no.
1236208-20-0, compounds 1236208-20-0
WO-A2-2007110627
WO-A2-2008155533

(57) Изобретение относится к соединениям общей формулы (I)



где каждый из R^1 и R^9 независимо выбран из -H, C_{1-4} алкила, C_{2-4} алкенила и галогенированного C_{1-4} алкила; каждый из R^{3NA} и R^{3NB} независимо выбран из -H, C_{1-4} алкила, C_{2-4} алкенила и галогенированного C_{1-4} алкила; каждый из R^{7NA} и R^{7NB} независимо выбран из -H, C_{1-4} алкила, C_{2-4} алкенила и галогенированного C_{1-4} алкила и где каждый из R^A и R^B независимо выбран из C_{1-4} алкила, галогенированного C_{1-4} алкила и C_{6-10} арила или R^A и R^B соединены, образуя группу, выбранную из C_{1-6} алкилена и C_{6-10} арилена; и их фармацевтически приемлемым солям, которые являются пригодными в лечении, например, болезни Альцгеймера. В других аспектах изобретение также относится к новым составам 3,7-диамино-10Н-фенотиазиниевых солей.

025033 B1

025033 B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится, в общем, к области фенотиазиновых соединений, в частности определенным диаминиевым солям фенотиазина, включая их применение и составы. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к бис-(сульфонатным) солям диаминофенотиазиновых соединений, таких как N,N,N',N'-тетраметил-10Н-фенотиазин-3,7-диамин. Соединения настоящего изобретения являются пригодными, например, в лечении таупатий, таких как болезнь Альцгеймера (AD).

Уровень техники настоящего изобретения

Ряд патентов и публикаций приводятся в настоящем изобретении для того, чтобы более полно описать и раскрыть настоящее изобретение и современный уровень техники, к которому относится настоящее изобретение. Каждая из данных ссылок включена в настоящее изобретение полностью в той же степени, как если бы было указано, что каждая отдельная ссылка специально и отдельно включена с помощью ссылки.

В настоящем изобретении, включая формулу изобретения, которая следует далее, если контекст не требует иначе, ясно, что слово "включает" и варианты, такие как "включающий" и "включая", подразумевают включение указанного целого или стадии или группы целых или стадий, но не исключают любое другое целое или стадию или группу целых или стадий.

Следует отметить, что, как применяют в описании и прилагаемой формуле изобретения, единичные формы "a", "an" и "the" включают множественные ссылки, если контекст ясно не предписывает иначе. Таким образом, например, ссылка "фармацевтический носитель" включает смеси двух или более данных носителей и подобные.

Диапазоны часто приводятся в настоящем изобретении как от приблизительно одной конкретной величины и/или до приблизительно другой конкретной величины. При выражении данного диапазона другой вариант осуществления включает от одной конкретной величины и/или до другой конкретной величины.

Аналогично, когда величины приводят в виде приближенных величин применением предшествующего слова "приблизительно", ясно, что конкретная величина образует другой вариант осуществления.

Любой подзаголовок в настоящем изобретении включен только для удобства и не следует истолковывать его как ограничивающий настоящее описание любым способом.

Заболевания с синдромом деменции часто характеризуются нарастающим накоплением внутриклеточных и/или внеклеточных отложений белковоподобных структур, таких как β -амилоидные бляшки и нейрофибрилярные клубки (NFT) в мозге страдающих от заболевания пациентов. Появление данных очагов повреждения в значительной степени коррелирует с патологической нейрофибрилярной дегенерацией и атрофией мозга, а также с когнитивным нарушением (см., например, Mukaetova-Ladinska, E.B. et al., 2000, *Am. J. Pathol.*, Vol. 157, No. 2, p. 623-636).

При болезни Альцгеймера и нейритические бляшки, и NFT содержат спаренные спиральные филаменты (PHF), из которых основным компонентом является связанный с микротрубочками тау-белок (см., например, Wischik et al., 1988, *PNAS USA*, Vol. 85, p. 4506-4510). Бляшки также содержат внеклеточные β -амилоидные фибриллы, полученные в результате нарушенной обработки белка-предшественника амилоида (APP) (см., например, Kang et al., 1987, *Nature*, Vol. 325, p. 733). Статья Wischik et al. (в *Neurobiology of Alzheimer's Disease*, 2nd Edition, 2000, Eds. Dawbarn, D. and Allen, S.J., *The Molecular and Cellular Neurobiology Series*, Bios Scientific Publishers, Oxford) подробно обсуждает предполагаемую роль тау-белка в патогенезе нейродегенеративной деменции. Все из потери нормальной формы тау, накопления патологических PHF и потери синапсов в среднелобной доле коррелируют с ассоциированными когнитивными нарушениями. Более того, и потеря синапсов, и потеря пирамидальных клеток коррелируют с морфометрическими величинами реагирующей на тау нейрофибрилярной патологии, которая соответствует, на молекулярном уровне, практически полному перераспределению пула тау-белка из растворимой в полимеризуемую форму (т.е. PHF) при болезни Альцгеймера.

Тау существует в альтернативно сплайсированных изоформах, которые содержат три или четыре копии повторяющейся последовательности, соответствующей домену, связывающему микротрубочки (см., например, Goedert, M., et al., 1989, *EMBO J.*, Vol. 8, p. 393-399; Goedert, M., et al., 1989, *Neuron*, Vol. 3, p. 519-526). Тау в PHF подвергается протеолитической обработке до ключевого домена (см., например, Wischik, C.M., et al., 1988, *PNAS USA*, Vol. 85, p. 4884-4888; Wischik et al., 1988, *PNAS USA*, Vol. 85, p. 4506-4510; Novak, M., et al., 1993, *EMBO J.*, Vol. 12, p. 365-370), который состоит из сдвинутого по фазе варианта повторяющегося домена; только три повтора включены в стабильное тау-тау взаимодействие (см., например, Jakes, R., et al., 1991, *EMBO J.*, Vol. 10, p. 2725-2729). После образования PHF-подобные тау агрегаты действуют как затравка для дальнейшего захвата и дают матрицу для протеолитического процессинга полноразмерного тау-белка (см., например, Wischik et al., 1996, *PNAS USA*, Vol. 93, p. 11213-11218).

Сдвиг по фазе, который наблюдается в повторяющемся домене тау, включенном в PHF, указывает на то, что повторяющийся домен подвергается индуцированным конформационным изменениям в про-

цессе включения в филамент. При возникновении AD, предполагается, что данное конформационное изменение может вызываться связыванием тау с патологическим субстратом, таким как поврежденные или мутированные мембранные белки (см., например, Wischik, C.M., et al., 1997, в "Microtubule-associated proteins: modifications in disease", Eds. Avila, J., Brandt, R. and Kosik, K.S. (Harwood Academic Publishers, Amsterdam) p. 185-241).

В процессе их образования и накопления РНФ вначале объединяются, образуя аморфные агрегаты в цитоплазме, вероятно из ранних тау олигомеров, которые становятся урезанными перед или в процессе РНФ сборки (см., например, Mena, R., et al., 1995, *Acta Neuropathol.*, Vol. 89, p. 50-56; Mena, R., et al., 1996, *Acta Neuropathol.*, Vol. 91, p. 633-641). Затем данные филаменты развиваются, образуя классические внутриклеточные NFT. В данном состоянии РНФ состоят из ядра урезанного тау и рыхлого внешнего покрытия, содержащего полноразмерный тау (см., например, Wischik et al., 1996, *PNAS USA*, Vol. 93, p. 11213-11218). Процесс сборки является экспоненциальным, потребляющим клеточный пул нормально-функционального тау и вызывающим синтез нового тау, восполняя его недостаток (см., например, Lai, R.Y.K., et al., 1995, *Neurobiology of Ageing*, Vol. 16, No. 3, p. 433-445). В итоге, функциональное нарушение нейрона прогрессирует до момента гибели клетки, оставляя после себя внеклеточный NFT. Гибель клетки в высокой степени коррелирует с количеством внеклеточных NFT (см., например, Wischik et al., в *Neurobiology of Alzheimer's disease*, 2nd Edition, 2000, Eds. Dawbarn, D. and Allen, S.J., The Molecular and Cellular Neurobiology Series, Bios Scientific Publishers, Oxford). По мере того как клубки выталкиваются во внеклеточное пространство, имеется прогрессирующая потеря рыхлого наружного покрытия нейрона с соответствующей потерей N-концевой тау иммунореактивности, не сохранение тау иммунореактивности, связанной с РНФ ядром (см., например, Bondareff, W. et al., 1994, *J. Neuropath. Exper. Neurol.*, Vol. 53, No. 2, p. 158-164).

Диаминофенотиразиновые соединения.

Хлорид метилтиониния (МТС) (также известный как метиленовый синий (МВ); хлорид метилтионина; хлорид тетраметилтионина; хлорид 3,7-бис-(диметиламино)фенотиазин-5-ия; C.I. Basic Blue 9; хлорид тетраметилтионина; хлорид 3,7-бис-(диметиламино)фенатазидин; Swiss blue; C.I. 52015; C.I. Solvent Blue 8; анилиновый фиолетовый и Urolene Blue®) является низкомолекулярным (319,86), растворимым в воде, трициклическим органическим соединением следующей формулы



Хлорид метилтиониния (МТС) представляет собой хорошо известный фенотиразиновый краситель и окислительно-восстановительный индикатор, и его также применяют в качестве оптического зонда биофизических систем, в качестве интеркалятора в нанопористые материалы, в качестве окислительно-восстановительного посредника и при фотоэлектрохромном получении изображения.

Хлорид метилтиониния (МТС) и другие диаминофенотиазинны описаны в качестве ингибиторов агрегации белков при заболеваниях, в которых белки агрегируют патологически.

В частности, показано, что диаминофенотиазинны, включая МТС, ингибируют агрегацию тау-белка и разрушают структуру РНФ, и изменяют протеолитическую стабильность РНФ ядра (см., например, WO 96/30766, Hofmann-La Roche). Данные соединения описаны для применения в лечении или профилактики различных заболеваний, включая болезнь Альцгеймера.

WO 2007/110630 (WisTa Laboratories Ltd) также описывает определенные специфические диаминофенотиразиновые соединения, родственные МТС, включая ЕТС, DEMТС, DMETS, DEETS, MTZ, ETZ, МТИ, МТИЛНИ, ЕТИ, ЕТЛНИ, МТН и ЕТН, которые являются пригодными в качестве лекарственных средств, например, при лечении болезни Альцгеймера.

Кроме того, WO 2005/030676 (The University Court: of the University of Aberdeen) обсуждает радиомеченные фенотиазинны и их применение в диагностике и терапии, например, таупатий.

Хлорид метилтиониния (МТС) также описан для других медицинских применений. Например, в настоящее время его применяют при лечении метгемоглобинемии (состояние, которое наблюдается, когда кровь не может доставлять кислород туда, где это необходимо, в организме). МТС также применяют в качестве медицинского красителя (например, для окрашивания определенных частей тела перед или в процессе операции); диагностического средства (например, в качестве индикаторного красителя для обнаружения определенных соединений, присутствующих в моче); слабого антисептика мочевого пузыря; стимулятора слизистых поверхностей; терапевтического и превентивного средства от камней в почках; и при диагностике и лечении меланомы.

МТС применяют для лечения малярии, или отдельно (см., например, Guttman, P. and Ehrlich, P., 1891, "Über die Wirkung des methylenblau bei malaria", *Berl. Klin. Wochenschr.*, Vol. 28, p. 953-956), или в комбинации с хлороквином (см., например, Schirmer, H., et al., 2003, "Methylene blue as an antimalarial

agent," Redox Report, Vol. 8, p. 272-275; Rengelshausen, J., et al., 2004, "Pharmacokinetic interaction of chlorocjuine and methylene blue combination against malaria", European Journal of Clinical Pharmacology, Vol. 60, p. 709-715).

МТС (под названием Viostat® от Bioenvision Inc., New York) также показал сильную вируцидную активность *in vitro*. В частности, Viostat® является эффективным против вирусов, таких как ВИЧ и вирус Западного Нила в лабораторных испытаниях. Viostat® также в настоящее время проходит клинические испытания для лечения хронического гепатита С, вирусной инфекции печени. Вирус, HCV, является основной причиной острого гепатита и хронического заболевания печени, включая цирроз и рак печени.

МТС в комбинации со светом может также предотвращать репликацию нуклеиновых кислот (ДНК или РНК). Плазма, тромбоциты и красные кровяные клетки не содержат ядерных ДНК или РНК. Когда МТС вводят в кровяные компоненты, он проходит бактериальные клеточные стенки или вирусную мембрану, затем перемещается во внутреннюю часть структуры нуклеиновой кислоты. При активации светом, затем соединение связывается с нуклеиновой кислотой вирусного или бактериального патогена, препятствуя репликации ДНК или РНК. Поскольку МТС может дезактивировать патоген, он обладает потенциалом снижать риск передачи патогенов, которые могут оставаться недетектируемыми при анализе.

Пероральные и парентеральные составы МТС имеются в продаже в Соединенных Штатах, обычно под названием Uroline Blue®.

Восстановленные ("лейко") формы МТС, фенотиазин-5-иевую соль, можно считать "окисленной формой" относительно соответствующего 10Н-фенотиазинового соединения, N,N,N',N'-тетраметил-10Н-фенотиазин-3,7-диамина, который можно считать "восстановленной формой"



Известно, что "восстановленная форма" (или "лейкоформа") является нестабильной и может легко и быстро окисляться, давая соответствующую "окисленную" форму.

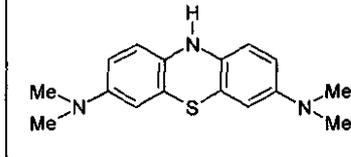
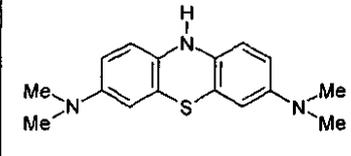
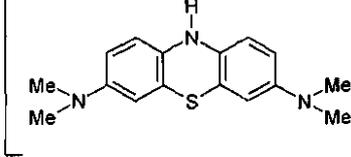
May et al. (Am. J. Physiol. Cell Physiol., 2004, Vol. 286, p. C1390-C1398) показал, что человеческие эритроциты последовательно восстанавливают и поглощают МТС; что сам МТС не поглощается клетками; что именно восстановленная форма МТС проходит через клеточную мембрану; что скорость поглощения является зависимой от фермента и что и МТС и восстановленный МТС накапливаются в клетках (восстановленный МТС приходит в равновесие внутри клетки, образуя МТС).

МТС и аналогичные лекарственные средства поглощаются в кишечнике и попадают в кровоток. Непоглощенное лекарственное средство проникает далее в пищеварительный тракт, в дистальную часть кишечника. Одним важным нежелательным побочным эффектом является эффект непоглощенного лекарственного средства в дистальной части кишечника, например аллергическая реакция в дистальной части кишечника и/или антимикробные эффекты непоглощенного лекарственного средства в дистальной части кишечника, оба из которых ведут к диарее. Следовательно, желательно снизить до минимума количество лекарственного средства, которое проникает в дистальную часть кишечника. Увеличивая поглощение лекарственного средства в кишечнике (т.е. увеличивая биодоступность лекарственного средства), можно снизить дозу и можно облегчить нежелательные побочные эффекты, такие как диарея.

Поскольку именно восстановленная форма МТС поглощается клетками, может быть желательно вводить пациентам восстановленную форму. Это также может снизить определяющую роль ограничивающей скорости стадии ферментативного восстановления.

WO 02/055720 (The University Court of the University of Aberdeen) описывает применение восстановленных форм определенных диаминофенотиазиниев для лечения заболеваний, связанных с агрегацией белков, в первую очередь, таупатий.

WO 2007/110627 (WisTa Laboratories Ltd) описывал определенные 3,7-диамино-10Н-фенотиазиниевые соли, эффективные в качестве лекарственных средств или пролекарств для лечения заболеваний, включая болезнь Альцгеймера. Данные соединения также находятся в "восстановленной" или "лейко" форме при рассмотрении относительно МТС. Они включают следующие соли:

	HCl HCl	Ди (хлорид) N, N, N', N' - тетраметил-10Н- фенотиазин-3, 7-диамина (LMT.2HCl)
	HBr HBr	Ди (бромид) N, N, N', N' - тетраметил-10Н- фенотиазин-3, 7-диамина (LMT.2HBr)
	HI HI	Ди (йодид) N, N, N', N' - тетраметил-10Н- фенотиазин-3, 7-диамина (LMT.2HI)

Хотя и обеспечивая некоторые преимущества по сравнению с применением МТС, синтез LMT.2HCl в определенных условиях может приводить в результате к тому, что CH₃Cl будет захватываться в кристаллах. Затем его надо удалять, поскольку CH₃Cl является токсичным, и его концентрации необходимо держать ниже максимальной безопасной концентрации.

Более того, LMT.2HBr содержит ионы брома. Это в принципе является менее желательным, поскольку бромид является токсичным и при высокой концентрации или при постоянном дозировании и при низкой концентрации, и может вызывать побочные эффекты, такие как спутанность сознания, у пациентов.

Следовательно, можно видеть, что обеспечение дополнительных солей метилтиониниевых соединений, обладающих одним или более желательными свойствами по сравнению с уже известными соединениями, будет усовершенствовать существующий уровень техники.

Более того, обеспечение новых составов метилтиониниевых соединений, которые увеличивают стабильность, поглощение и/или иначе увеличивают их эффективность в качестве терапевтических средств, будет усовершенствовать существующий уровень техники.

Сущность настоящего изобретения

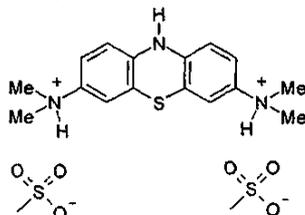
Авторы настоящего изобретения в настоящее время обнаружили новый класс стабильных фенотиазиндиаминиевых соединений, которые обладают улучшенными свойствами по сравнению с ранее описанными диаминофенотиазиновыми соединениями и солями.

Свойства соединений описывают далее в настоящем изобретении, посредством чего можно видеть, что в предпочтительных вариантах осуществления настоящее изобретение может обеспечивать одно или более из улучшенных физических, фармакокинетических, биохимических или других полезных свойств.

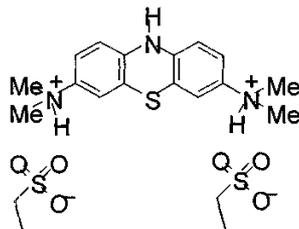
В других аспектах авторы настоящего изобретения также обеспечивают новые составы 3,7-диамино-10Н-фенотиазиниевых солей.

В одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает определенные соединения, в частности определенные фенотиазиндиаминиевые соединения, как описано в настоящем изобретении.

Одно из соединений по изобретению представляет соединение следующей формулы:



Другой аспект настоящего изобретения относится к соединению формулы



Другой аспект настоящего изобретения относится к способу получения соединений, описанных выше, из N-защищенного 3,7-диамино-10H-фенотиазина, включающий стадии деблокирования кольцевой аминогруппы (DP) и образования соли (SF).

Другой аспект настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение, описанное в настоящем изобретении, и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

Другой аспект настоящего изобретения относится к способу получения фармацевтической композиции, содержащей смесь соединения, как описано в настоящем изобретении, и фармацевтически приемлемого носителя или разбавителя, включающий смешивание соединения по изобретению и фармацевтически приемлемого носителя или разбавителя.

Другой аспект настоящего изобретения относился к фармацевтической композиции в твердой лекарственной форме, содержащей соединение, как описано в настоящем изобретении, и дополнительно содержащей по меньшей мере один разбавитель, пригодный для сухого прессования, при этом необязательно твердую лекарственную форму получают прямым прессованием сухим гранулированием.

Другой аспект настоящего изобретения относится к способу получения фармацевтической композиции способом сухого прессования, причем указанный состав представляет собой твердую лекарственную форму, содержащую соединение, как описано в настоящем изобретении, по меньшей мере один разбавитель, пригодный для сухого прессования, и, необязательно, одно или более других вспомогательных веществ.

Другой аспект настоящего изобретения относится к способу лечения или профилактики заболевания у субъекта, включающему введение указанному субъекту профилактически или терапевтически эффективного количества соединения, как описано в настоящем изобретении, предпочтительно в виде фармацевтической композиции, предпочтительно фармацевтической композиции в твердой лекарственной форме, как далее описано в настоящем изобретении.

Другой аспект настоящего изобретения относится к соединению или композиции, как описано в настоящем изобретении, для применения в способе лечения или профилактики (например, заболевания) человека или животного.

Другой аспект настоящего изобретения относится к применению соединения или композиции, как описано в настоящем изобретении, для получения лекарственного средства для применения в лечении или профилактики заболевания.

В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой заболевание агрегации белков.

В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой таупатию, например нейродегенеративную таупатию, например болезнь Альцгеймера или другое заболевание, описанное далее в настоящем изобретении.

В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой заболевание кожи, например меланому.

В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой вирусное, бактериальное или протозойное заболевание, например гепатит С, ВИЧ, вирус Западного Нила (WNV) или малярию.

Другой аспект настоящего изобретения относится к способу дезактивации патогена в образце (например, образце крови или плазмы), включающему стадии введения соединения или композиции, как описано в настоящем изобретении, в образец, и затем воздействие на образец светом.

Специалисту в данной области техники ясно, что отличительные признаки и предпочтительные варианты осуществления одного аспекта настоящего изобретения будет также относиться к другим аспектам настоящего изобретения.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1 показывает ^1H ЯМР спектр примерного соединения настоящего изобретения (LMT.2MsOH) в центрированном метаноле (CD_3OD) при 600 МГц.

Фиг. 2 показывает ^{13}C ЯМР спектр LMT.2MsOH в CD_3OD при частоте 100,56 МГц.

Фиг. 3 показывает DEPT-135 спектр LMT.2MsOH в CD_3OD при частоте 100,56 МГц.

Фиг. 4 показывает HSQC спектр LMT.2MsOH в CD_3OD при частоте 100,56 МГц.

Фиг. 5 показывает увеличенную часть HSQC спектра LMT.2MsOH в CD_3OD при частоте 100,56 МГц.

Фиг. 6 показывает ИК (FT-IR) спектр LMT.2MsOH (KBr).

Фиг. 7 показывает масс-спектр LMT.2MsOH при электронном ударе (EI).

Фиг. 8 показывает масс-спектр LMT.2MsOH при ионизации электроспреем (ESI).

Фиг. 9 показывает УФ/ВО спектр LMT.2MsOH в деионизированной воде.

Фиг. 10 показывает ВЭЖХ кривую LMT.2MsOH.

Фиг. 11 показывает порошковую рентгеновскую дифрактограмму для LMT.2MsOH, измеренную при Cu K α излучении.

Фиг. 12 показывает FT-Рамановский спектр для кристаллической LMT.2MsOH. Сигналы с наибольшими интенсивностями обнаружены при 1615, 1588, 1258 и 1042 см⁻¹.

Фиг. 13 показывает термогравиметрический профиль для кристаллической LMT.2MsOH. Постоянный вес детектировали TG и TG-FTIR вплоть до начала разложения при 240-270°C.

Фиг. 14 показывает анализ дифференциальной сканирующей калориметрией для кристаллической LMT.2MSOH. За резкой температурой плавления при 271°C ($\Delta H=87$ Дж/г) сразу же шло разложение.

Фиг. 15a и 15b показывают кривую динамической сорбции паров (ДСП) для кристаллической LMT.2MsOH, измеренную при 25°C с 5%/ч скоростью сканирования. Горизонтальные пунктирные линии показывают стадии поглощения воды 1 экв. Стабильный вес образца (менее чем 0,5 мас.%. изменение) наблюдали в диапазоне относительной влажности (r.h.) 0-70%. Выше данной относительной влажности поглощение воды быстро увеличивалось, и образец, в конце концов, растворялся. После сушки содержание воды снижалось снова до приблизительно 4 экв. при 50% относительной влажности ДСП кривая кристаллической дигидрохлоридной соли (LMT.2HCl) показана для сравнения в виде пунктирной линии, ДСП кривая дигидробромидной соли (LMT.2HBr) в виде точечного пунктира.

Фиг. 15c показывает кривую динамической сорбции паров (ДСП) для кристаллической LMT.2MsOH в виде функции времени. Относительная влажность также показана (правая ось). Горизонтальные пунктирные линии показывают стадии поглощения 1 экв. воды.

Фиг. 16 показывает картину микроскопии в поляризованном свете LMT.2MsOH (левая) и перекристаллизованной LMT.2MsOH (правая). Кристаллы с размером вплоть до 100 нм получали перекристаллизацией из 2-PrOH/вода. Кристаллы имели нерегулярную форму.

Фиг. 17a-c показывают рентгеновские кристаллические структуры LMT.EsOH, LMT.EDSA и LMT.2MsOH.

Фиг. 18 показывает сравнение концентрации в плазме свиньи MT молекулы с течением времени после введения дозы LMT.2HBr, LMT.2HCl и LMT.2MsOH.

Фиг. 19 представляет собой диаграмму устройства, применяемого в исследованиях на растворение (см. пример состава 12).

Подробное описание настоящего изобретения

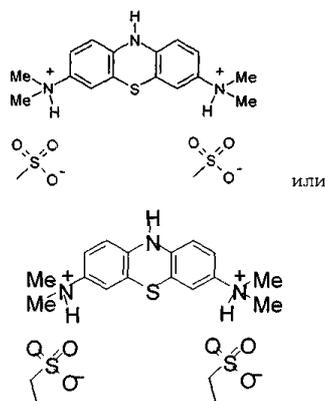
Авторы настоящего изобретения обнаружили новый класс фенотиазиндиаминиевых соединений, которые обладают требуемыми физическими или другими свойствами и/или неожиданно увеличивают активность по сравнению с ранее описанными диаминофенотиазининовыми соединениями и солями.

В других аспектах они дополнительно обеспечили новые составы фенотиазиндиаминиевых соединений, включая (но без ограничения) класс, приведенный выше.

Соединения.

В общих чертах, если контекст не требует иначе, соединения настоящего изобретения можно описать как бис-(сульфонатные) соли (или бис-(сульфо) соли) 3,7-диамино-10Н-фенотиазининовых соединений. Другими словами, соединения представляют собой соли соответствующих 3,7-диамино-10Н-фенотиазининовых соединений с органическими сульфокислотами.

Более конкретно, соединение настоящего изобретения представляет собой бис-(сульфонатную) соль соединения формулы:



Другими словами, соединения настоящего изобретения можно считать продуктами, полученными реакцией 3,7-диамино-10Н-фенотиазининового соединения путем деблокирования кольцевой аминогруппы

(DP) и образования соли (SF).

Дополнительные определения и предпочтения.

Группы R^1 и R^9 .

Каждый из R^1 и R^9 независимо представляет собой -H.

Группы R^{3NA} и R^{3NB} .

Каждый из R^{3NA} и R^{3NB} представляет собой метил.

Группы R^{7NA} и R^{7NB} .

Каждый из R^{7NA} и R^{7NB} представляет собой метил.

Группа R^{Prot} .

R^{Prot} представляет собой ацил.

Комбинации.

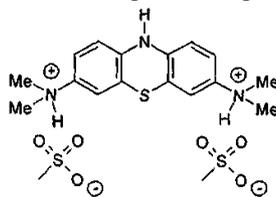
Все совместимые комбинации вариантов осуществления, описанных выше, явно описаны в настоящем изобретении, как если бы каждая комбинация перечислялась специально и отдельно.

В частности, в соединениях настоящего изобретения группы R^{3NA} , R^{3NB} , R^{7NA} , R^{7NB} , R^1 , R^9 , R^A и R^B (и R^{AB}) определяют как независимые переменные, и специалисту в данной области техники ясно, что любую совместимую комбинацию данных групп и заместителей можно применять в соединениях и способах настоящего изобретения.

Следовательно, все совместимые комбинации данных и других определенных переменных специально включены в настоящее изобретение, и они описаны в настоящем изобретении, как если бы каждая комбинация перечислялась отдельно и явно.

Некоторые предпочтительные варианты осуществления

Одно конкретное соединение настоящего изобретения представляет собой соединение 1



бис-(метансульфонат) N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамина.

Данное соединение можно также называть

бис-(гидрометансульфонатом) N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамина,

лейко бис-(гидрометансульфонатом)метилтиониния,

лейко бис-(мезилатом)метилтиониния,

LMTM,

LMT.2MsOH.

Чистота.

Соединения настоящего изобретения можно удобно описывать как являющиеся "стабилизированной восстановленной формой". Соединения окисляются (например, самоокисляются), давая соответствующие окисленные формы. Таким образом, вероятно, если не неизбежно, что композиции, содержащие соединения настоящего изобретения, будут содержать в качестве примеси, по меньшей мере, некоторую долю соответствующего окисленного соединения.

Таким образом, другой аспект настоящего изобретения относится к соединениям, как описано в настоящем изобретении, по существу, в чистой форме и/или в форме, по существу, не содержащей примесей (например, соответствующего окисленного соединения, других примесей).

В некоторых вариантах осуществления, по существу, чистая форма имеет по меньшей мере 50 мас.% чистоту, например по меньшей мере 60 мас.% чистоту, например по меньшей мере 70 мас.% чистоту, например по меньшей мере 80 мас.%, чистоту, например по меньшей мере 90 мас.% чистоту, например по меньшей мере 95 мас.%, чистоту, например по меньшей мере 97 мас.% чистоту, например по меньшей мере 98 мас.% чистоту, например по меньшей мере 99 мас.% чистоту.

В некоторых вариантах осуществления примеси присутствуют в количестве не более чем 50 мас.%, например не более чем 40 мас.%, например не более чем 30 мас.%, например не более чем 20 мас.%, например не более чем 10 мас.%, например не более чем 5 мас.%, например не более чем 3 мас.%, например не более чем 2 мас.%, например не более чем 1 мас.%.

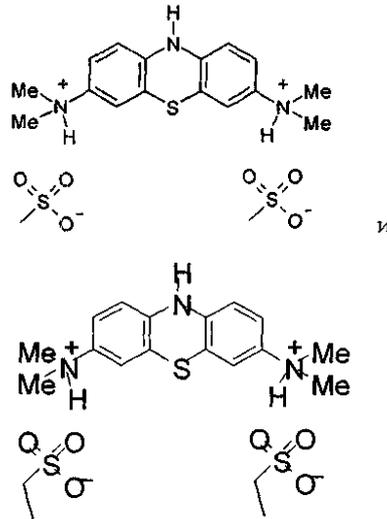
Способ получения продукта.

В некоторых вариантах осуществления соединение представляет собой соединение, которое получают или которое можно получить способом, как описано в настоящем изобретении.

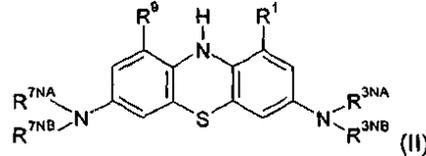
Химическое получение.

Способы химического получения соединений настоящего изобретения описаны в настоящем изобретении. Данные и/или другие хорошо известные способы можно модифицировать и/или приспособлять известными способами для того, чтобы облегчить получение дополнительных соединений, включенных в объем настоящего изобретения.

Соединения формул



можно получить из соединений формулы (II)



где R^1 , R^9 , R^{3NA} , R^{3NB} , R^{7NA} и R^{7NB} такие, как определено ранее.

Как описано в данном документе, подходящий феноптиазин можно превратить в соответствующий 3,7-динитрофеноптиазин, например, применяя нитрит натрия с уксусной кислотой и хлороформом.

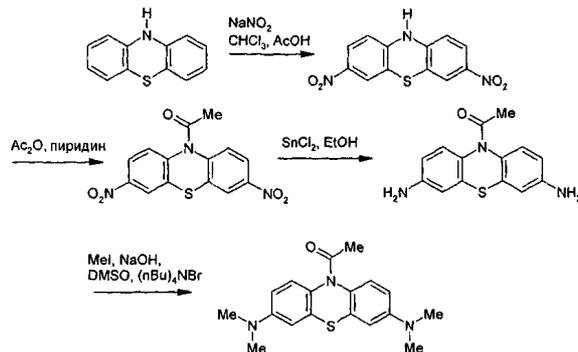
Затем кольцевую аминогруппу можно защищать, например, в виде ацетата, например, применяя уксусный ангидрид и пиридин.

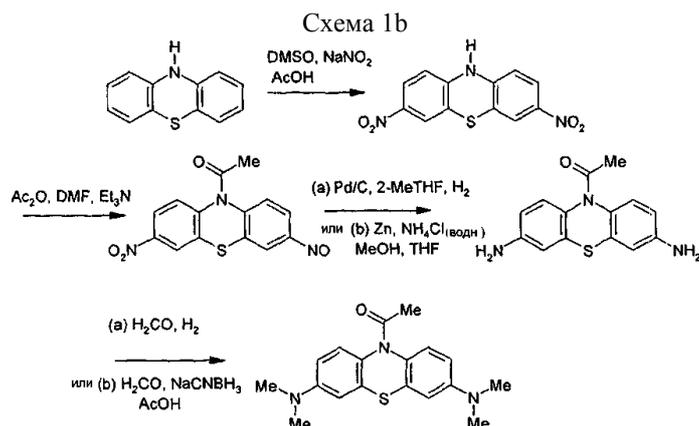
Затем нитрогруппы можно восстанавливать до аминогрупп, например, применяя хлорид олова (II) с этанолом.

Затем аминогруппы можно замещать, например замещать дважды, например дважды замещать метилом, например, применяя метилйодид, гидроксид натрия, ДМСО и бромид тетра-*n*-бутиламония, получая *N*-ацетил защищенный 3,7-диалкиламино-10H-феноптиазин.

Примеры данного способа показаны на схемах 1a и 1b. Применение любого одного или более из реагентов, описанных в настоящем изобретении, в способе, конечно, включено в настоящее изобретение.

Схема 1a

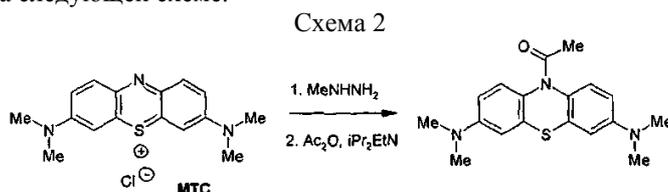




Затем аминогруппу данного N-ацетильного промежуточного соединения можно деблокировать, т.е. N-ацетильную группу можно удалить, например, применяя водный раствор кислоты.

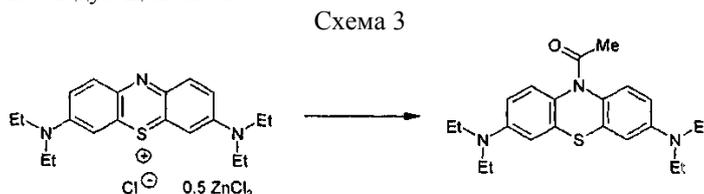
В одном варианте осуществления подходящий хлорид тиониния (например, хлорид метилтиониния, хлорид этилтиониния и т.д.) можно вначале восстановить и ацетилировать, получая соответствующий 1-(3,7-бис-диметиламинофенотиазин-10-ил)этанон, например, реакцией с гидразином (NH_2NH_2), метилгидразином (MeNHNH_2) или боргидридом натрия (NaBH_4); и уксусным ангидридом ($(\text{H}_3\text{CCO})_2\text{O}$); например, в присутствии подходящего основания, например пиридина ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) или основания Хунига (диизопропилэтиламин, $\text{C}_8\text{H}_{19}\text{N}$), например, в подходящем растворителе, например этаноле или ацетонитриле. Затем восстановленное и ацетилированное соединение (формулы (III)) можно деблокировать (удалением ацетильной группы), например, реакцией с подходящей кислотой, получая соединение формулы (II), или можно применять непосредственно. Предпочтительно данная реакция может давать продукт с высокой степенью чистоты.

Пример показан на следующей схеме.



В другом варианте осуществления подходящую тиониниевую соль, например хлорид этилтиониния полуцинка, можно одновременно восстановить и кольцевую аминогруппу защищать, например, реакцией с восстанавливающим агентом, фенилгидразином, этанолом, уксусным ангидридом и пиридином.

Пример показан на следующей схеме.



В некоторых вариантах осуществления способ включает стадию образования соли (SF).

В некоторых вариантах осуществления образование соли (SF) включает обработку соединения по изобретению подходящей сульфокислотой.

В некоторых вариантах осуществления образование соли включает обработку раствора соединения по изобретению подходящей сульфокислотой в органическом растворителе.

Большое разнообразие защитных групп аминогруппы широко применяют, и они являются хорошо известными в органическом синтезе; см., например, *Protective Groups in Organic Synthesis* (T. Green and P. Wuts; 4th Edition; John Wiley and Sons, 2006).

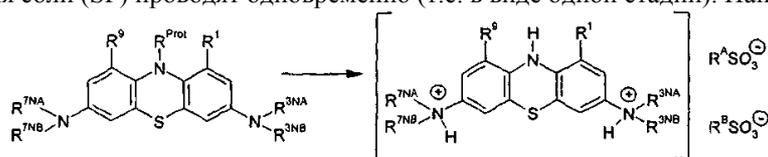
В некоторых вариантах осуществления защитная группа аминогруппы представляет собой ацильную группу, такую как ацетильная группа.

В некоторых вариантах осуществления способ включает стадии деблокирования кольцевой аминогруппы и образования соли (SF).

Деблокирование кольцевой аминогруппы (DP) включает удаление защитной группы, превращая N-защитную группу кольцевого амина ($-\text{NR}^{\text{Prot-}}$) в свободную кольцевую аминогруппу ($-\text{NH}-$). Деблокирование соединения формулы (III) дает соответствующее соединение формулы (II).

Способы удаления защитных групп аминогруппы являются хорошо известными в данной области техники; см., например, *Protective Groups in Organic Synthesis* (T. Green and P. Wuts; 4th Edition; John Wiley and Sons, 2006).

В некоторых вариантах осуществления стадию деблокирования кольцевой аминогруппы (DP) и стадию образования соли (SF) проводят одновременно (т.е. в виде одной стадии). Например



В некоторых вариантах осуществления одновременное деблокирование кольцевой аминогруппы (DP) и образование соли (SF) включает обработку соединения формулы (III) подходящей сульфокислотой, получая бис-(сульфонатную) соль соединения по изобретению.

В некоторых вариантах осуществления одновременное деблокирование кольцевой аминогруппы и образование соли может включать обработку раствора соединения формулы (III) в органическом растворителе сульфокислотой и водой.

В некоторых вариантах осуществления органический растворитель представляет собой толуол.

В некоторых вариантах осуществления сульфокислота может представлять собой дисульфокислоту, т.е. соединение, содержащее два остатка сульфокислоты на молекулу. Данные остатки сульфокислоты могут быть соединены, например, алкиленовой или ариленовой группой.

В некоторых вариантах осуществления сульфокислоту можно выбрать из метансульфокислоты (MsOH).

В некоторых вариантах осуществления феноптиазиновое исходное соединение (т.е. соединение формулы (III)) вначале нагревают в органическом растворителе до полного растворения, и полученный в результате раствор фильтруют перед добавлением реагентов (т.е. сульфокислоты и воды).

В некоторых вариантах осуществления соединение нагревают в указанном органическом растворителе при температуре приблизительно 60-80°C, например при температуре приблизительно 70°C.

В некоторых вариантах осуществления сульфокислоту добавляют в количестве по меньшей мере 2 мол.экв., например приблизительно 2,2 мол.экв., относительно феноптиазинового исходного соединения. Если применяют дисульфокислоту, ясно, что молярное количество кислоты будет составлять по меньшей мере 1 мол.экв., например приблизительно 1,1 мол.экв., так чтобы получить то же количество остатков сульфокислоты на молекулу феноптиазинового исходного соединения.

Может быть желательно добавлять сульфокислоту медленно для предотвращения повышения температуры (экзотермическая реакция). Следовательно, в некоторых вариантах осуществления сульфокислоту добавляют постепенно.

В некоторых вариантах осуществления сульфокислоту добавляют при температуре приблизительно 15-25°C.

В некоторых вариантах осуществления после добавления сульфокислоты и воды реакцию нагревают до температуры приблизительно 80-90°C.

В некоторых вариантах осуществления реакцию выдерживают при данной температуре до установления завершения, например, хроматографическим анализом.

В некоторых вариантах осуществления после реакции раствор обрабатывают антирастворителем для осаждения продукта. В некоторых вариантах осуществления антирастворитель представляет собой спирт, например этанол.

Может быть желательно вносить "затравку" в реакционную смесь в небольшом количестве, например приблизительно 1 мг на 1 г исходного соединения (соединения формулы (II)), требуемого бис-(сульфонатного) продукта. Не желая быть связанными теорией, считают, что добавление затравки делает возможным ранее и эффективное осаждение требуемого продукта, снижая возможность побочных реакций и образования побочного продукта. Также считают, что затравка является полезной для контроля размера частиц выпавшего продукта.

Следовательно, в некоторых вариантах осуществления после реакции в полученную в результате смесь вносят затравку в небольшом количестве требуемой бис-(сульфонатной) соли.

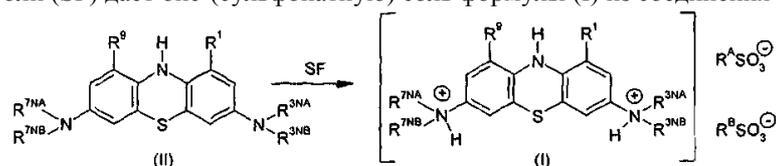
В некоторых вариантах осуществления затравка содержит требуемую бис-(сульфонатную) соль, которая измельчена.

В некоторых вариантах осуществления затравка содержит частицы требуемой бис-(сульфонатной) соли, которая измельчена до размера, меньшего, чем приблизительно 100 мкм.

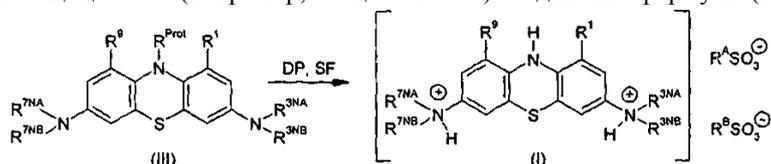
В некоторых вариантах осуществления выпавший продукт выделяют фильтрованием.

В некоторых вариантах осуществления после фильтрования продукт промывают органическим растворителем, например этанолом или ацетонитрилом.

Образование соли (SF) дает бис-(сульфонатную) соль формулы (I) из соединения формулы (II).

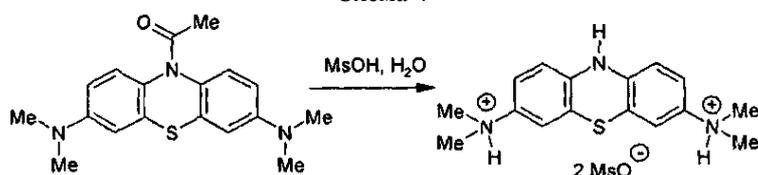


Как объясняют выше, бис-(сульфонатную) соль можно также получить непосредственно из соответствующего аминозащищенного (например, N-ацетильного) соединения формулы (III).

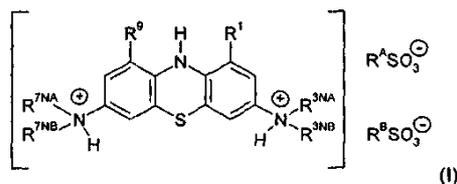


В данном случае образование соли можно осуществлять одновременно с деблокированием, например, применяя подходящую сульфокислоту, например метансульфокислоту, на стадии деблокирования. Пример показан на следующей схеме.

Схема 4



В следующем аспекте настоящее изобретение относится к способу получения соединения формулы (I)



где R^A , R^B , R^1 , R^9 , R^{3NA} , R^{3NB} , R^{7NA} и R^{7NB} такие, как определено ранее, причем способ включает получение соединения формулы (II) или (III), как определено в настоящем изобретении, с последующим образованием соли (SF) и/или деблокированием кольцевого амина (DP).

Стадии образования соли (SF) и деблокирования кольцевого амина (DP) такие, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления получение указанного соединения формулы (II) или (III) включает способ, как описано в WO 2007/110627.

В некоторых вариантах осуществления получение указанного соединения формулы (II) или (III) включает способ, как описано в WO 2008/007074.

В некоторых вариантах осуществления получение соединения формулы (II) включает деблокирование кольцевого амина (DP) соединения формулы (III), как указано выше.

Стадии можно осуществлять в любом логическом порядке. В некоторых вариантах осуществления стадии осуществляют в приведенном порядке (т.е. любую стадию в списке проводят одновременно или последовательно с предшествующей стадией в списке).

В некоторых вариантах осуществления защищенный 3,7-ди(дизамещенный амино)-10H-фенотиазин, например N-ацетил 3,7-ди(дизамещенный амино)-10H-фенотиазин, подвергают стадии очистки.

В некоторых вариантах осуществления очистка включает добавление органического растворителя, например толуола, и кислоты, например уксусной кислоты, растворяя соединение, с последующей стадией промывки.

В некоторых вариантах осуществления промывка включает добавление воды и/или водного раствора уксусной кислоты к раствору соединения; встряхивание и/или нагревание; и отделение органического слоя.

В некоторых вариантах осуществления промывку повторяют, например, вплоть до трех раз.

В некоторых вариантах осуществления за промывкой следует выделение очищенного продукта.

В некоторых вариантах осуществления выделение очищенного продукта включает охлаждение, осаждение и фильтрование продукта.

Кристаллические формы.

В некоторых вариантах осуществления кристаллическая форма имеет структуру, показанную на фиг. 17, и/или характеризуется кристаллическими данными, показанными в добавочной табл. 1, и/или атомными координатами, показанными в добавочной табл. 2, и/или длинами и углами связей, показан-

ными в добавочной табл. 3, и/или параметрами анизотропного замещения, показанными в добавочной табл. 4, и/или координатами атомов водорода и параметрами изотропного замещения, показанными в добавочной табл. 5.

Обращение и/или ингибирование агрегации белка.

Один аспект настоящего изобретения представляет собой применение соединения или композиции, как описано в настоящем изобретении, для регулирования (например, обращения и/или ингибирования) агрегации белка, например агрегации белка, связанной с нейродегенеративным заболеванием и/или клинической деменцией. Агрегация может быть *in vitro* или *in vivo*, и может быть связана с заболеванием, как обсуждается ниже.

Таким образом, один аспект настоящего изобретения относится к способу регулирования (например, обращения и/или ингибирования) агрегации белка, например агрегации белка, связанной с нейродегенеративным заболеванием и/или клинической деменцией, включающему контакт белка с эффективным количеством соединения или композиции, как описано в настоящем изобретении. Способ можно осуществлять *in vitro* или *in vivo*.

Аналогично, один аспект настоящего изобретения относится к способу регулирования (например, обращения и/или ингибирования) агрегации белка в мозге млекопитающего, где агрегация связана с заболеванием, как описано в настоящем изобретении, причем лечение включает стадию введения нуждающемуся в данном лечении млекопитающему профилактически или терапевтически эффективного количества соединения или композиции, как описано в настоящем изобретении, которое представляет собой ингибитор указанной агрегации.

Способы лечения.

Другой аспект настоящего изобретения относится к способу лечения, включающему введение нуждающемуся в данном лечении пациенту профилактически или терапевтически эффективного количества соединения, как описано в настоящем изобретении, предпочтительно в виде фармацевтической композиции.

Применение в способах терапии.

Другой аспект настоящего изобретения относится к соединению или композиции, как описано в настоящем изобретении, для применения в способе лечения (например, заболевания) человека или млекопитающего.

Применение в получении лекарственных средств.

Другой аспект настоящего изобретения относится к применению соединения или композиции, как описано в настоящем изобретении, для получения лекарственного средства для применения в лечении (например, заболевания).

В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство содержит соединение настоящего изобретения.

В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство представляет собой композицию, как описано в настоящем изобретении ниже.

Вылечиваемые заболевания - заболевания белковой агрегации.

Соединения и композиции настоящего изобретения являются пригодными в лечении или профилактике заболеваний белковой агрегации.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой заболевание белковой агрегации и, например, лечение осуществляют количеством соединения или композиции, как описано в настоящем изобретении, достаточным для ингибирования агрегации белка, связанной с указанным заболеванием.

В общем, белковая агрегация представляет собой агрегацию, которая является результатом индуцированного конформационного полимеризационного взаимодействия, т.е. агрегацию, при которой конформационное изменение белка или его фрагмента приводит в результате к матричному связыванию и агрегации активированных (предшественники) белковых молекул самораспространяющимся способом. После образования активных центров может возникать агрегационный каскад, который включает индуцированную конформационную полимеризацию активированных белковых молекул, приводя в результате к образованию токсичных результирующих фрагментов продуктов в агрегатах, которые, по существу, являются устойчивыми к дальнейшему протеолизу. Считают, что таким образом образовавшиеся белковые агрегаты являются непосредственной причиной заболеваний, проявляющихся как нейродегенерация, клиническая деменция и другие патологические симптомы.

В следующей таблице перечислены различные агрегирующие белки, связанные с заболеваниями, и соответствующие заболевания белковой агрегации. Применение соединений и композиций настоящего изобретения относительно данных белков или заболеваний включено в настоящее изобретение.

Заболевания белковой агрегации				
Белок	Заболевание	Агрегирующий домен и/или мутации	Размер субъ- единицы фибриллы (кДа)	Ссылка
<i>Нейродегенеративные заболевания</i>				
Белок приона	Прионные заболевания	<i>Наследственная и спорадическая формы</i>	27	Prusiner (1998)
	(CJD, nvCDR, спорадическая фатальная инсомния, синдром Герстманна- Штраусслера- Шейнкера	PrP-27-30, большое количество мутаций	27	Prusiner (1998)
		Фибриллогенные домены: 113-120, 178- 191, 202-218		Gasset et al. (1992)
Тау-белок	Болезнь Альцгеймера, синдром Дауна, FTDP-17, CBD, паркинсонизм после энцефалита, болезнь Пика, комплекс паркинсонизма и гуам деменции	<i>Наследственная и спорадическая формы</i>	10-12	Wischik et al. (1988)
		Укороченный тау (тубулин- связывающий домен) 297-391	10-12	Wischik et al. (1988)

		Мутации в тау в FTDP-17		Hutton et al. (1998)
		Многие мутации в пресенилиновых белках		Czech et al. (2000)
Амилоидный β-белок	Болезнь Альцгеймера, синдром Дауна	Наследственная и спорадическая формы	4	Glenner & Wong (1984)
		Амилоидный β-белок, 1-42(3)	4	Glenner & Wong (1984)
		Мутации в APP в редких семействах		Goate et al. (1991)
Хантингтин	Болезнь Хантингтона	N-концы белка с удлинёнными глутаминовыми повторами	40	DiFiglia et al. (1997)
Атаксин-1, 2, 3, 7	Спинально-цереbellарная атаксия (SCA 1, 2, 3, 7)	Белки с удлинёнными глутаминовыми повторами		Paulson et al. (1999)
Атрофин	Дентато-рубропаллидо-люисова атрофия (DRPLA)	Белки с удлинёнными глутаминовыми повторами		Paulson et al. (1999)
Андрогеновый рецептор	Спинальная и бульбарная мышечная атрофия	Белки с удлинёнными глутаминовыми повторами		Paulson et al. (1999)
Нейросерпин	Семейная энцефалопатия с нейронными включенными тельцами (FENIB)	Нейросерпин; S49P, S52R	57	Davis et al. (1999)

α-Синуклеин	Болезнь Паркинсона, деменция с тельцами Леви, множественная системная атрофия	Наследственная и спорадическая формы	19	Spillantini et al. (1998), кроме того, PCT/GB2007/001105
		A53T, A30P, в редких аутосомно-доминантных PD семействах		Polimeropoulos et al. (1997)
TDP-43	FTLD-TDP	Несколько мутаций TDP-43	10-43	Mackenzie et al. (2010)
	Амиотрофический латеральный склероз	Несколько мутаций TDP-43	10-43	Mackenzie et al. (2010)
Цистатин С	Наследственная церебральная ангиопатия (исландская)	Цистатин С, уменьшенный на 10 остатков; L68Q	12-13	Abrahamson et al. (1992)
Супероксиддисмутаза 1	Амиотрофический латеральный склероз	SOD1 мутации	16	Shibata et al. (1996)
<i>Нейродегенеративные заболевания</i>				
Гемоглобин	Серповидно-клеточная анемия	бета-Цепь гемоглобина (S)		Carrell & Gooptu (1998)
	Гемолиз с включенными тельцами	Многие мутации		
Серпины	α1-Анти-трипсиновая недостаточность (эмфизема, цирроз)	Мутации		Lomas et al. (1992)

	Антитромбиновая недостаточность (тромбоэмболическая болезнь)	Мутации		Carrell & Gooptu (1998)
	Недостаточность C1-ингибитора (ангиоэдема)	Мутации		Carrell & Gooptu (1998)
Легкая цепь иммуноглобулина	Плазмноклеточная дискразия (первичный системный AL амилоидоз)	Легкая цепь или фрагменты	0,5-25	Westermarck et al. (1985)
Сывороточный амилоид А	Реактивный, вторичный системный AA амилоидоз	Фрагмент из 76 остатков (важные остатки 2-12)	4,5-7,5	Westermarck et al. (1985)
	Хроническое воспалительное заболевание			
Транстиретин	Семейная амилоидная полинейропатия (системная; FAP I)	Тетрамер, диссоциированный от конформационного мономерного варианта	10-14	Gustavsson et al. (1991)
		Многие мутации (некоторые из которых не связаны с амилоидом; несколько различных типов заболеваний)		
	Сенильный сердечный амилоидоз	Нормальный транстиретин	10-14	Gustavsson et al. (1991)

Гельсолин	Семейный амилоидоз - финский тип (FAP IV)	D187Q приводит к укороченному 173-225/243 (важные остатки 182-192)	9,5	Maury & Baumann (1990)
β 2-микроглобулин	Гемодиализ, амилоидоз	β 2-микроглобулин	12-25	Gorevic et al. (1985)
	Амилоид предстательной железы			
Аполипопротеин AI	Семейная амилоидная полинейропатия (системная; FAP III)	N-концевые 83-93 остатки; G26R, W50R, L60R	9	Booth et al. (1997)
Лизоцим	Семейный висцеральный амилоидоз	Лизоцим или фрагменты (с или без I56T, D67H)	14	Pepys et al. (1993)
Амилин (островковый амилоидный полипептид)	Диабет II типа (NIDDM)	Фрагменты (важное ядро 20-29); без мутаций	3,9	Westermarck (1990)
α -Цепь фибриногена	Наследственный почечный амилоидоз	Фрагменты фибриногена	7-10	Uemichi et al. (1992)
Прокальцитонин	Медуллярная карцинома щитовидной железы	Фрагменты кальцитонина	3,4	Sletten et al. (1976)
Атриальный натрий-уретический фактор	Сердечный амилоидоз	ANF, без мутаций	3,5	Johansson et al. (1987)
Инсулин	Локализованный амилоидоз в результате инъекции	Инсулин		Dische et al. (1998)
Множественные белки	Миозит с включенными тельцами	β -амилоид, тау, убиквитин, ApoE и презенилин-1		Askenas et al. (2009)
Другие белки, образующие амилоид	(<i>in vitro</i>)	Другие белки		Chiti et al. (1999)

Как описано в WO 02/055720, WO 2007/110630 и WO 2007/110627, диаминофенэтиазины применяются для ингибирования данных заболеваний, связанных с агрегацией белков.

Таким образом, ясно, что за исключением случаев, когда контекст требует иначе, описание вариантов осуществления относительно тау-белка или тау-подобных белков (например, MAP2; см. ниже) следует понимать как применяемое равно и к другим белкам, обсуждаемым в настоящем изобретении (например, β -амилоиду, синуклеину, приону и т.д.) или другим белкам, которые могут вызывать или подвергаться аналогичной патологической агрегации посредством конформационного изменения в домене, важном для развития агрегации, или которые придают протеолитическую стабильность таким образом образовавшемуся агрегату (см., например, статью Wischik et al. в "Neurobiology of Alzheimer's Disease", 2nd Edition, 2000, Eds. Dawbarn, D. and Allen, S.J., The Molecular and Cellular Neurobiology Series, Bios

Scientific Publishers, Oxford). Все данные белки можно называть в настоящем изобретении "агрегирующие белки, связанные с заболеваниями".

Аналогично при упоминании в настоящем изобретении "тау-тау агрегации" или подобного это можно также применять относительно другой "агрегации агрегирующих белков", такой как β -амилоидная агрегация, прионная агрегация, синуклеиновая агрегация и т.д. То же самое применяют для "тау протеолитической деградации" и т.д.

Предпочтительные агрегирующие белки, связанные с заболеваниями Предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения основаны на тау-белке. Термин "тау-белок", как применяют в настоящем изобретении, относится в общем к любому белку семейства тау-белков. Тау-белки характеризуются как являющиеся единственными среди большого набора семейств, которые совместно очищают с микротрубочками в процессе повторяющихся циклов сборки и разборки (см., например, Shelanski et al., 1973, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 70, p. 765-768), и известны как белки, ассоциированные с микротрубочками (MAP). Члены тау-семейства обладают общими свойствами, заключающимися в наличии характеристичного N-концевого сегмента, последовательностей приблизительно из 50 аминокислот, встроенных в N-концевой сегмент, которые регулируются в мозге; в процессе развития, характеристичной области тандемных повторов, состоящей из 3 или 4 тандемных повторов из 31-32 аминокислот и C-концевым хвостом.

MAP2 представляет собой преобладающий белок, связанный с микротрубочками, в соматодендритическом отделе (см., например, Matus, A. в "Microtubules" [Hyams and Lloyd, Eds.], p. 155-166, John Wiley and Sons, New York, USA). MAP2 изоформы являются практически идентичными тау-белку в области тандемных повторов, но отличаются, по существу, и по последовательности, и по удлинению N-концевого домена (см., например, Kindler and Garner, 1994, Mol. Brain Res., Vol. 26, p. 218-224). Тем не менее, агрегация в области тандемных повторов не является селективной для тау повторяющегося домена. Таким образом, ясно, что любое обсуждение в настоящем изобретении относительно тау-белка или тау-тау агрегации следует рассматривать как относящееся также к тау-MAP2 агрегации, MAP2-MAP2 агрегации и так далее.

В некоторых вариантах осуществления белок представляет собой тау-белок.

В некоторых вариантах осуществления белок представляет собой синуклеин, например α - или β -синуклеин.

В некоторых вариантах осуществления белок представляет собой TDP-43.

TAR ДНК-связывающий белок 43 (TDP-43) представляет собой белок из 414 аминокислот, кодируемый TARDBP в хромосоме 1p36.2. Белок является высококонсервативным, повсеместно экспрессируемым и преимущественно локализованным в ядре, но может перемещаться между ядром и цитоплазмой (Mackenzie et al., 2010). Он вовлечен в регуляцию транскрипции и сплайсинга и может играть определенную роль в других процессах, таких как микроРНК процессинг, апоптоз, деление клеток, стабилизация мРНК, регуляция нейрональной пластичности и поддержание дендритной целостности. Более того, с 2006 значительное количество фактов собрано в поддержку гипотезы TDP-43 токсичного усиления функционирования при амиотрофическом латеральном склерозе (ALS). TDP-43 представляет собой наследственный предрасположенный к агрегации белок, и агрегаты, образовавшиеся *in vitro*, являются ультраструктурно аналогичными TDP-43 отложениям, наблюдаемым при дегенерации нейронов у ALS пациентов (Johnson et al., 2009). Johnson et al. (2008) показали, что когда TDP-43 сверхэкспрессируется в модели дрожжей, только агрегированная форма является токсичной. Несколько *in vitro* исследований также показали, что C-концевые фрагменты TDP-43, а не полноразмерный TDP-43, более вероятно образуют нерастворимые цитоплазматические агрегаты, которые становятся убиквитиновыми и токсичными для клеток (Arai et al., 2010; Igaz et al., 2009; Nonaka et al., 2009; Zhang et al., 2009). Хотя Nonaka et al. (2009) сделали предположение, что данные цитоплазматические агрегаты связываются с эндогенным полноразмерным белком, уменьшая его содержание в ядре, Zhang et al. (2009) обнаружили задержку нормальной ядерной экспрессии, что предполагает чисто токсичный эффект данных агрегатов. Yang et al. (2010) описывают захват полноразмерного TDP-43 в агрегаты C- и N-концевых фрагментов TDP-43 в NSC34 моторных нейронах в культуре. Нейритный отросток, поврежденный в результате наличия данных укороченных фрагментов, можно сохранить сверхэкспрессией полноразмерного белка. Хотя роль нейритного отростка *in vivo* не установлена, данная модель служит поддержкой предположению, сделанному Nonaka и коллегами относительно роли TDP-43 агрегации в ALS патогенезе.

Неоднократно сообщалось, что экспрессия мутантного TDP-43 в культурах клеток приводит в результате к усиленной генерации C-концевых фрагментов, с даже более сильной цитоплазматической агрегацией и токсическими эффектами, чем белок дикого типа (Kabashi et al., 2008; Sreedharan et al., 2008; Johnson et al., 2009; Nonaka et al., 2009; Arai et al., 2010; Barmarda et al., 2010; Kabashi et al., 2010).

Когда белок представляет собой тау-белок, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения обеспечивают способ ингибирования продуцирования белковых агрегатов (например, в виде спаренных спиральных филаментов (PHF), необязательно в нейрофибриллярных клубках (NFT) в мозге млекопитающего, причем лечение является, как описано выше.

Предпочтительные показания - заболевания белковой агрегации.

Примечательно, что не только при болезни Альцгеймера (AD) тау-белок (и его нарушенное функционирование или процессинг) может играть свою роль. Патогенез нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Пика и прогрессирующий надъядерный паралич (PSP), по-видимому, коррелирует с накоплением патологических укороченных тау агрегатов в зубчатой извилине и звездообразных пирамидальных клетках неокортекса соответственно. Другие деменции включают фронто-темпоральную деменцию (FTD); FTD с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17 (FTDP-17); комплекс расторможенности-деменция-паркинсонизм-амиотрофия (DDPAC); паллидо-пункто-нигральную дегенерацию (PPND); Гуам-ALS синдром; паллидо-нигро-люйсову дегенерацию (PNLD); кортикобазальную дегенерацию (CBD) и другие (см., например, статью Wischik et al. в "Neurobiology of Alzheimer's Disease", 2nd Edition, 2000, Eds. Dawbarn, D. and Allen, S.J., The Molecular and Cellular Neurobiology Series, Bios Scientific Publishers, Oxford; особенно табл. 5.1). Все из данных заболеваний, которые характеризуются в первую очередь или частично нарушенной тау агрегацией, называют в настоящем изобретении "таупатиями".

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой таупатию.

В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой нейродегенеративную таупатию.

В некоторых вариантах осуществления заболевание выбрано из болезни Альцгеймера (AD), болезни Пика, прогрессирующего надъядерного паралича (PSP), фронто-темпоральной деменции (FTD), FTD с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17 (FTDP 17), синдромов лобно-височной лобарной дегенерации (FTLD); комплекса расторможенности-деменция-паркинсонизм-амиотрофия (DDPAC), паллидо-пункто-нигральной дегенерации (PPND), Гуам-ALS синдрома, паллидо-нигро-люйсовой дегенерации (PNLD), кортикобазальной дегенерации (CBD), деменции с аргирофильными волокнами (AgD), деменции боксеров (DP) или хронической травматической энцефалопатии (СТЕ), синдрома Дауна (DS), деменции с тельцами Леви (DLB), подострого склерозирующего панэнцефалита (SSPE), MCI, болезни Нимана-Пика типа С (NPC), синдрома Санфилиппо типа В (мукополисахаридоз III В) или миотонической дистрофии (DM), DM1 или DM2, или хронической травматической энцефалопатии (СТЕ).

В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой лизосомальную болезнь накопления с тау патологией. NPC вызвано мутациями в гене NPC1, который влияет на метаболизм холестерина (Love et al., 1995), и синдром Санфилиппо типа В вызван мутацией в гене NAGLU, при котором имеется лизосомальное накопление гепаринсульфата (Ohmi et al. 2009). При данных лизосомальных болезнях накопления наблюдается тау патология, и ее лечение может замедлить развитие заболевания. Другие лизосомальные болезни накопления могут также характеризоваться накоплением тау.

Применение диаминиевых солей фенотиазина в лечении болезни Паркинсона и MCI описано более подробно в PCT/GB2007/ЭС1105 и PCT/GB2008/002066.

В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой болезнь Паркинсона, MCI или болезнь Альцгеймера.

В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой болезнь Хантингтона или другое полиглутаминовое заболевание, такое как спинобульбарная мышечная атрофия (или болезнь Кеннеди), и дендрато-рубро-паллидо-люйсова атрофия и различные спинально-церебеллярные атаксии.

В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой FTLD синдром (который может представлять собой, например, таупатию или TDP-43 протеинопатию, см. ниже).

В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой PSP или ALS.

В некоторых вариантах осуществления лечение (например, лечение нейродегенеративной таупатии, например, болезни Альцгеймера) может необязательно быть в комбинации с одним или более другими агентами, например одним или более ингибиторами холинэстеразы, такими как донепезил (также известный как Aricept™), ривастигмин (также известный как Exelon™), галантамин (также известный как ReRainyl™), NMDA рецепторные антагонисты (такие как мемантин (также известный как Ebixa™, Namenda™), агонисты мускариновых рецепторов и/или ингибиторы процессинга белка-предшественника амилоида, который ведет к усиленному генерированию бета-амилоида.

TDP-43 протеинопатии включают амиотрофический латеральный склероз (ALS; ALS-TDP) и лобно-височную лобарную дегенерацию (FTLD-TDP).

Роль TDP-43 в нейродегенерации при ALS и других нейродегенеративных заболеваниях рассмотрена в нескольких недавних публикациях (Chen-Plotkin et al., 2010; Gendron et al., 2010; Geser et al., 2010; Mackenzie et al., 2010).

ALS представляет собой нейродегенеративное заболевание, характеризующееся прогрессирующим параличом и мышечной атрофией, вследствие дегенерации и верхних и нижних моторных нейронов в первичной двигательной коре, стволе головного мозга и спинного мозга. Его иногда называют болезнью двигательного нейрона (MND), но существуют заболевания, отличные от ALS, которые поражают и верхние или нижние моторные нейроны. Точный диагноз требует наличия признаков болезни и в нижних и в верхних моторных нейронах в бульбарной мускулатуре и мускулатуре рук и ног с явным доказательством клинического прогрессирования, которое не объясняется любым другим болезненным процессом

(Wijesekera and Leigh, 2009).

Хотя большинство случаев являются ALS-TDP, имеются другие случаи, когда патологический белок отличается от TDP-43. Неправильно свернутый SOD1 является патологическим белком в убиквитин-положительных включениях при ALS с SOD1 мутациями (Seetharaman et al., 2009) и в очень небольшом поднаборе (приблизительно 3-4%) известных ALS, в результате мутаций в FUS (объединенные в саркомерном белке), убиквитиновый патологический белок представляет собой FUS (Vance et al. 2009; Blair et al., 2010). FUS, подобно TDP-43, по-видимому, является важным при перемещении между ядром и цитоплазмой, хотя пути, по которым поврежденное ядро импортирует FUS, остаются неясными. Новая молекулярная классификация ALS, приспособленная Mackenzie et al. (2010), отражает различные лежащие в основе патологические механизмы для различных субтипов (см. таблицу ниже).

Новая молекулярная классификация ALS (модифицированная Mackenzie et al., 2010). В большинстве случаев TDP-43 представляет собой патологический убиквитиновый белок, обнаруживаемый при ALS.

Убиквитин-положительные включения при ALS			
Убиквитиновый белок, связанный с заболеванием	TDP-43	FUS	SOD1
Клинико-патологический подтип	ALS-TDP	ALS-FUS	ALS-SOD1
Соответствующий фенотип	TARDBP	FUS	SOD1
Частота ALS случаев	Часто	Редко	Редко

Амиотрофический латеральный склероз общепризнан в качестве нозологической единицы в течение почти 150 лет и общепризнано, что ICD-10 классифицируют как: подтип MND в ICD 10 ((312.2). Надежная клиническая диагностика является доступной для ALS, которая не сильно отличается от первоначального описания Шарко, и также установлен невропатологический критерий, отражающий лежащую в основе молекулярную патологию.

Тогда как ALS классифицируют патологически на три подгруппы, ALS-TDP, ALS-SOD1 и ALS-FUS, оба последних заболевания являются редкими. Крупномасштабное исследование в настоящее время показало, что все спорадические ALS случаи имеют TDP-43 патологию (Mackenzie et al., 2007). Только приблизительно 5% ALS являются семейными (Bugne et al., 2010) и мутации в SOD1, наиболее частые мутации, обнаруживаемые при FALS, насчитывают 12-23% случаев (Andersen et al., 2006) SOD1 может также быть непосредственно связанным с 2-7% SALS. Мутации в FUS, по-видимому, гораздо менее часты, насчитывая только приблизительно 3-4% FALS (Blair et al., 2010). Таким образом, можно надежно предсказать, что клинический случай SALS будет иметь патологию на основе TDP-43. Аналогично, это можно легко предсказать при FALS в результате мутаций в TDP-43, которые насчитывают приблизительно 4% случаев (Mackenzie et al., 2010). ALS с мутациями в: также сообщалось, что VCP, насчитывая 1-2% FALS (Johnson et al., 2010), ANG (Seilhean et al., 2009) и CHMP2B (Cox et al., 2010), связаны с TDP-43 положительной патологией. Хотя не обнаружено, что SOD1, FUS и ATXN2 мутации связаны с TDP-43 положительными агрегатами, однако сообщалось, что TDP-43 участвует в патологических процессах, как предполагается, возникающих в результате данных мутаций (Higashi et al., 2010; Ling et al., 2010; Elden et al., 2010).

Следовательно, установлено, что TDP-43 является важным и играет потенциально центральную роль в патогенезе подавляющего большинства SALS случаев и может участвовать в патогенезе значительной доли FALS. В настоящее время ALS повсеместно считают TDP-43 протеинопатией (Neumann et al., 2009) и многочисленные *in vitro* и *in vivo* исследования подтверждают гипотезу, что токсическое усиление функционирования в результате TDP-43 агрегация является ответственной, по меньшей мере, за некоторую долю нейротоксичности при заболевании.

FTLD синдромы сопровождаются началом заболевания, протекающим без явных симптомов, являются непрерывно развивающимися, нейродегенеративными заболеваниями с пиком возникновения в позднем среднем возрасте. Часто есть положительная история в семье аналогичных заболеваний у ближайших родственников.

Поведенческий вариант FTD характеризуется ранним выделяющимся изменением в социальном и межличностном функционировании, часто сопровождающимся повторяющимся поведением и изменениями режима питания. При семантической деменции имеются выделяющиеся проблемы с нахождением подходящих слов, независимо от другой беглой речи, с ухудшенным знанием объектов и нарушенным пониманием отдельных слов при комплексном исследовании и анализе когнитивных способностей. Прогрессирующая небеглая афазия присутствует в комбинации с проблемами моторной речи и грамматическими нарушениями. Ключевые клинические диагностические признаки для данных трех FTLD синдромов показаны в таблице ниже, и полный критерий в Neary et al. (1998).

Клинический профиль и ключевые диагностические признаки FTLD синдромов.

FTLD синдром - клинический профиль	Ключевые диагностические признаки
<p>Фронтотемпоральная деменция</p> <p>Изменение характера и социального поведения являются основными признаками, первоначально и в течение всего заболевания. Инструментальные функции восприятия, пространственные навыки, праксис и память являются незатронутыми или относительно хорошо сохраненными.</p>	<p>1. Начало заболевания, протекающее без явных симптомов, и постепенное развитие</p> <p>2. Раннее ухудшение социального межличностного поведения</p> <p>3. Раннее нарушение регуляции индивидуального поведения</p> <p>4. Раннее эмоциональное притупление</p> <p>5. Ранняя потеря проницательности</p>
<p>Семантическая деменция</p> <p>Семантическое расстройство (нарушение понимания значения слов и/или идентичности объектов) является основным признаком, первоначально и в течение всего заболевания. Другие аспекты когнитивной деятельности, включая автобиографическую память, являются</p>	<p>А) Начало заболевания, протекающее без явных симптомов, и постепенное развитие</p> <p>В) Нарушение языковых навыков, характеризующееся</p> <p>1. Прогрессирующей беглой пустой речью</p> <p>2. Потерей значения слов,</p>
<p>незатронутыми или относительно хорошо сохраненными.</p>	<p>проявляющейся неправильным названием и пониманием</p> <p>3. Семантической парафазией и/или</p> <p>4. Нарушением восприятия, характеризующимся</p> <p>1. Прозопогназией: нарушением узнавания идентичности знакомых лиц и/или</p> <p>2. Ассоциативной агнозией: нарушением узнавания идентичности объектов</p> <p>С) Сохраненное персептивное распознавание и воспроизведение картинок</p> <p>Д) Сохраненное повторение единичных слов</p> <p>Е) Сохраненная способность читать вслух и писать под диктовку орфографически правильные слова</p>
<p>Прогрессирующая небеглая афазия</p> <p>Расстройство экспрессивной речи является основным признаком, первоначально и в течение всего заболевания. Другие аспекты когнитивной деятельности являются незатронутыми или относительно хорошо сохраненными.</p>	<p>А) Начало заболевания, протекающее без явных симптомов, и постепенное развитие</p> <p>В) Небеглая спонтанная речь с по меньшей мере одним из следующих: аграмматизм, фонемическая парафазия и аномия)</p>

За открытием того, что TDP-43-положительные включения характеризуют ALS и FTLT-DTP (Neumann et al., 2006), быстро последовало обнаружение бессмысленных мутаций в TARDBP гене и при семейных и спорадических случаях ALS (Gitcho et al., 2008, Sreedharan et al., 2008). На сегодняшний день сообщается о 38 различных TARDBP мутаций в 79 генеалогически неродственных семьях по всему миру (Mackenzie et al., 2010). TARDBP мутации насчитывают приблизительно 4% из всех семейных и

приблизительно 1,5% спорадических ALS случаев.

По данным на декабрь 2010 г. обнаружены мутации в тринадцати генах, которые связаны с семейным и спорадическим ALS. Связь ALS с пятью другими хромосомными локусами продемонстрирована, но до сих пор не идентифицированы конкретные мутации.

Метилтиониний (MT) при TDP-43 протеинопатиях.

MT имеет механизм действия, который нацелен и может ослаблять TDP-43 белковую агрегацию в клетках, которая представляет собой патологическую особенность подавляющего большинства и семейных и спорадических ALS и также является характеристикой FTLD-P.

Кроме того, лабораторные данные показывают, что метилтиониний ингибирует образование TDP-43 агрегатов в SH-SY5Y клетках. После обработки 0,05 мкМ MT количество TDP-43 агрегатов снижается до 50%. Данные находки подтверждаются иммуноблотт-анализом (Yamashita et al., 2009).

Следовательно, соединения и композиции настоящего изобретения могут быть пригодны для лечения амиотрофического латерального склероза (ALS) и лобно-височной лобарной дегенерации (FTLD).

Метилтиониний (MT) при болезни Хантингтона и полиглутаминовых заболеваниях.

MT может снижать агрегацию полиглутаминовых белков в клетках, которая представляет собой патологическую особенность болезни Хантингтона. Болезнь Хантингтона вызвана удлинением транслированного CAG повтора, расположенного на N-конце хантингтина. Хромосомы дикого типа содержат 6-34 повторов, тогда как при болезни Хантингтона, хромосомы содержат 36-121 повторов. Возраст возникновения заболевания обратно коррелирует с длиной CAG участков, которые кодируют полиглутаминовые повторы в белке.

Лабораторные данные показывают, что метилтиониний ингибирует образование агрегатов хантингинового производного, содержащего полиглутаминовое удлинение из 102 остатков в данно-перии (van Bebber et al. 2010). MT, при испытании при 0,10 и 10 0 мкМ, предотвращал образование данных агрегатов у данно-перии зависящим от дозы способом.

Следовательно, соединения и композиции настоящего изобретения могут быть пригодными для лечения болезни Хантингтона и других полиглутаминовых заболеваний, таких как спинобульбарная мышечная атрофия (или болезнь Кеннеди), и дентато-рубродо-паллидо-люйсово атрофия и различные спинально-церебеллярные атаксии (Org & Zoghbi, 2007).

Митохондриальные заболевания и болезнь Лафора.

Органом, который наиболее часто поражается при митохондриальных заболеваниях, в частности заболеваниях дыхательной цепи (RCD), в добавление к скелетным мышцам, является центральная нервная система (ЦНС). ЦНС проявления RCD включают инсульт-подобные эпизоды, эпилепсию, мигрень, атаксию, спастичность, двигательные расстройства, психические расстройства, когнитивные нарушения или даже деменцию (митохондриальную деменцию). До сих пор о митохондриальной деменции сообщалось при MELAS, MERRF, LHON, CPEO, KSS, MNGIE, NARP, синдроме Ли и болезни Альперса-Хуттенлохера (Finsterer, 2009). Имеется четыре комплекса в митохондриальной дыхательной цепи, включая серию переносов электронов. Нарушенное функционирование любого из данных комплексов может приводить в результате к митохондриальным заболеваниям, вторичным относительно нарушения цепи переноса электронов, и последующему нарушению митохондриального дыхания. Комплекс III митохондриальной дыхательной цепи действует как переносчик электронов на цитохром C.

Соединения и композиции настоящего изобретения можно также применять для лечения митохондриальных заболеваний, которые связаны с недостаточностью и/или нарушением функционирования комплекса III дыхательной цепи. Соединения обладают способностью действовать в качестве носителя и/или переносчика электронов, поскольку тиониниевая молекула имеет низкий окислительно-восстановительный потенциал между окисленной и восстановленной формой. В случае нарушения и/или недостаточности функционирования комплекса III, приводящих к митохондриальным заболеваниям, соединения настоящего изобретения также способны осуществлять транспорт электронов и роль переносчика комплекса III из-за способности тиониниевой молекулы превращаться из окисленной в восстановленную форму и обратно, таким образом, действуя как носитель электронов вместо неоптимально функционирующего комплекса III, переносящего электроны на цитохром C.

Соединения и композиции настоящего изобретения также обладают способностью генерировать активную тиониниевую молекулу, которая обладает способностью переводить неправильно свернутый белок/аминокислотные мономеры/олигомеры с Hsp70 ADP-связанного белкового накопления и/или путей рефолдинга, и вместо перенаправления данных неправильно свернутых белковых мономеров/олигомеров на путь, который приводит непосредственно к Hsp70 АТФ-зависимой убиквитин-протеосомальной системе (UPS), направляет по пути, который удаляет данные неправильно свернутые белки/аминокислотные мономеры/олигомеры прямым путем (Jinwal et al. 2009).

Болезнь Лафора (LD) представляет собой аутосомно-рецессивную возникающую в юности смертельную эпилепсию, связанную с постепенным накоплением недостаточно разветвленного и нерастворимого гликогена, называемого полиглюкозаном, во многих тканях. В мозге полиглюкозановые тельца или тельца Лафора образуются в нейронах. Ингибирование Hsp70 АТФазы MT (Jinwal et al. 2009) может активировать удаление неправильно свернутых белков. Болезнь Лафора, в первую очередь, обуслов-

лена дефектом лизосомальной убиквитин-протеосомальной системы (UPS) из-за мутации или в гене Laforin или в гене Malin, оба из которых расположены в хромосоме 6, которые приводят в результате к включениям, которые ускоряют агрегацию неправильно свернутого тау-белка. Вторичное митохондриальное повреждение в результате нарушения UPS может далее приводить к подавленной митохондриальной активности и нарушению цепи переноса электронов, приводящему к дополнительному липофусцину и вызывающему судороги, которые являются характеристикой болезни Лафора.

МТ молекула может разделять существующие тау агрегаты, ослаблять дополнительно тау накопление и увеличивать липосомальную эффективность ингибированием Hsp70 АТФазы. МТ может приводить в результате к уменьшению тау клубков усилением удаления убиквитиновой протеосомальной системой тау мономеров/олигомеров, посредством его ингибирующего действия на Hsp70 АТФазу.

Таким образом, соединения и композиции настоящего изобретения могут быть пригодны для лечения болезни Лафора.

Вылечиваемые заболевания - другие заболевания.

В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой рак кожи.

В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой меланому.

В некоторых вариантах осуществления заболевание представляет собой вирусное, бактериальное или протозойное заболевание.

В некоторых вариантах осуществления (протозойное) заболевание представляет собой малярию. Лечение можно осуществлять в комбинации с одним или более противомикробными агентами, например хлороквином и/или атоваквоном.

В некоторых вариантах осуществления (вирусное) заболевание вызвано гепатитом С, ВИЧ или вирусом Западного Нила (WNV).

Другие применения.

Другой аспект настоящего изобретения относится к применению соединений, как описано в настоящем изобретении, в способе дезактивации патогена в образце (например, образце крови или плазмы), включающему стадии введения соединения в образец и воздействия на образец светом.

Например, в некоторых вариантах осуществления способ включает стадии введения соединения в образец и затем воздействия на образец светом.

Лечение.

Термин "лечение", как применяют в настоящем изобретении в контексте лечения заболевания, в общем, относится к лечению и терапии человека или животного (например, при применении в ветеринарии), при котором достигают некоторого желательного терапевтического эффекта, например ингибирования развития заболевания, и включает замедление скорости развития, остановку развития, ослабление симптомов заболевания, облегчение заболевания и вылечивание заболевания. Лечение как профилактическая мера (т.е. профилактика, предотвращение) также включено в это понятие.

Термин "терапевтически эффективное количество", как применяют в настоящем изобретении, относится к такому количеству соединения настоящего изобретения или вещества, композиции или лекарственной формы, содержащей указанное соединение, которое является эффективным для оказания некоторого желательного терапевтического эффекта, с соразмерным соотношением риск/польза, при введении согласно требуемому режиму лечения.

Аналогично термин "профилактически эффективное количество", как применяют в настоящем изобретении, относится к такому количеству соединения настоящего изобретения или вещества, композиции или лекарственной формы, содержащей указанное соединение, которое является эффективным для оказания некоторого желательного профилактического эффекта, с соразмерным соотношением риск/польза, при введении согласно требуемому режиму лечения.

"Профилактику" в контексте настоящего изобретения не следует понимать как достигающую полный успех, т.е. полной защиты или полного предотвращения. Скорее профилактика в контексте настоящего изобретения относится к мере, которую принимают до обнаружения симптоматического состояния с целью сохранить здоровье, помогая приостановить, ослабить или избежать данного конкретного заболевания.

Термин "лечение" включает комбинированное лечение и терапию, в котором комбинируют два или более видов лечения или терапии, например, последовательно или одновременно. Примеры лечения и терапии включают, но без ограничения, химиотерапию (введение активных агентов, включая, например, лекарственные средства, антитела (например, как в иммунотерапии), пролекарства (например, как в фотодинамической терапии, GDEPT, ADEPT и т.д.); хирургическую операцию; радиотерапию и генную терапию.

Например, может быть полезно комбинировать лечение соединением, как описано в настоящем изобретении, с одним или более другими (например, 1, 2, 3, 4) агентами или терапиями.

Конкретная комбинация будет определяться на усмотрение лечащего врача, который будет выбирать дозу, применяя общие данные о нем/ней и режимы дозирования, известные практикующему врачу.

Агенты (т.е. соединение, как описано в настоящем изобретении, плюс один или более других агентов) можно вводить одновременно или последовательно и можно вводить по индивидуально изменяю-

щемуся графику дозирования и различными путями. Например, при введении последовательно агенты можно вводить через близко расположенные интервалы времени (например, в течение 5-10 мин) или через более длительные интервалы (например, 1, 2, 3, 4 или более часов между приемами, или даже более длительные периоды между приемами, при необходимости), причем точный режим дозирования соответствует свойствам терапевтического агента(ов).

Агенты (т.е. соединение, как описано в настоящем изобретении, плюс один или более других агентов) можно формулировать вместе в виде единичной лекарственной формы, или, альтернативно, отдельные агенты можно формулировать отдельно и предоставлять вместе в виде набора, необязательно с инструкцией по их применению.

Пути введения.

Соединение настоящего изобретения или содержащую его фармацевтическую композицию можно вводить субъекту/пациенту любым общепринятым способом введения, системно/периферически или местно (т.е. в требуемом месте действия).

Пути введения включают, но без ограничения, пероральный (например, при приеме внутрь); буккальный; сублингвальный; трансдермальный (включая, например, с помощью наклейки, пластыря и т.д.); трансмукозальный (включая, например, с помощью наклейки, пластыря и т.д.); интраназальный (например, в виде назального аэрозоля); глазной (например, глазными каплями); легочный (например, ингаляционной или инсuffляционной терапией, применяя, например, аэрозоль, например, через рот или нос); ректальный (например, суппозиторием или клизмой), вагинальный (например, пессарием); парентеральный, например инъекцией, включая подкожную, внутривенную, внутримышечную, внутривенную, внутриартериальную, внутрисердечную, интратекальную, интраспинальную, внутрикапсульную, интракапсулярную, интраорбитальную, внутрибрюшинную, внутритрахеальную, подкожную, внутрисуставную, субарахноидальную и интратермальную (включая, например, интракатетерную инъекцию в мозг), имплантатом депо или емкости, например, подкожно или внутримышечно.

Предпочтительные композиции представляют собой пероральные композиции, сформулированные, как описано более подробно ниже в настоящем изобретении.

Субъект/пациент.

Субъект/пациент может представлять собой животное, млекопитающее, плацентарное млекопитающее, грызуна (например, морскую свинку, хомяка, крысу, мышь), мышиных (например, мышь), зайцеобразных (например, кролика), птиц (например, птицу), собак (например, собаку), кошачьих (например, кошку), лошадь (например, лошадь), свинью (например, свинью), овцу (например, овцу), крупный рогатый скот (например, корову), примата, человекообразную обезьяну (например, обезьяну или человекообразную обезьяну), обезьяну (например, маргышку, бабуина), однопроходное яйцекладущее (например, утконоса), человекообразную обезьяну (например, гориллу, шимпанзе, орангутана, гиббона) или человека.

Более того, субъект/пациент может представлять собой любую из их форм развития, например плод.

В некоторых вариантах осуществления субъект/пациент представляет собой человека.

Композиции/составы.

Когда можно применять соединение настоящего изобретения отдельно (например, вводить), часто предпочтительно предоставлять его в виде композиции или состава.

Следовательно, другой аспект настоящего изобретения относится к фармацевтической композиции (например, составу, препарату, лекарственному средству), содержащей соединение, как описано в настоящем изобретении, и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество.

В некоторых вариантах осуществления композиция представляет собой фармацевтическую композицию, содержащую по меньшей мере одно соединение, как описано в настоящем изобретении, вместе с одним или более другими фармацевтически приемлемыми ингредиентами, хорошо известными специалисту в данной области техники, включая, но без ограничения, фармацевтически приемлемые носители, разбавители, вспомогательные вещества, адъюванты, наполнители, буферы, консерванты, антиоксиданты, смазывающие вещества, стабилизаторы, солюбилизаторы, поверхностно-активные вещества (например, смачивающие агенты), маскирующие агенты, красители, ароматизаторы и подсластители.

Подходящие носители, разбавители, вспомогательные вещества и т.д. можно найти в стандартных фармацевтических текстах; см., например, Handbook of Pharmaceutical Additives, 2nd Edition (eds. M. Ash и I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA), Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th edition, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000 и Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd Edition, 1994.

Термин "фармацевтически приемлемый", как применяют в настоящем изобретении, относится к соединениям, ингредиентам, материалам, композициям, лекарственным формам и т.д., которые являются, по результатам тщательной медицинской оценки, пригодными для применения в контакте с тканями указанного субъекта (например, человека) без избыточной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, с соизмеримым соотношением польза/риск. Каждый носи-

тель, разбавитель, вспомогательное вещество и т.д. должен быть также "приемлемым" в том смысле, что он должен быть совместимым с другими ингредиентами состава.

Составы можно получить любыми способами, известными в области фармацевтики. Дачные способы включают стадию смешивания соединения с носителем, который составляет один или более вспомогательных ингредиентов. В общем, составы получают равномерным и тщательным смешиванием соединения с носителями (например, жидкими носителями, мелкодисперсными твердыми носителями и т.д.) и затем, при необходимости, формованием продукта.

Состав можно получить для обеспечения быстрого или медленного высвобождения; немедленного, задержанного, регулируемого по времени или пролонгированного высвобождения; или их комбинации.

Составы, пригодные для парентерального введения (например, инъекцией), включают водные или неводные, изотонические, апирогенные, стерильные жидкости (например, растворы, суспензии), в которых соединения растворяют, суспендируют или предоставляют иначе (например, в липосоме или другой микрочастице). Данные жидкости могут дополнительно содержать другие фармацевтически приемлемые ингредиенты, такие как антиоксиданты, буферы, консерванты, стабилизаторы, бактериостатические агенты, суспендирующие агенты, загустители и растворенные вещества, делающие состав изотоническим с кровью (или другой соответствующей биологической жидкостью) предполагаемого реципиента. Примеры вспомогательных веществ включают, например, воду, спирты, полиолы, глицерин, растительные масла и подобные. Примеры подходящих изотонических носителей для применения в данных составах включают хлорид натрия для инъекций, раствор Рингера или раствор Рингера с лактатом для инъекций. Обычно концентрация соединения в жидкости составляет от приблизительно 1 нг/мл до приблизительно 10 мкг/мл, например от приблизительно 10 нг/мл до приблизительно 1 мкг/мл. Составы могут быть представлены в виде герметичных емкостей с единичной или несколькими дозами, например, ампул и пробирок, и их можно хранить в лиофилизированном состоянии, требующем добавления только стерильного жидкого носителя, например воды для инъекций, непосредственно перед применением. Приготовленные; для немедленной инъекции растворы и суспензии можно получить из стерильных порошков, гранул и таблеток.

Примеры некоторых предпочтительных составов.

Один аспект настоящего изобретения относится к единице дозирования (например, фармацевтической таблетке или капсуле), содержащей 20-300 мг соединения, как описано в настоящем изобретении (например, полученного или которое можно получить способом, как описано в настоящем изобретении; имеющего чистоту, как описано в настоящем изобретении; и т.д.), и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество.

В некоторых вариантах осуществления единица дозирования представляет собой таблетку.

В некоторых вариантах осуществления единица дозирования представляет собой капсулу.

В некоторых вариантах осуществления указанные капсулы представляют собой желатиновые капсулы.

В некоторых вариантах осуществления указанные капсулы представляют собой НРМС (гидрокси-пропилметилцеллюлозные) капсулы.

В некоторых вариантах осуществления количество составляет 30-200 мг.

В некоторых вариантах осуществления количество составляет приблизительно 30 мг.

В некоторых вариантах осуществления количество составляет приблизительно 60 мг.

В некоторых вариантах осуществления количество составляет приблизительно 100 мг.

В некоторых вариантах осуществления количество составляет приблизительно 150 мг.

В некоторых вариантах осуществления количество составляет приблизительно 200 мг.

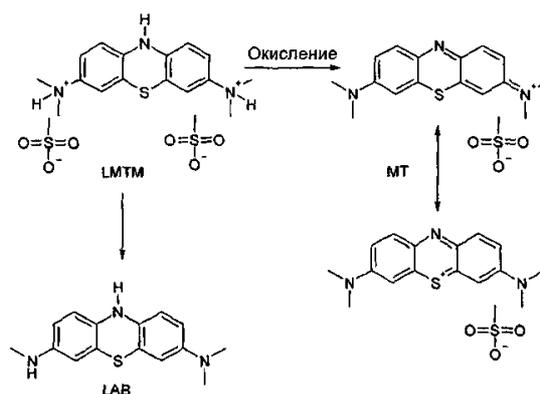
Во всем настоящем изобретении дозируемые количества, например, как указано выше, могут относиться к количеству самого соединения или могут относиться к количеству эквивалента свободного основания (т.е. количеству LMT молекулы), содержащемуся в единице дозирования. Обе из данных альтернатив описаны в явной форме в настоящем изобретении.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель или вспомогательное вещество представляет собой или включает один или оба из глицерида (например, Gelucire 44/14®; лауроил макрогаль-32 глицериды PhEur, USP) и коллоидного диоксида кремния (например, 2% Aerosil 200®; Colliodal Silicon Dioxide PhEur, USP).

Новые составы - твердые лекарственные формы.

Способы, обычно применяемые для формулирования таблеток и пленочных покрытий, часто требуют применения нагревания, сопровождающегося низкой влажностью при сушке.

LMTM и другие лейко-метилтиониевые соли потенциально подвержены окислению до метилтиониниевой молекулы (MT) и разлагаются, например, до L Azure B (LAB) (см. схему ниже).



Для вещества, такого как, например, LMTM, который подвержен окислению (как объясняется выше), общепринятые способы формулирования могут, следовательно, приводить к разложению и, следовательно, потенциально, к нестабильности характеристик продукта.

Принцип, лежащий в основе составов настоящего изобретения, следовательно, заключается в обеспечении способа получения прессованных фармацевтических составов и капсул, содержащих лейкометилтиониевые соли, например бис-(метансульфонат) (LMTM) в качестве активного вещества, прямым способом прессования таблеток или другими уникальными способами таблетирования, и инкапсулированием, в котором активное вещество существует, по существу, в стабильной форме.

Самым часто применяемым способом для получения твердых лекарственных форм является влажное гранулирование (также называемое мокрым гранулированием). Оно включает добавление гранулирующей жидкости к порошку. Данная гранулирующая жидкость может представлять собой воду или другой растворитель, который является достаточно летучим, чтобы впоследствии его можно было удалить сушкой. Гранулирующая жидкость может также содержать связующее. После удаления растворителя полученную в результате массу измельчают.

Влажное гранулирование является часто предпочтительным относительно прямого прессования, поскольку влажное гранулирование, более вероятно, преодолевает проблемы, связанные с физическими характеристиками различных ингредиентов в составе. Влажное гранулирование дает материал, который обладает требуемыми свойствами текучести и когезивными свойствами, требуемыми для получения подходящей твердой лекарственной формы. Однородность состава твердой лекарственной формы обычно улучшают влажным гранулированием, поскольку все из гранул обычно содержат одинаковое количество лекарственного средства. Также избегают отделения лекарственного средства от вспомогательного вещества.

В прямом прессовании отдельные составляющие композиции, которые будут прессовать, смешивают без предварительного гранулирования и затем непосредственно прессуют. Хотя, по-видимому, он представляет собой элегантный и простой способ, может быть трудно получить им коммерчески пригодные таблетки, которые имеют достаточную дозу, которые, кроме того, также достаточно быстро распадаются после введения. Кроме того, многие активные вещества нельзя обрабатывать прямым прессованием, поскольку они не прессуются без стадии гранулирования.

В настоящее время неожиданно обнаружили, что соединения настоящего изобретения являются стабильными в твердой лекарственной форме, полученной сухим прессованием, такой как таблетка, при получении и хранении, и что количество образующихся продуктов разложения, таких как L Azure B (LAB) и метилтиониний (MT), можно контролировать в пределах установленных требований (например, LAB менее чем 2% и MT менее чем 12%).

Это противоположно поведению, например, LMTM при обработке общепринятым способом влажного гранулирования. Не желая быть связанными теорией, в общепринятом способе влажного гранулирования LMTM, например, может быть очень нестабильным, и может образовываться значительное количество LAB и MT.

Соответственно один аспект настоящего изобретения обеспечивает фармацевтическую композицию, содержащую соединение настоящего изобретения, в твердой лекарственной форме. Композиция предпочтительно дополнительно содержит по меньшей мере один разбавитель, подходящий для сухого прессования. Фармацевтическая композиция характеризуется тем, что соединение существует, по существу, в стабильной форме.

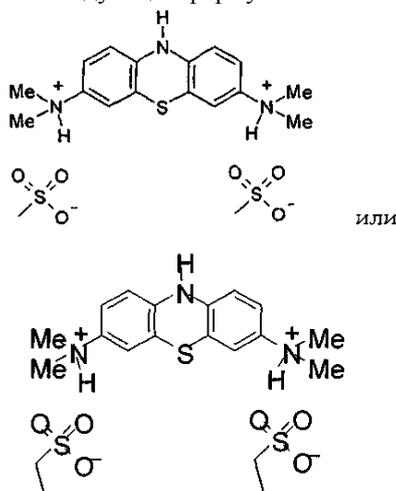
Другой аспект настоящего изобретения обеспечивает сыпучий, структурообразующий порошок, содержащий соединение настоящего изобретения и по меньшей мере один разбавитель, пригодный для сухого прессования, и, необязательно, одно или более других вспомогательных веществ, причем указанный порошок можно прессовать до твердой лекарственной формы.

Данные композиции и составы первоначально описывают в настоящем изобретении относительно бис-(сульфонатных) солей настоящего изобретения, в частности LMTM. Однако преимущества настоящих способов формулирования равно применимы к другим членам лейкометилтиониевого семейства

солей.

Например, составы, описанные в настоящем изобретении, являются применимыми также к 3,7-диамино-10Н-фенотиазиниевым солям, описанным в W0 2007/110627 (WisTa Laboratories Ltd), которые коротко обсуждаются выше. Они включают бис-(гидробромид) лейко-метилтиония (LMT.2HBr, LMTB) и бис-(гидрохлорид) лейко-метилтиония (LMT.2HCl, LMTС).

Следовательно, в более широком аспекте настоящее изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, содержащую соединение следующей формулы:



в твердой лекарственной форме, как описано в настоящем изобретении.

Как применяют в настоящем изобретении далее, термин "активный ингредиент" относится к подходящей лейко(метилтиониевой) соли. Другими словами, он относится к соединению формулы (I), такому как соединение настоящего изобретения, например LMTM.

Другой аспект настоящего изобретения обеспечивает способ получения указанных фармацевтических композиций способом сухого прессования. Данный способ предпочтительно включает сухое прессование тонко перемешанной порошковой смеси активного соединения по меньшей мере с одним разбавителем, пригодным для сухого прессования, и, необязательно, одним или более другими вспомогательными веществами.

В некоторых вариантах осуществления данный способ включает прямое прессование.

В некоторых вариантах осуществления данный способ включает простое прямое прессование.

В некоторых вариантах осуществления данный способ включает сухое гранулирование.

Твердые лекарственные формы согласно настоящему изобретению предпочтительно обладают длительной химической и физической стабильностью активного ингредиента (соединения настоящего изобретения, например, LMTM). Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению также обладают быстрой скоростью растворения даже после длительного хранения.

"По существу, стабильная" форма активных ингредиентов обозначает, в настоящем контексте, форму, которая не реагирует, образуя примеси, такие как окисленные примеси или другие продукты разложения в любой значительной степени в процессе формулирования или при хранении сформулированного продукта.

Следовательно, в настоящем контексте оно может относиться к веществу, которое содержит, например, менее чем 20, менее чем 15 или менее чем 10% мас./мас. окисленных примесей или других продуктов разложения. Другими словами, вещество содержит по меньшей мере 80, по меньшей мере 85 или по меньшей мере 90% мас./мас. чистого активного ингредиента в его первоначальной (непрореагировавшей) форме.

В некоторых вариантах осуществления материал, содержащий активный ингредиент, может содержать, например, менее чем 20, менее чем 15, менее чем 12 или менее чем 10% мас./мас. МТ. В некоторых вариантах осуществления материал может содержать, например, менее чем 5, менее чем 3 или менее чем 2% мас./мас. LAB.

"Стабильная" таблетка в контексте настоящего изобретения представляет собой таблетку, которая сохраняется, по существу, стабильной после длительного хранения в контролируемых условиях температуры и влажности. Испытание на стабильность можно проводить с твердыми лекарственными формами, непосредственно подверженными выбранным условиям окружающей среды, или с твердыми лекарственными формами, содержащимися в упаковке.

Содержание активного ингредиента.

Количество активного ингредиента в композиции без покрытия обычно составляет более чем приблизительно 10% мас./мас., но может составлять более чем 20 или более чем 30% мас./мас. Количество активного ингредиента обычно составляет менее чем приблизительно 70% мас./мас. и обычно менее чем

60 или менее чем 50% мас./мас. в таблетке. Обычно, количество активного ингредиента в составе сердцевинки таблетки без покрытия, таким образом, составляет от приблизительно 10% мас./мас. (или 20, или 30% мас./мас.) до приблизительно 70% мас./мас. (или 60, или 50% мас./мас.). При нанесении покрытия на композицию, как описано ниже, суммарный вес композиции увеличивается и, таким образом, процент активного ингредиента в суммарной композиции немного снижается.

Разбавители.

Активный ингредиент может по своей природе быть не способен к прессованию и, таким образом, может требовать добавления подходящих разбавителей для облегчения прессования.

Следовательно, фармацевтические композиции настоящего изобретения обычно содержат по меньшей мере 15, более обычно по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40 или по меньшей мере 50% мас./мас. разбавителя(ей).

Разбавители, которые можно применять, включают один или более из микрокристаллической целлюлозы, лактозы, маннита, солей кальция, таких как гидрофосфат дикальция, сульфат кальция и карбонат кальция, и Сахаров, таких как лактоза, сахароза, декстроза и мальтодекстрин.

Предпочтительными разбавителями являются микрокристаллическая целлюлоза, лактоза и маннитол. Высушенные распылением формы лактозы и маннитолы являются особенно подходящими формами данных соединений для способа прямого прессования или сухого гранулирования.

Неожиданно обнаружили, что когда активный ингредиент, как описано в настоящем изобретении, например соединение настоящего изобретения, такое как LMTM, смешивают с разбавителями для сухого прессования, такими как один или более из микрокристаллической целлюлозы, высушенной распылением лактозы, безводной лактозы и маннитола, полученные в результате твердые лекарственные формы являются пригодными в том смысле, что активный ингредиент остается химически стабильным, даже после продолжительного хранения.

Таким образом, настоящее изобретение относится к способу получения таблеток с низкой, средней или высокой дозой, например таблеток с низкой, средней или высокой дозой LMTM, которые являются стабильными и имеют хорошие профили растворения, приемлемые степени твердости и устойчивости к раздроблению, а также короткое время распада.

Растворение композиций настоящего изобретения.

Авторы настоящего изобретения также неожиданно обнаружили, что индивидуальные твердые лекарственные формы, описанные в настоящем изобретении, имеют очень быструю скорость растворения.

Как объясняют в настоящем изобретении далее и не желая быть связанными теорией, считают, что активная метилтиониниевая (MT) молекула может предпочтительно поглощаться из желудка и/или верхней части желудочно-кишечного тракта. Быстро распадающийся и быстро растворяющийся состав лейко(метилтиониниевых) солей будет, следовательно, предпочтительным, поскольку он будет доставлять максимально возможное количество лекарственного средства в предполагаемое место поглощения.

Быстрая скорость растворения твердых лекарственных форм, описанных в настоящем изобретении, обозначает то, что они являются способными быстро растворяться в желудке и/или верхней части желудочно-кишечного тракта и, следовательно, эффективно выделять активный ингредиент в данном месте для быстрого поглощения.

В некоторых вариантах осуществления составы настоящего изобретения при оценке, применяя стандартный способ фармакопеи, дают по меньшей мере 80% растворение в пределах 30 мин, предпочтительно по меньшей мере 80% растворение в пределах 15 мин, более предпочтительно по меньшей мере 80% растворение в пределах 10 мин.

В некоторых вариантах осуществления составы настоящего изобретения при оценке, применяя стандартный способ фармакопеи, дают по меньшей мере 90% растворение в пределах 30 мин, предпочтительно по меньшей мере 90% растворение в пределах 15 мин, более предпочтительно по меньшей мере 90% растворение в пределах 10 мин.

В некоторых вариантах осуществления составы настоящего изобретения при оценке, применяя стандартный способ фармакопеи, дают по меньшей мере 95% растворение в пределах 30 мин, предпочтительно по меньшей мере 95% растворение в пределах 15 мин, более предпочтительно по меньшей мере 95% растворение в пределах 10 мин.

Скорости растворения можно измерить стандартными способами фармакопеи, как описано в фармакопее Соединенных Штатов Америки (USP) общая глава <711>. Настоящая USP представляет собой USP 34 (2011). Например, скорости растворения для составов настоящего изобретения можно измерить, применяя прибор согласно USP Dissolution Apparatus 2 (с лопастью).

В некоторых вариантах осуществления приведенные выше скорости растворения оценивают в 0,1 М хлористо-водородной кислоте при рабочей концентрации ~5 мкг/мл LMT, при перемешивании при скорости лопасти 50 об/мин. В некоторых вариантах осуществления скорости растворения оценивают спектрофотометрическим анализом. В некоторых вариантах осуществления анализ включает УФ/ВО спектрофотометрию ($\lambda_{\max \text{ LMT}}=255 \text{ нм}$).

Как следствие их неожиданно высокой скорости растворения способы формулирования, описанные в настоящем изобретении, могут давать активное соединение с высокой степенью биодоступности.

Быстрая скорость растворения сохраняется после длительного хранения, даже если хранение осуществляют в "стрессовых" условиях (т.е. повышенные температура и влажность). Быстрая скорость растворения и, следовательно, хорошая биодоступность, композиций, формулируемых согласно данным способам настоящего изобретения, является также малочувствительной к изменениям в самом составе.

Другие ингредиенты.

Фармацевтическая композиция будет обычно также содержать смазывающее вещество. Примеры смазывающих веществ включают стеарат магния, стеарат кальция, стеарилфумарат натрия, стеариновую кислоту, глицерилбигапнат, полиэтиленгликоль, этиленоксидные полимеры (например, те, которые доступны под зарегистрированным товарным знаком Carbowax от Union Carbide, Inc., Danbury, CT), лаурилсульфат натрия, лаурилстеарат магния, смеси стеарата магния с лаурилсульфатом натрия и гидрогенизированное растительное масло. Предпочтительные смазывающие вещества включают стеарат кальция, стеарат магния и стеарилфумарат натрия. Более предпочтительным в качестве смазывающего вещества является стеарат магния. Смазывающие вещества обычно содержатся в количестве от приблизительно 0,5 до приблизительно 5,0% суммарного веса (непокрытой) таблетки. Количество применяемого смазывающего вещества обычно составляет от приблизительно 1,0 до приблизительно 2,0, предпочтительно 0,5-2,0% мас./мас.

В добавление к разбавителю(ям) и смазывающему(им) веществу(ам), другие общепринятые вспомогательные вещества могут также присутствовать в фармацевтических композициях настоящего изобретения. Данные дополнительные вспомогательные вещества включают разрыхлители, связующие, ароматизаторы, красители и регуляторы сыпучести. Некоторые вспомогательные вещества могут выполнять несколько функций, например, и как связующее, и как разрыхлитель для таблеток.

Разрыхлитель для таблеток может присутствовать в количестве, необходимом для достижения быстрого растворения. Разрыхлители представляют собой вспомогательные вещества, которые противодействуют физическим силам соединения частиц в таблетке или капсуле, когда лекарственную форму помещают в водный раствор. Примеры разрыхлителей включают поперечно сшитый поливинилпирролидон (кросповидон), натрий-крахмалгликолят, поперечно сшитую натрий-карбоксиметилцеллюлозу (кроскармеллоза натрия) и прежелатинизированный крахмал. Обычно количество разрыхлителя может составлять от 0 до приблизительно 25% мас./мас., более обычно от приблизительно 1 до приблизительно 5% мас./мас. и обычно менее чем 10 или менее чем 5% мас./мас. композиции.

Связующие представляют собой вспомогательные вещества, которые способствуют слипанию частиц в твердом составе.

Примеры связующих включают целлюлозные производные (карбоксиметилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, этилцеллюлозу, микрокристаллическую целлюлозу) и сахара, такие как лактоза, сахароза, декстроза, глюкоза, мальтодекстрин и маннитол, ксилитол, полиметакрилаты, поливинилпирролидон, сорбитол, прежелатинизированный крахмал, альгиновые кислоты и их соли, такие как альгинат натрия, силикат магния алюминия, полиэтиленгликоль, каррагенан и подобные. Обычно, количество связующего будет изменяться в широком диапазоне, например от 0 до 95% мас./мас. композиции. Как отмечалось выше, вспомогательные вещества могут выполнять несколько функций. Например, разбавитель для таблетирования может служить как связующее.

Регуляторы сыпучести представляют собой вещества, добавляемые к порошку для улучшения его текучести. Примеры регуляторов сыпучести включают стеарат магния, коллоидный диоксид кремния (такие как степени качества, продаваемые как Aerosil), крахмал и тальк. Регуляторы сыпучести могут присутствовать в фармацевтической композиции при концентрации от 0 до приблизительно 5% мас./мас. Снова, однако, следует отметить, что вспомогательные вещества могут выполнять несколько функций. Смазывающее вещество, например стеарат магния, может служить также в качестве регулятора сыпучести.

Примеры красителей, которые можно вводить в фармацевтические композиции настоящего изобретения, включают диоксид титана и/или красители, пригодные в пищу, такие как красители, известные как FD&C красители и природные окрашивающие агенты. Мало вероятно, что краситель будет применяться в порошковой смеси, которую прессуют согласно аспектам настоящего изобретения, обсуждаемым выше, но он может образовывать часть покрытия, наносимого на композицию, как описано ниже, в данном случае краситель может присутствовать в пленочном покрытии в количестве вплоть до приблизительно 2,0% мас./мас.

Таблетку желательнее покрывать общепринятым пленочным покрытием, которое придает твердость, облегчает проглатывание и придает элегантный внешний вид конечному продукту. Многие полимерные материалы для пленочного покрытия являются хорошо известными в данной области техники. Предпочтительным материалом для пленочного покрытия является гидроксипропилметилцеллюлоза (HPMC) или частично гидролизованный поливиниловый спирт (PVA). HPMC и PVA можно получить из коммерческих источников, например у Colocap, в виде составов для нанесения покрытия, содержащих вспомогательные вещества, которые служат в качестве связующих, облегчающих нанесения покрытия, под зарегистрированной товарной маркой Opadry. Opadry составы могут также содержать тальк, полидекстрозу, три-

ацетин, полиэтиленгликоль, полисорбат 80, диоксид титана и один или более красителей или подобных. Можно также применять другие подходящие образующие пленку полимеры, включая гидроксипропилцеллюлозу, виниловые сополимеры, такие как поливинилпирролидон и поливинилацетат, и акрилат-метакрилатные сополимеры. Применение пленочного покрытия является полезным для легкости обращения и поскольку окрашенные в голубой цвет сердцевинки без покрытия могут окрашивать внутреннюю поверхность рта при проглатывании. Покрытие также увеличивает устойчивость к свету лекарственной формы.

Покрытие таблеток можно удобно осуществлять, применяя общепринятую установку для нанесения покрытия. В предпочтительных вариантах осуществления данного способа установку для нанесения покрытия предварительно нагревают, применяя поступающий воздух до температуры выпуска 35-55°C, более предпочтительно 40-50°C. Это обычно может потребовать применение нагретого поступающего воздуха при температуре поступающего воздуха 45-75°C, предпочтительно 50-65°C в течение 10-15 мин. Затем сердцевинки таблеток, содержащие активный ингредиент (например, LMTM), добавляют в установку для нанесения покрытия и наносят водный раствор пленочного покрытия. Скорость опрыскивания контролируют так, чтобы температура слоя поддерживалась равной 38-48°C, более предпочтительно 42-44°C, до достижения требуемого веса (вес покрытия).

Способы сухого прессования.

"Сухое прессование", как применяют в настоящем изобретении, относится к способам прессования, которые не включают применение нагревания или влаги. Сухое прессование может включать прямое прессование активного ингредиента с подходящими разбавителями, или оно может включать сухое гранулирование (например, способ комкования/двойного прессования или вальцевание).

Прямое прессование может включать простое прямое прессование активного ингредиента с разбавителями, пригодными для прямого прессования. Альтернативно, оно может включать гранулирование, например мокрое гранулирование, вспомогательных веществ, получая сухую гранулированную смесь вспомогательных веществ, которую можно затем непосредственно прессовать с сухим активным ингредиентом (и необязательно дополнительными сухими вспомогательными веществами). Это можно называть "экстрагранулярным включением" активного ингредиента.

Соответственно в некоторых вариантах осуществления твердые лекарственные формы настоящего изобретения можно получить в способе получения, который включает простое прямое прессование. В данном варианте осуществления ингредиенты таблетки, т.е. активный ингредиент (например, LMTM), разбавитель(и) и другие необязательные вспомогательные вещества, смешивают вместе в твердой форме в виде частиц, получая однородную смесь, например, в шаровом смесителе, и затем прессуют, применяя таблеточную машину.

В других вариантах осуществления композицию получают способом сухого гранулирования. Сухое гранулирование относится к способу гранулирования без применения гранулирующих жидкостей. Для того чтобы материал можно было подвергать сухому гранулированию, по меньшей мере один из его составляющих, или активный ингредиент, или разбавитель, должен обладать когезивными свойствами. Сухое гранулирование можно осуществлять способом, известным как "комкование". При "комковании" материал, который будут гранулировать, вначале получают в виде объемной прессованной массы или "слага", обычно применяя таблеточную машину с большим плоским экраном (пример продольного прессы показан в US 4880373). Может образовываться достаточно компактная масса при обеспечении достаточного времени для того, чтобы воздух покинул прессуемый материал. Затем прессованную массу измельчают через сито с требуемым размером отверстий, вручную или автоматически, как, например, посредством измельчителя. Получение гранул "комкованием" также известно как предварительное прессование. Когда таблетки получают из гранулированного комкованного материала, данный способ называют "способом двойного прессования".

Сухое гранулирование можно также осуществлять, применяя "роликовый пресс". В роликовом прессе частицы материала объединяются и уплотняются пропусканием материала между двумя роликами под высоким давлением. Затем уплотненный материал из роликового прессы измельчают до равномерного размера гранул измельчением. Затем однородные гранулы смешивают с другими веществами, такими как смазывающее вещество, для таблетирования материала (как, например, посредством роторной таблеточной машины). В добавление к фармацевтическому применению, роликовый пресс применяют в других областях промышленности, таких как пищевая промышленность, корма для животных и удобрения.

Под сухим гранулированием в настоящее время обычно понимают роликовое прессование или комкование, и оно является хорошо известными специалисту в данной области техники (см., например, *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets* (Lieberman, Lachman, and Schwartz (Eds); Marcel Dekker, Inc, 2nd Edition, 1989) и *Remington's Pharmaceutical Sciences* (A.R. Gennaro (Ed); Mack Publishing Co., Easton, PA, 18th Edition, 1990)).

В следующих вариантах осуществления настоящего изобретения таблетки получают мокрым гранулированием вспомогательных веществ и экстрагранулярным введением активного ингредиента (на-

пример, LMTM). Обычно данный способ включает гранулирование влажной массы разбавителей, таких как лактоза и/или микрокристаллическая целлюлоза, с водой, необязательно с добавлением связующего, такого как поливинилпирролидон. Влажную массу сушат, затем прессуют через сито, получая гранулы. Затем активный ингредиент и любые оставшиеся вспомогательные вещества, такие как смазывающее вещество, смешивают с сухими гранулами и прессуют, получая таблетки.

Применение кислот в композициях настоящего изобретения.

Композиции, содержащие лейко(метилтиониниевые) соединения, включая соединения настоящего изобретения, такие как LMTM, можно в некоторых вариантах осуществления стабилизировать добавлением подходящего количества определенных кислот к свободно сыпучему материалу перед формулированием. Данные кислоты можно применять для предотвращения образования дополнительного МТ, и в процессе формулирования, и в течение всего срока годности продукта, посредством этого обеспечивая стабильную фармацевтическую композицию с целью получить разрешение контролирующего органа с соответствующей экономией затрат при упаковке.

Следовательно, согласно настоящему изобретению также обеспечивают фармацевтическую композицию, содержащую активный ингредиент, как описано в настоящем изобретении, и фармацевтически приемлемый носитель, характеризующуюся тем, что указанный состав дополнительно содержит кислоту в количестве, достаточном для предотвращения образования МТ. Не желая быть связанными теорией, считают, что кислоты, имеющие рК1 больше чем 1,5, являются предпочтительными. В некоторых вариантах осуществления кислота присутствует в количестве 5-25% мас./мас.

Предпочтительно композицию получают способом сухого прессования, как описано выше.

Предпочтительными кислотами для целей настоящего изобретения являются малеиновая кислота (рК1 1/9), фосфорная кислота (рК1 2,12), аскорбиновая кислота (рК1 4,17), сорбиновая кислота (рК1 4,76), аспарагиновая кислота и сиаловая кислота. Стабилизирующий эффект добавляемой кислоты можно усилить выбором подходящего носителя. Носитель предпочтительно представляет собой маннитол, целлюлозный материал или крахмал, или их смеси. Носитель обычно присутствует в количестве по меньшей мере 40% мас./мас. состава.

Размер частиц.

Также обнаружили, что значительного снижения в составе МТ можно также достичь выбором подходящего диапазона размера частиц для смешивания сухого порошка, обычно более чем 10% частиц имеют размер больше чем 10 мкм. Следовательно, согласно другому аспекту настоящего изобретения обеспечивают фармацевтическую композицию, содержащую активный ингредиент, как описано в настоящем изобретении, и фармацевтически приемлемый носитель, дополнительно характеризующуюся тем, что указанная композиция содержит частицы, из которых более чем 10% имеют размер больше чем 10 мкм.

Носители.

Обнаружено, что значительного снижения в составе МТ можно также достичь выбором подходящего носителя, в частности носителя, имеющего форму частиц, которая не является склонной к включению воды. Elcema ТМ, например, который имеет длинные, ламеллярные частицы, которые являются гладкими и плоскими по форме с непористой поверхностью, по-видимому, ослабляют МТ образование ограничением доступа воды. Этилцеллюлоза, маннитол и крахмал 1500 ТМ и микрокристаллическая целлюлоза также являются особенно подходящими для данной цели.

Следовательно, согласно другому аспекту настоящего изобретения обеспечивают фармацевтическую композицию, содержащую лейко(метилтиониниевое) соединение, например соединение настоящего изобретения, такое как LMTM, и фармацевтически приемлемый носитель, характеризующуюся тем, что твердый носитель представляет собой Elcema ТМ, этилцеллюлозу, маннитол или крахмал 1500 ТМ.

Инкапсулирование.

Стабилизированные сухие порошковые смеси согласно настоящему изобретению можно формулировать, например, прессованием до таблеток или наполнением в капсулы (с или без предварительного превращения в гранулированный порошок способами, как описано в примерах состава 1-4), получая фармацевтические композиции, обладающие превосходным сроком годности.

Капсулы согласно настоящему изобретению обычно являются желатиновыми или предпочтительно НРМС. Предпочтительные вспомогательные вещества включают лактозу, крахмал, целлюлозу, молочный сахар и высокомолекулярные полиэтиленгликоли.

Заключение.

Фармацевтические композиции и составы, полученные согласно способам, описанным выше, являются более стабильными, непосредственно после завершения получения, чем составы, полученные, применяя общепринятое водное гранулирование. Более того, они могут проявлять увеличенную стабильность при хранении.

Например, таким образом полученный фармацевтический состав с содержанием 10-50 мас.%. LMTM, предпочтительно 15-40 мас.%. LMTM, делает возможным то, что в стандартных испытаниях на стабильность, например в испытаниях на длительную стабильность в форсированных условиях при температуре 25°C и относительной влажности 60±5%, содержание L Azure В не увеличивается более чем 2%

относительно LMTM площади пика, в течение 24 месяцев.

При обработке и хранении лейко(метилтиониниевые) соединения, такие как LMTM, могут также окисляться, давая небольшое количество MT (см. схему выше).

Присутствие относительно небольших концентраций (например, менее чем 12%) MT в лейко-составах настоящего изобретения, хотя и нежелательно, не считают имеющим неблагоприятную клиническую значимость само по себе, поскольку даже если в тело поступает MT в его заряженной или окисленной форме из LMTM и различные другие лейко соли, затем они могут восстанавливаться до незаряженной (восстановленной) MT формы перед поглощением. В добавление к небольшому количеству MT, образуемому в процессе обработки, такой как смешивание и таблетирование, лейко-метилтиониниевые соли настоящего изобретения могут реагировать с кислородом, абсорбированным на вспомогательных веществах и присутствующим в таблетке, давая большее количество MT, особенно в присутствии влаги.

Одно преимущество составов настоящего изобретения заключается в сведении до минимума количества MT, образующегося в таблетках, например до менее чем 12% в течение 2 лет при хранении при 25°C при относительной влажности 60%. Это относится к общему количеству MT, образуемому и при обработке, и при хранении таблеток: обычно способы формулирования настоящего изобретения приводят в результате к образованию менее чем 5% MT в процессе обработки; максимально затем 5-7% MT образуется при хранении конечной упаковки. Это дает срок годности по меньшей мере 24 месяца.

Это показано в примерах составов ниже.

Дозирование.

Специалисту в данной области техники ясно, что подходящие дозы соединений и композиций, содержащих данное соединение, могут изменяться от пациента к пациенту.

Определение оптимальной дозы будет обычно включать уравнивание уровня терапевтической пользы с любым риском или вредными побочными эффектами. Выбранная доза будет зависеть от ряда факторов, включая, но без ограничения, активность конкретного соединения, путь введения, время введения, скорость выведения соединения, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или материалы, применяемые в комбинации, тяжесть состояния, и вид, пол, возраст, вес, заболевание, общее состояние здоровья и предшествующую медицинскую историю пациента. Количество соединения и путь введения будут, в конце концов, на усмотрение лечащего врача, ветеринара или клинициста, хотя обычно дозу будут выбирать так, чтобы достичь местных концентраций в месте действия, которые достигают требуемый эффект без того, чтобы вызывать опасные или вредные побочные эффекты.

Введение можно осуществлять в виде одной дозы, непрерывно или прерывисто (например, в виде отдельных доз через подходящие интервалы времени) во время всего курса лечения. Способы определения наиболее эффективного способа и дозы введения являются хорошо известными специалисту в данной области техники и будут изменяться в зависимости от состава, применяемого для терапии, целей терапии, клетки(клеток)-мишени, которые будут обрабатывать, и субъекта, которого будут подвергать лечению. Единичное или множественное введение можно осуществлять с уровнем дозы и схемой, выбранными лечащим врачом, ветеринаром или клиницистом.

В общем, подходящая доза соединения находится в диапазоне от приблизительно 100 нг до приблизительно 25 мг (более обычно от приблизительно 1 мкг до приблизительно 10 мг) на 1 кг веса тела субъекта в день.

В некоторых вариантах осуществления соединение вводят пациенту-человеку согласно следующему режиму дозирования: приблизительно 100 мг 3 раза в день.

В некоторых вариантах осуществления соединение вводят пациенту-человеку согласно следующему режиму дозирования: приблизительно 150 мг 2 раза в день.

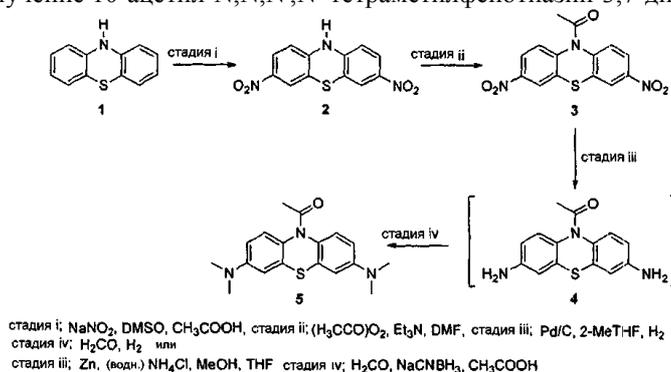
В некоторых вариантах осуществления соединение вводят пациенту-человеку согласно следующему режиму дозирования: приблизительно 200 мг 2 раза в день.

Примеры

Следующие примеры приведены только для иллюстрации настоящего изобретения и не предполагается, что они ограничивают его объем.

Пример 1. Получение и характеристики.

Лабораторное получение 10-ацетил-N,N,N',N'-тетраметилфенотиазин-3,7-диамина (5)



Получение 3,7-динитро-10Н-фенотиазина (2).

В трехгорлую 1-литровую круглодонную колбу (RBF), оснащенную термометром, капельной воронкой и холодильником, добавляли фенотиазин (ММ 199,28 г/моль, 25,00 г, 125,5 ммоль) и диметилсульфоксид (250 мл), смесь перемешивали в течение 2 мин или до растворения фенотиазина. Затем холодильник соединяли с склянкой Дрекселя, наполовину заполненной водой. Затем добавляли нитрит натрия (ММ 69,00 г/моль, 51,94 г, 752,7 ммоль) в RBF и добавляли уксусную кислоту (150 мл) в капельную воронку. Затем уксусную кислоту добавляли в RBF по каплям в течение 20 мин. Светло-желтая суспензия становилась красной, и из раствора выпадал твердый остаток. После завершения добавления уксусной кислоты смесь перемешивали в течение 2 ч при температуре окружающей среды (36-20°C перед увеличением температуры) до 95°C и перемешивали в течение 17 ч. После этого смесь охлаждали до 50°C, добавляли метанол (100 мл) и смесь дополнительно охлаждали до 22°C. Затем охлажденную смесь фильтровали и остаток на фильтре промывали метанолом (3×25 мл). Промытый остаток оставляли на фильтре под вакуумом в течение 30 мин перед сушкой в течение 15 ч при 50°C, получая продукт в виде коричневого твердого остатка (ММ 289,27 г/моль, 29,45 г, 81%).

Примечания.

1. При добавлении уксусной кислоты получаются газы NO_x , которые превращаются в азотную кислоту при барботировании газа через склянку Дрекселя, наполовину заполненную водой.

2. Добавление уксусной кислоты является экзотермическим, и смесь нагревается с 22 до 36°C.

3. Метанол добавляли для того, чтобы облегчить растворение ацетата натрия и в качестве антирастворителя для того, чтобы получить максимальный выход продукта.

4. Получение было также успешным, применяя диметилформамид (DMF), ацетонитрил (MeCN), тетрагидрофуран (THF), ацетон или диметоксизтан (DME) в качестве растворителя реакции.

ЯМР: продукт (5 мг) растворяли в DMCO-d_6 (1,5 мл), и может требоваться нагревание для полного растворения твердого вещества.

δ_{H} (400 МГц; DMCO-d_6): 6,72 (2H, д, J=8,8 Гц, ArH), 7,77 (2H, д, J=2,8 Гц, ArH), 7,87 (2H, дд, J=2,8, 8,8 Гц, ArH).

Получение 3,7-динитро-10-ацетилфенотиазина (3).

В 3-горлую 500-мл круглодонную колбу, оснащенную термометром и холодильником, добавляли 3,7-динитро-10Н-фенотиазин (ММ 289,27 г/моль, 29,00 г, 100 ммоль), диметилформамид (58 мл), уксусный ангидрид (ММ 102,09 г/моль, 102,09 г, 1000 ммоль) и триэтиламин (ММ 101,19 г/моль, 40,88 г, 401 ммоль). Смесь нагревали до 105°C и перемешивали при данной температуре в течение 3 ч. Смесь охлаждали до температуры окружающей среды (21°C) перед охлаждением до 5°C, при этом ее перемешивали в течение 1 ч. Продукт выделяли фильтрованием и промывали метанолом (3×30 мл), получая светло-желтый кристаллический остаток, который сушили при 50°C в течение 15 ч (ММ 331,31 г/моль, 26,94 г, 81%).

Примечания.

1. Кристаллы продукта образуются в процессе реакции через ~1 ч при 105°C.

2. После охлаждения выпадает рыхлый осадок продукта при ~70°C.

3. Продукт имел оранжевый цвет после промывки его метанолом.

ЯМР: продукт (10 мг) растворяли в DMCO-d_6 (1,5 мл).

δ_{H} (400 МГц; DMCO-d_6): 2,25 (3H, с, CH_3), 7,92 (2H, д, J=8,8 Гц, ArH), 8,28 (2H, дд, J=8,8, 2 Гц, ArH), 8,47 (2H, д, J=2 Гц, ArH).

Получение 10-ацетил-N,N,N',N'-тетраметилфенотиазин-3,7-диамина (5).

В 3-горлую 100-мл круглодонную колбу, оснащенную термометром и холодильником, добавляли

3,7-динитро-10-ацетилфенотиазин (ММ 331,31 г/моль, 5 г, 15,09 ммоль), палладий-на-угле (10%, сухой, 0,5 г) и 2-метилтетрагидрофуран (25 мл). Колбу вакуумировали и продували водородом 5 раз перед нагреванием смеси до 56°C. Через 17 ч считали, что восстановление завершилось (см. ТСХ условия), давая соединение 4, и добавляли формалин (ММ 30,03 г/моль, 14,7 г, 181,1 ммоль). Колбу снова вакуумировали и продували 5 раз водородом. Через 71 ч после добавления формалина (суммарное время 88 ч) при 56°C считали, что тетраметилирование завершилось по ТСХ. Смесь фильтровали при 50°C, серый катализатор промывали 2-метилтетрагидрофураном (3×5 мл), и фильтрат и промывки объединяли. К данному раствору добавляли метанол (5 мл) для гомогенизации смеси. Охлаждение до 5°C приводило в результате к осаждению бесцветного твердого остатка из раствора. Добавляли дополнительные два объема метанола (10 мл) и суспензию перемешивали в течение 50 мин при 5°C. Неочищенный продукт выделяли фильтрованием, получая бесцветный твердый остаток, который промывали метанолом (3×5 мл) и сушили при 50°C в течение 16 ч (ММ 327,45 г/моль, 2,26 г, 46%). К фильтрату в результате выделения добавляли воду (50 мл), что давало дополнительное количество твердого остатка. Суспензию перемешивали при 5°C в течение 2 ч перед сбором фильтрованием, промывали метанолом (3×5 мл) и сушили при 50°C в течение 13 ч. (ММ 327,45 г/моль, 0,83 г, 17%). Суммарный выход продукта составлял (3,09 г, 63%).

Примечания.

1. Условия ТСХ с нормальной фазой, элюент 75% этилацетат, 25% петролейный спирт (40-60°C) и УФ лампа при 254 нм.

2. Фактор удерживания исходного динитросоединения составлял 0,68 в виде желтого пятна, фактор удерживания продукта гидрирования составлял 0,25 в виде голубого пятна и фактор удерживания продукта метилирования составлял 0,67 в виде светло-голубого пятна.

3. Способ ТСХ анализа стадии гидрирования являлся прямым обнаружением, тогда как анализ продукта метилирования включал добавление воды к реакционной аликвоте, которую экстрагировали этилацетатом и затем проявляли.

4. Через 17 ч ТСХ показывает два пятна, основное пятно было продуктом восстановления, меньшее пятно было неизвестным.

5. Через 88 ч ТСХ показывает в основном тетраметилированный продукт в качестве основного пятна.

6. Обычно восстановление и метилирование будут завершаться в пределах 72 ч.

7. ¹H ЯМР спектроскопия двух образцов давала идентичные спектры, следы 2-метилтетрагидрофурана обнаруживали вместе с неизвестным сигналом при 5 ppm.

ЯМР: продукт (10 мг) растворяли в CDCl₃ (1,5 мл).

δ_H (400 МГц; CDCl₃): 2,09 (3H, с, CH₃), 2,86 (12H, с, NCH₃), 6,54 (2H, д, J=8 Гц, ArH), 6,64 (2H, с, ArH), 7,19 (2H, ушир. с, ArH).

Альтернативное получение 10-ацетил-N,N,N'-тетраметилфенотиазин-3,7'-диамина (5).

В 50-мл круглодонную колбу добавляли 3,7-динитро-10-ацетилфенотиазин (ММ(ММ) 331,31 г/моль, 1 г, 3,02 ммоль), цинковую пыль (ММ 65,39 г/моль, 1,38 г, 21,13 ммоль), метанол (6 мл) и тетрагидрофуран (2 мл). Смесь нагревали до 50°C, после чего медленно добавляли теплый (45-50°C) водный раствор хлорида аммония (ММ 53,49 г/моль, 2,26 г, 42,26 ммоль, растворенный в 6 мл воды), поддерживая осторожное кипение. Затем смесь нагревали до 70°C и перемешивали при данной температуре в течение 2 ч, после чего ее охлаждали до температуры окружающей среды (23°C). Охлажденную смесь фильтровали, удаляя цинковую соль, и фильтрат, содержащий соединение 4, обрабатывали параформальдегидом (ММ 30,03 г/моль, 1,09 г, 36,22 ммоль), цианоборгидридом натрия (ММ 62,84 г/моль, 1,14 г, 18,11 ммоль) и уксусной кислотой (2 мл). Смесь нагревали до 50°C и перемешивали при данной температуре в течение 3 ч. После охлаждения до температуры окружающей среды (23°C), добавляли воду (2×10 мл) и бесцветную суспензию перемешивали в течение 16 ч. Затем твердый остаток собирали фильтрованием и промывали метанолом (3×2 мл), получая заявленное в заголовке соединение (ММ 327,45 г/моль, 0,91 г, 92%) в виде не совсем белого твердого остатка.

Примечания.

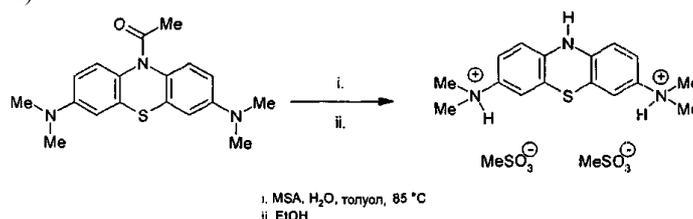
1. Реакция восстановления при применении цинка и водного раствора хлорида аммония была быстрой и чистой, затрачивая только 2 ч для достижения завершения без других пятен, обнаруживаемых ТСХ анализом.

2. Восстановительное метилирование с применением цианоборгидрида натрия, параформальдегида и уксусной кислоты было быстрым и чистым, затрачивая только 3 ч для достижения завершения.

ЯМР: продукт (10 мг) растворяли в CDCl₃ (1,5 мл).

δ_H (400 МГц; CDCl₃): 2,17 (3H, с, CH₃), 2,94 (12H, с, NCH₃), 6,61 (2H, д, J=8 Гц, ArH), 6,71 (2H, с, ArH), 7,26 (2H, ушир. с, ArH).

Получение 1. Получение бис-(метансульфоната) N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамина (LMT.2MsOH)



10-Ацетил-N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамина.

(AcMT) (150 г) добавляли в 3-горлую круглодонную колбу. Добавляли толуол (1,6 л) и смесь кипятили с обратным холодильником в течение 30 мин. Раствор охлаждали до 70°C перед пропусканием через встроенный 5 мкм фильтр в емкость с рубашкой, снабженную перегонным аппаратом¹. Добавляли толуол (150 мл) в круглодонную колбу. Его применяли для промывки линии транспортировки и фильтра. Приблизительно 1,4 л толуола отгоняли при пониженном давлении². Температуру понижали до 18°C перед добавлением воды (42 мл)³. За этим следовало добавление метансульфонокислоты (MSA) (65,5 мл, 99%, 2,2 экв.) в течение 5-минутного периода⁴. Добавляли вторую порцию воды (18 мл). Смесь нагревали до 85°C в течение 3 ч, в течение которых реакцию считали завершённой ТСХ анализом. Двухфазный раствор охлаждали до 50°C перед добавлением абсолютного EtOH (150 мл) в течение 20 мин⁵. В смесь вносили затравку, применяя 150 мг бис-(метансульфоната) N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамина⁶⁻⁸. Добавляли вторую порцию EtOH (600 мл) в течение 90 мин⁹ и реакцию охлаждали до 20°C в течение 1 ч¹⁰. Ее перемешивали при данной температуре в течение 1 ч перед сбором твердого вещества фильтрованием. Остаток на фильтре промывали 3×300 мл MeCN¹¹, сушили отсасыванием в течение 5 мин и помещали под вакуум на ночь, получая продукт в виде желтого кристаллического остатка (85-90% выход).

ν_{\max} (KBr)/cm⁻¹: 3430 (NH), 3014 (= CH), 2649 (C-H) 1614 (C=C), 1487 (C-C), 1318 S=O), 1199 (SO₂-O), 1059 (S=O), 823 (ArC=-H).

δ_{H} (600 МГц; CD₃OD); 2,71 (6H, с, SCH₃), 3,21 (12H, с, NCH₃), 6,75 (2H, д, J=8,8 Гц, ArH), 7,22 (4H, д, J=2,9 Гц, ArH), 7,24 (4H, дд, J=2,9, 8,8 Гц, ArH).

δ_{C} (100 МГц; CD₃OD); 38,2 (SCH₃), 45,9 (NCH₃), 115,0 (CH), 118,2 (CH), 118,7 (QC), 119,9 (QH), 137,1 (CH), 142,8 (OC).

MP: 271°C.

m/z (EI+): рассчитанная 285,129970; наблюдаемая 285,131292 (100%, [M-2MSA]⁺).

m/z (ES-): рассчитанная 95; наблюдаемая 95 (100%, [M-LMT]⁺).

Элементный анализ, % (C₁₈H₂₇N₃O₆S₃): рассчитанный C (45,26), N (8,80), S (20,14), H (5,70); наблюдаемый C (45,19), N (8,76), S (19,84), H (5,53).

Примечания.

1. Кипячение с обратным холодильником обеспечивает полное растворение AcMT для транспортировки через 5-мкл фильтр. Толуол представляет собой хороший растворитель и величина 70°C представляет собой компромисс, позволяющий оставлять материал в растворе и минимизирующий потенциальное повреждение пластиковым перекачивающим рукавом и фильтру.

2. 500 мл оставшегося толуола обеспечивают то, что реакционный объем удовлетворяет минимальной глубине перемешивания в реакторе.

3. Объем воды контролируют для обеспечения того, чтобы продукт кристаллизовался в виде свободно текучего остатка. Внесение затравки снижает влияние небольших изменений объема воды.

4. 2,2 экв. MSA применяют для осуществления гидролиза и получения соли, в то же время оставляя достаточное количество избыточной кислоты (0,2 экв.) для обеспечения стабильности продукта в растворе. Добавление MSA вызывает небольшое выделение тепла, в связи с чем продолжительность добавления составляет 5 мин.

5. EtOH применяют в качестве антирастворителя для осаждения продукта. Часть добавляют перед внесением затравки для того, чтобы затравка не растворялась. Увеличенная продолжительность добавления обеспечивает контролируемую кристаллизацию продукта (см. примечания 7 и 8).

6. Можно осуществлять реакцию без применения затравки, однако ее внесение обеспечивает досрочное осаждение LMT.2MsOH, которое, в свою очередь, предотвращает образование побочных продуктов (таких как сложноэфирный EMS, потенциальный генотоксичный продукт - не обнаруживаемый в процессе получения) и инкапсулирование EtOH.

7. Затравка также является полезной как средство контроля размера частиц продукта. Когда применяют материал затравки, который измельчен в ступке с пестиком до <100 мкм, наблюдается заметное снижение среднего размера частиц. Когда применяют <100 мкм затравку, которую не измельчали, данный эффект не наблюдался. Следовательно, не желая быть связанными теорией, по-видимому, способность затравки контролировать размер частиц не является функцией размера частиц затравки, она

связана с долей внутренних или "новых" граней кристаллов, на которые воздействует измельчение затравки.

8. Наконец, когда материал затравки является относительно большим и неизмельченным, значительное количество продукта (наружного слоя) может прилипать к стенкам реакционного сосуда при добавлении EtOH. Это можно снизить включением цикла нагревания/охлаждения в данный способ после добавления EtOH. Однако неожиданным дополнительным эффектом применения измельченной затравки было то, что количество материала на стенках реактора, присутствующего после EtOH добавления, снижалось на ~90%. Следовательно, более нет необходимости осуществлять цикл нагревания/охлаждения. По-видимому, это связано с небольшим размером частиц затравки, а не с новыми гранями, поскольку, когда реакцию осуществляют, применяя измельченную <100 мкм затравку, наблюдалось то же снижение отложения на стенках реактора.

9. Скорость добавления EtOH влияет на размер частиц и EtOH включение. Быстрое добавление (<1 ч) снижает размер частиц, однако EtOH включение увеличивается. Медленное добавление (2 ч) обладает противоположным эффектом, следовательно, нужно найти баланс.

10. Скорость охлаждения обладает аналогичным, хотя и меньшим эффектом. Быстрое охлаждение (<1 ч) приводит к снижению размера частиц с сопутствующим увеличением EtOH концентрации. Медленное охлаждение обладает противоположным эффектом.

11. EtOH является равно эффективным как MeCN при удалении соответствующих веществ, однако его применение сопровождается небольшим увеличением количества удерживаемого EtOH.

Характеристики бис-(метансульфоната) N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диаминия (LMT.2MsOH).

Элементный анализ (микроанализ).

Анализ дает хорошую корреляцию между теоретическими величинами и величинами, полученными при анализе, для углерода, азота, водорода и серы.

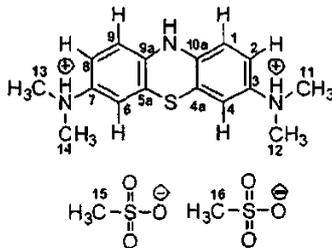
Результаты элементного анализа.

Молекулярная формула	C ₁₈ H ₂₇ N ₃ O ₆ S ₃	
Элемент	% теоретический	% найденный
C	45,26	45,19
H	5,70	5,53
N	8,80	8,76
S	20,14	19,84

Спектроскопия ¹H - ядерного магнитного резонанса (ЯМР).

¹H ЯМР спектр получали в дейтерированном метаноле CD₃OD, на Varian 600 МГц приборе, и он показан на фиг. 1.

Отнесение ¹H ЯМР спектра показано ниже.



Отнесение	Химический сдвиг (ppm)	Протоны	Группа
15/16	2,71	6H, с	2×SCH ₃
11/12/13/14	3,21	12H, с	2×N(CH ₃) ₂
1/9	6,75	2H, д, 8,8 Гц	2 × C-H (ароматический)
4/6	7,22	2H, д, 2,9 Гц	2 × C-H (ароматический)
2/8	7,24	2H, дд, 8,8 и 2,9 Гц	2 × C-H (ароматический)

Спектроскопия ¹³C-ядерного магнитного резонанса (ЯМР).

¹³C ЯМР спектр получали на Varian 400 МГц ЯМР приборе при частоте 100,56 МГц в дейтерированном метаноле CD₃OD, и он показан на фиг. 2.

Первоначальное отнесение ¹³C-ЯМР спектра основано на соотнесении с таблицей известных химических сдвигов (литературная ссылка: Structure Determination of Organic Compounds: Tables of Spectral Data, Pretsch E., et al., Springer, London, p. 122).

В последующих отнесениях применяли DEPT-135, HSQC и HMBC эксперименты для того, чтобы однозначно подтвердить отнесения. DEPT-135 (усиление без искажений за счет переноса поляризации), HSQC (гетероядерное одноквантовое взаимодействие) и HMBC (гетероядерная корреляция множественных связей) спектры получали на Varian 400 МГц ЯМР приборе при частоте 100,56 МГц (см. фиг. 3-5).

Отнесение	Химический сдвиг (ppm)	ЯМР область	DEPT-135
15/16	38,2	Алкил	CH ₃
11/12/13/14	45,9	Алкил	CH ₃
1/9	115,0	Ароматический - C	CH
4/6	118,2	Ароматический - C	CH
4a/5a	118,7	Ароматический - C	C
2/8	119,9	Ароматический - C	C
3/7	137,1	Ароматический - C	CH
9a/10a	142,8	Ароматический - C	C

Инфракрасная спектроскопия (IR).

Образец тщательно смешивали и измельчали в ступке с пестиком с 200 мг безводного KBr. Затем данную смесь прессовали до диска, применяя пресс-форму при давлении 1500 psi. Затем инфракрасный спектр получали на Nicolet Avatar 320 FT-IR спектрометре. Спектр показан на фиг. 6.

Отнесение инфракрасного спектра.

Волновое число пика (см ⁻¹)	Тип пика	Отнесение
~3430	Широкий	N-H колебание
3014	Средний	=C-H колебание
2649	Средний	C-H колебание
1614	Средний	C=C колебание
1487	Сильный	C-C колебание
1318	Сильный	S=O колебание
1199	Сильный	SO ₂ -O колебание
1059	Сильный	S=O колебание
823	Сильный	Ароматическое C-H колебание

Масс-спектрометрия (MS).

Масс-спектроскопический анализ осуществляли, применяя Waters, LCT Premier XE масс-спектрометр. Принимали скорость потока 1 мл/ч. Источником, применяемым для анализа активного компонента, была ионизация электронным ударом в положительном режиме. Источником, применяемым для анализа метансульфонатного противоиона, была электроспрей-ионизация в положительном режиме.

Применяя ионизацию электронным ударом, основной пик наблюдают при 285 (см. фиг. 7). Это соответствует молекулярному иону C₁₆H₁₉N₃S. Сравнение точной измеренной массы и теоретической величины дается ниже.

Теоретический	Пик	Распространенность, %	Отнесение
285,129970	285,131292	100	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ S

Измеренная точная масса хорошо согласуется с рассчитанной массой для C₁₆H₁₉N₃S.

Применяя электроспрей-ионизацию, основной пик наблюдают при 95 (см. фиг. 8).

Это соответствует молекулярному иону противоиона CH₃O₃S.

Пик, m/z	Распространенность, %	Отнесение
95	100	CH ₃ O ₃ S

Спектроскопия ультрафиолетового - видимого спектра (УФ-ВО).

5-мг образец растворяли в деионизированной воде и доводили до 100 мл в мерной колбе. Анализ осуществляли, применяя кварцевые кюветы в Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis спектрометре. УФ-ВО спектр показан на фиг. 9.

Отнесение УФ-ВО спектра.

λ _{макс} (нм)	Оптическая плотность
226	1,7615
255	3,5860
332	0,7527
664	0,1845

Коэффициент поглощения ε для лямбда макс при 255 нм составлял 34254,64. Его рассчитывали согласно закону Бэра-Ламберта

$$\varepsilon = \frac{A}{C \times l},$$

где A - оптическая плотность Log (I₀/I) 3,5860;

C - концентрация моль/л;

l - длина пути 1 см.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

100 мг образец подвергали ВЭЖХ анализу. Анализ осуществляли на Agilent 1200 series с VWD детектором или PDA для идентичности, согласно способу, кратко описанному в таблице ниже.

ВЭЖХ способ.

Параметры	Условия		
Колонка	Zorbax SB-CN, 50×4,6 мм, 3,5 мкм		
Температура колонки	283 К		
Подвижная фаза	A: 0,1% об./об. муравьиная кислота в воде B: 100% ацетонитрил		
Скорость потока	1 мл/мин		
Вводимый объем	5 мкл		
Время окончания	22 минуты		
Длина волны	УФ при 255 нм ширина полосы при 4 нм. Опорная длина волны выключена. PDA скан 190 нм - 800 нм (только идентичность)		
Температура автосэмплера	278 К защищенный от света		
Градиент подвижной фазы	Время (мин)	Подвижная фаза A (%)	Подвижная фаза B (%)
	0,0	100	0
	10,0	90	10
	17,0	50	50
	18,0	50	50
	18,1	100	0
	22,0	100	0

ВЭЖХ кривая показана на фиг. 10. Найдено, что органическая чистота составляет 99,45% мас./мас.

ВЭЖХ анализ (% чистоты), включая время удерживания		
LMT	MT ⁺	Leuco Azure B
6,39 мин	14,38 мин	5,77 мин
99,45	0,55	<0,05

Кристаллическая форма.

В описанном выше способе LMT.2MsOH получают в кристаллической форме. Кристаллическая форма LMT.2MsOH показана спектром рентгеновской порошковой дифрактометрии, показанным на фиг. 11. XRPD показывает острые пики, характерные для высокой степени кристаллической упорядоченности. Можно наблюдать изменения в относительных интенсивностях пиков, которые приписывают ориентационным эффектам в комбинации с различиями размеров частиц. Только небольшие изменения относительной интенсивности пиков (менее чем 50%) наблюдают в качестве функции толщины образца (0,1 мм относительно 1,0 мм).

Кристаллическую форму дополнительно характеризовали FT-Рамановской спектроскопией, термogravиметрическим анализом (TG), дифференциальной сканирующей калориметрией (DSC), динамической сорбцией пара (DVS) и микроскопией (фиг. 12-16). Данную форму удобно называть "формой А".

Кристаллы рентгенографического анализа монокристалла получали в этаноле, метансульфонокислоте и воде; см. фиг. 17с.

Инструментальные подробности.

Рентгеновская порошковая дифрактометрия: Bruker 08 Advance, Cu K α излучение ($\lambda=1,54180 \text{ \AA}$), 40 кВ/40 мА, LynxEye детектор, 0,02° размер шага в 2 θ , 37 с на шаг, 2,5-50° 2 θ диапазон сканирования. Образец получали на кремниевом держателе монокристаллического образца с глубиной 0,1 или 1,0 мм без любой специальной обработки, отличной от применения небольшого давления для получения плоской поверхности. Все образцы вращались во время измерения.

Дифференциальная сканирующая калориметрия: Perkin Elmer DSC 7. Gold тигель, закрытый в атмосфере N₂, скорость нагревания 20°С/мин, сканирование от -50 до 280°С.

Динамическая сорбция пара: Projekt Messtechnik SPS 11-100n анализатор сорбции водяного пара. Образцы помещали в алюминиевые тигли наверх микровесов и уравнивали при 25°С и 50% относительной влажности перед началом предварительно определенной программы, изменяющей влажность, при 25°С (50-0-95-50% относительная влажность, сканируя с Δ относительной влажности = 5% ч⁻¹ и с

периодами уравнивания с неизменяющейся влажностью при предельных величинах).

FT-Рамановская спектроскопия: Bruker RFS100. Nd:YAG 1064 нм возбуждение, 50 мВт мощность лазера, Ge-детектор, 128 сканов, диапазон 50-3500 см⁻¹, 2 см⁻¹ разрешение. Держатель для алюминиевого образца.

Микроскопия поляризованного света: Leitz Orthoplan микроскоп с Leica OFC280 ССО камерой.

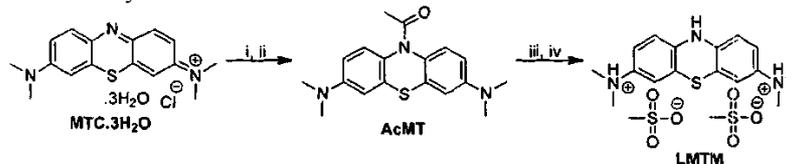
TG: TA прибор TGA Q5000. Открытый алюминиевый тигель, N₂ атмосфера, скорость нагревания 10°C мин⁻¹, диапазон 25-300°C.

TG-FTIR: Netzsch Thermo-Microbalance TG 209 с Bruker FT-IR спектрометром Vector 22. Алюминиевый тигель с микроотверстием, N₂ атмосфера, скорость нагревания 10°C мин⁻¹, диапазон 25-250°C.

Не желая быть связанными теорией, предполагают, что данная форма представляет собой только полиморфную форму LMT.2MsOH. Исследование полиморфизма показало, что форму А получают практически во всех системах для кристаллизации (исследования проводили, применяя дегазированные растворители в инертной атмосфере).

Аморфную LMT.2MsOH можно получить упариванием водного раствора LMT.2MsOH, однако аморфный материал кристаллизуется, давая форму А при дальнейшей сушке.

Крупномасштабное получение АсМТ и LMT.2MsOH



i; N₂H₄·H₂O, Et₃N, MeCN, N₂, 65 °C, 1 ч; ii; Ac₂O, N₂, 95 °C, 2 ч; iii; MSA, H₂O, толуол, N₂, 85 °C; iv; EtOH.

Крупномасштабное получение 10-ацетил-N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамина (АсМТ).

Ацетонитрил (MeCN) (300 л) добавляли в реактор 1 (R1) и охлаждали до -5-0°C. Добавляли тригидрат хлорида метилтиониния (MTC.3H₂O) (150 кг) и температуру повышали до 15-25°C. Добавляли триэтиламин (Et₃N) (100 л) с последующей промывкой MeCN (20 л). Добавляли гидразингидрат (N₂H₄·H₂O) (12 л) в течение 30 мин. Температуру реакции повышали до 60-70°C в течение 1 ч и затем поддерживали при данной температуре в течение 1 ч перед снижением ее до 40-50°C. Добавляли уксусный ангидрид (Ac₂O) (240 л) в течение 1 ч с последующей промывкой MeCN (20 л). Температуру партии повышали до 90-100°C в течение 2 ч. Температуру понижали до 55-65°C и добавляли воду (340 л) в течение 2 ч, поддерживая данную температуру. Затем температуру партии снижали до -5-5°C в течение 2 ч и выдерживали в течение 6 ч. Твердый остаток собирали фильтрованием. Остаток на фильтре полностью сушили перед добавлением воды (400 л) в R1. Температуру в R1 поднимали до 15-25°C перед применением воды порциями для промывки остатка на фильтре. Продукт сушили в потоке азота в течение 6 часов перед выгрузкой (выход: 90-110 кг).

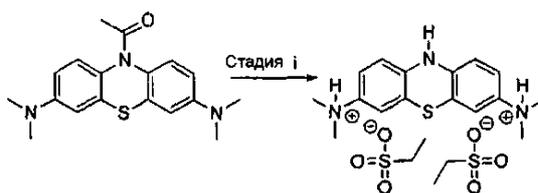
Крупномасштабная очистка 10-ацетил-N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамина (АсМТ).

Воду (300 л) добавляли в R1 с последующим добавлением 10-ацетил-N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамина (АсМТ) (100 кг). Добавляли толуол (400 л) и 80% водный раствор уксусной кислоты (40 л) с последующей промывкой водой (50 л). Температуру партии повышали до 75-85°C в течение 1 ч. Перемешивающее устройство останавливали, и слои разделялись в течение 30 мин. Нижний водный слой удаляли и промывали водой (300 л), затем добавляли 80% водный раствор уксусной кислоты (40 л) с последующей промывкой водой (50 л). Смесь перемешивали при 75-85°C в течение 1 ч перед остановкой перемешивающего устройства и разделением слоев в течение 30 мин. Нижний водный слой удаляли и затем добавляли свежую воду (300 л), 80% водный раствор уксусной кислоты (40 л) с последующей промывкой водой (50 л). Смесь перемешивали при 75-85°C в течение 1 ч перед остановкой перемешивающего устройства. Слои разделяли в течение 30 мин перед удалением нижнего слоя и добавляли воду (390 л), и смесь перемешивали в течение 1 ч. Перемешивающее устройство останавливали и слои разделяли в течение 30 мин. Нижний водный слой удаляли и температуру снижали до -5-5°C. Температуру рубашки повышали до 80°C, и когда она достигала 60°C, температуру понижали до -10-0°C в течение 2 ч. Смесь перемешивали в течение 4 ч перед переносом ее на фильтр. Остаток на фильтре сушили полностью перед добавлением толуола (150 л) в R1. Толуол перемешивали в R1 в течение 30 мин перед его применением порциями для промывки остатка на фильтре. Продукт сушили на фильтре в потоке азота в течение 48 ч до потери на сушку <1% перед выгрузкой (выход: 75-90 кг).

Крупномасштабное получение бис-(метансульфоната) N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамина (LMT.2MsOH) АсМТ (18-22 кг) добавляли в R1. Добавляли толуол (объем (л) = 16×АсМТ вес) и смесь нагревали до 90-100°C в течение 30 мин. Раствор охлаждали до 60-80°C перед пропуском через встроенный 5-мкм фильтр в реактор 2 (R2). Толуол (50 л) добавляли в реактор 1 (все еще при ~70°C) и перемешивали в течение 30 мин. Его применяли для промывки линий для переноса и фильтра. Приведенный выше способ повторяли еще раз. Затем начинали способ удаления избытка толуола из R2

отгонкой при пониженном давлении. Объем R2 допускал, чтобы еще две порции АсМТ (18-22 кг каждая) транспортировали из R1 в R2, с последующим способом, описанным выше. Отгонку завершали, когда объем партии в R2 понижался до ~340 л. Температуру повышали до 95-105°C в течение 15-30 мин перед охлаждением до 15-25°C. Воду (20 л) добавляли в R2. За этим следовало добавление метансульфокислоты (MSA) (33 л, 99%, 2,2 экв.) при поддержании температуры партии равной 15-30°C. Добавляли вторую порцию воды (10 л) и смесь перемешивали при данной температуре в течение 2 ч. Смесь нагревали до 80-90°C в течение 3-4 ч. Двухфазный раствор охлаждали до 48-58°C перед добавлением абсолютного EtOH (75 л) в течение 15-30 мин. Перемешивание прекращали и в смесь вносили затравку, применяя 50 г измельченного (<100 мкм) бис-(метансульфоната) N,N,N',N'-тетраметил-10Н-фенотиазин-3,7-диаминия. Добавляли вторую порцию EtOH (300 л) в течение 80-110 мин. Температуру рубашки устанавливали на 10°C, и когда температура достигала 25°C, температуру рубашки устанавливали на 20°C. Смесь перемешивали при 15-25°C в течение 2 ч перед тем, как собирать твердый остаток фильтрованием. Остаток на фильтре тщательно сшили. Добавляли MeCN (300 л) в R2 и перемешивали в течение 15 мин перед применением порциями для промывки остатка на фильтре. Вторые 300 л MeCN добавляли в R2 и способ промывки повторяли. Продукт сушили на фильтре до потери при сушке <0,2% перед выгрузкой (80-90% выход).

Получение 2. Получение и анализ бис-(этансульфоната) N,N,N',N'-тетраметил-10Н-фенотиазин-3,7-диаминия (LMT.2EsOH)



Стадия i; H₂O, MeOH, EsOH, IPA, ацетон

Способ получения LMT.2EsOH.

Получение LMT.2EsOH осуществляли кислотным гидролизом 10-ацетил-N,N,N',N'-тетраметил-10Н-фенотиазин-3,7-диамина. Применяемой кислотой была этансульфокислота, и комбинацией растворителей был водный раствор метанола.

Экспериментальные подробности.

В 100-мл круглодонную колбу добавляли 10-ацетил-N,N,N',N'-тетраметил-10Н-фенотиазин-3,7-диамин (5 г, 15,27 ммоль, ММ 327,45 г/моль), (70%, водн.) этансульфокислоту (7,21 г, 45,81 ммоль, ММ 110,13 г/моль) и метанол (25 мл). Смесь нагревали до 75°C и перемешивали при данной температуре в течение 4 ч перед охлаждением смеси ледяной водой. Осадок не образовывался, и метанол удаляли в вакууме, получая вязкое зеленое масло. К данному маслу добавляли изопропанол (25 мл), и смесь кипятили с обратным холодильником до получения гомогенного раствора. Добавляли ацетон до образования осадка. Суспензию охлаждали ледяной водой в течение 1 ч перед фильтрованием, получая неочищенный продукт в виде желтого твердого остатка, который становился зеленым при воздействии воздуха. Неочищенный остаток промывали ацетоном (3×5 мл) и сушили на воздухе в течение 3 дней, получая неочищенный продукт (3,35 г, 43%, ММ 505,68 г/моль) в виде светло-зеленого твердого остатка.

ν_{\max} (KBr)/см⁻¹: 3448 (NH), 3263 (=CH), 3030 (=CH), 2987 (CH), 2938 (CH), 2582 (SO₃H), 2452 (SO₃H), 1487 (C-C), 1211 (O=S=O), 1188 (O=S=O), 1145 (O=S=O), 1026.

δ_{H} (400 МГц; D₂O): 1,07 (6H, т, J=7,6 Гц, CH₃), 2,72 (4H, кв., J=7,6 Гц, SCH₂), 3,02 (12H, с, N CH₃), 6,54 (2H, д, J=9,2 Гц, ArH), 7,02 (4H, ушир. с, ArH);

δ_{C} (100 МГц; D₂O): 142,3 (QC), 136,6 (QC), 119,9 (CH), 118,4 (QC), 118,2 (CH), 115,2 (CH), 46,2 (NCH₃), 45,3 (SCH₂), 8,3 (CH₃).

T_{пл}: 208-210°C (IPA/ацетон).

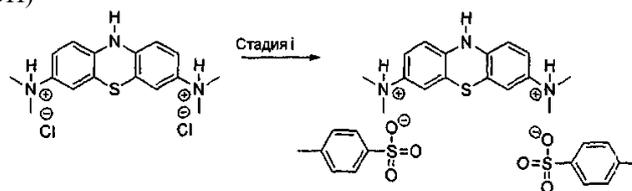
m/z (EI⁺): рассчитанная масса 285,129970; наблюдаемая 285,129761 (100%, [M-2EsOH]⁺).

m/z (ES⁻): рассчитанная масса 109; наблюдаемая 109 (100%, [M-LMT]⁻).

Кристаллография.

1-г образец LMT.2EsOH растворяли в уксусной кислоте (~0,1 г) и этилацетат добавляли сверху в виде слоя, и он медленно диффундировал в течение 3 дней в темноте. Образовывались кристаллы, и их собирали и анализировали дифракцией рентгеновских лучей и подтверждали, что продукт является бис-(этансульфонатом); см. фиг. 17а.

Получение 3. Получение и анализ бис-(*p*-толуолсульфоната) *N,N,N',N'*-тетраметил-10Н-фенотиазин-3,7-диамина (LMT.2TsOH)



Стадия I; H_2O , Na_2CO_3 , THF, Et_2O , *p*-TsOH

Способ получения для LMT.2TsOH.

Получение LMT.2TsOH осуществляли нейтрализацией дихлорида *N,N,N',N'*-тетраметил-10Н-фенотиазин-3,7-диамина карбонатом натрия и экстрагированием нейтральных молекул в органический растворитель. Экстракт обрабатывали *p*-толуолсульфонокислотой и смесь концентрировали досуха.

Экспериментальные подробности.

В 50-мл лабораторный стакан добавляли карбонат натрия (0,59 г, 5,58 ммоль, ММ 105,99 г/моль) и воду (10 мл), смесь перемешивали до растворения твердого остатка. В 100 мл делительную воронку добавляли дихлорид *N,N,N',N'*-тетраметил-10Н-фенотиазин-3,7-диамина (1 г, 2,79 ммоль, ММ 358,33 г/моль), тетрагидрофуран (35 мл) и диэтиловый эфир (5 мл), затем водный раствор карбоната натрия. Нейтральные молекулы экстрагировали в слой органического растворителя и отделяли от водного слоя. К органическому экстракту добавляли моногидрат *p*-толуолсульфонокислоты (1,06 г, 5,58 ммоль, ММ 90,20 г/моль), предварительно растворенный в тетрагидрофуране (5 мл) и смесь концентрировали досуха, получая продукт (ММ 629,8216 г/моль) в виде ломкой зеленой аморфной пены.

ν_{max} (KBr)/ cm^{-1} : 3440 (NH), 3270 (=CH), 3032 (=CH), 2628 (SO_3H), 1484 (C-C), 1194 (O=S=O), 1122 (O=S=O), 1032.

δ_H (400 МГц; D_2O): 2,24 (6H, с, CH_3), 3,09 (12H, с, NCH_3), 6,62 (2H, д, $J=8,4$ Гц, ArH), 7,10 (4H, с, ArH), 7,13 (4H, д, $J=8,4$ Гц, Ts-H), 7,61 (4H, д, $J=8,4$ Гц, Ts-H).

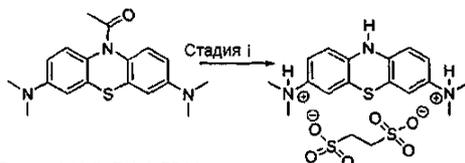
δ_C (100 МГц; D_2O): 19,9 (CH_3), 45,9 (NCH_3), 115,0 (CH), 118,2 (CH), 118,6 (QC), 119,9 (CH), 125,5 (CH), 128,5 (CH), 137,0 (QC), 140,5 (QC), 141,9 (QC), 142,8 (QC).

$T_{пл}$: 108°C (THF/ Et_2O).

m/z (EI+): рассчитанная масса 285,129970; наблюдаемая 285,129398 (100%, $[M-2TsOH]^+$).

m/z (ES-): рассчитанная масса 171,0116; наблюдаемая 171,0121 (100%, $[M-LMT]^-$).

Получение 4. Получение и анализ этандисульфоната *N,N,N',N'*-тетраметил-10Н-фенотиазин-3,7-диамина (LMT.EDSA)



Стадия I; H_2O , EtOH, EDSA

Получение LMT.EDSA осуществляли кислотным гидролизом 10-ацетил-*N,N,N',N'*-тетраметил-10Н-фенотиазин-3,7-диамина. Применяемой кислотой была 1,2-этандинсульфонокислота, и комбинацией растворителей был водный раствор этанола.

Экспериментальные подробности.

В 25-мл круглодонную колбу добавляли 10-ацетил-*N,N,N',N'*-тетраметил-10Н-фенотиазин-3,7-диамина (1 г, 3,05 ммоль, ММ 327,45 г/моль), моногидрат 1,2-этандинсульфонокислоты (0,95 г, 4,58 ммоль, ММ 208,21 г/моль), воду (1 мл) и этанол (5 мл). Смесь нагревали до 85°C и перемешивали при данной температуре в течение 2,5 ч, при этом из раствора выпадал желто-зеленый твердый осадок. Суспензию охлаждали ледяной водой в течение 30 мин перед фильтрованием, получая неочищенный продукт в виде зелено-желтого твердого остатка. Неочищенный остаток промывали этанолом (3×3 мл) и сушили на воздухе в течение 15 мин перед сушкой в течение 3,5 ч при 70°C, получая неочищенный продукт (1,33 г, 91%, ММ 475,61 г/моль) в виде желтого твердого остатка.

Очистка LMT.EDSA.

В 50-мл коническую колбу добавляли неочищенную LMT.EDSA (1 г, 2,10 ммоль, ММ 475,61 г/моль) и воду (10 мл). Суспензию нагревали до 95°C и перемешивали при данной температуре до растворения твердого остатка. Затем раствор охлаждали до 25°C, при этом образовывался светло-зеленый кристаллический остаток. Затем суспензию охлаждали ледяной водой в течение 30 мин перед фильтрованием. Собранный твердый остаток промывали метанолом (3×3 мл) и сушили на воздухе в течение 18 ч, получая очищенный продукт (0,88 г, 88%, ММ 475,61 г/моль) в виде кристаллического светло-зеленого твердого остатка.

ν_{max} (KBr)/ cm^{-1} : 3408 (NH), 3280 (=CH), 3221 (C-H), 3036 (=CH), 2574 (SO_3H), 2480 (SO_3H), 1484 (C-C), 1226 (O=S=O).

δ_{H} (400 МГц; D₂O); 2,98 (12H, с, NCH₃), 3,06 (4H, с, SCH₂), 6,45 (2H, д, J=6 Гц, ArH), 6,95 (4H, д, J=4 Гц, ArH).

δ_{C} (100 МГц; D₂O); 46,2 (NCH₃), 46,4 (SCH₂), 115,1 (CH), 118,1 (CH), 118,4 (QC), 119,8 (CH), 136,5 (QC), 142,1 (QC).

T_{пл}: разлагается при 268°C (H₂O).

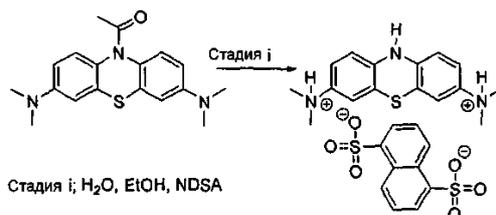
m/z (EI+): рассчитанная 285,129970; наблюдаемая 285,130948 (100%, [M-EDSA]⁺).

m/z (ES-): рассчитанная 188,9528; наблюдаемая 188,9535 (100%, [M-LMT]⁻).

Кристаллография.

40 мг образец LMT.EDSA растворяли в горячей дейтерированной воде (~1 мл) и медленно охлаждали в темноте. Образовывались кристаллы, которые собирали и анализировали дифракцией рентгеновских лучей и подтверждали, что продукт является моногидратом 1:1 LMT-EDSA продукта присоединения; см. фиг. 17b.

Получение 5. Получение и анализ нафталиндисульфоната N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамина (LMT.NDSA)



Способ получения LMT.NDSA.

Получение LMT.NDSA осуществляли кислотным гидролизом 10-ацетил-N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамина. Применяемой кислотой была 1,5-нафталиндисульфокислота, и комбинация растворителей представляла собой водный раствор этанола.

Экспериментальные подробности.

В 25-мл круглодонную колбу добавляли 10-ацетил-N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамин (1 г, 3,05 ммоль, ММ 327,45 г/моль), тетрагидрат 1,5-нафталиндисульфокислоты (1,65 г, 4,58 ммоль, ММ 360,36 г/моль), воду (1 мл) и этанол (5 мл). Смесь нагревали до 85°C и перемешивали при данной температуре в течение 30 мин, в течение которых смесь все еще была нерастворимой. К горячей смеси добавляли воду (4 мл), и реакцию нагревали до 95°C и перемешивали при данной температуре в течение 8 ч. Суспензию охлаждали ледяной водой в течение 10 мин перед фильтрованием, получая неочищенный продукт в виде светло-зеленого твердого остатка. Неочищенный продукт промывали этанолом (3×5 мл) и сушили на воздухе в течение 3 дней, получая неочищенный продукт (1,75 г, 100%, ММ 57 3,71 г/моль) в виде светло-зелено-голубого твердого остатка.

ν_{max} (KBr) /см⁻¹: 3382 (NH), 3302 (=CH), 3040 (=CH), 2525 (SO₃H), 1478 (C-C), 1238 (O=S=O), 1219 (O=S=O), 1179, 1158, 1030.

δ_{H} (400 МГц; D₂O); 3,06 (12H, с, NCH₃), 6,70 (2H, ушир.д, ArH), 7,14 (4H, ушир.д, ArH), 7,43 (2H, т, J=8,0, 7,6 Гц, Naph-H), 7,94 (2H, д, J=7,2 Гц, Naph-H), 8,87 (2H, д, J=78,4 Гц, Naph-H), 9,10 (1H, с, NH).

δ_{C} (100 МГц; D₂O); 46,0 (NCH₃), 115,3 (CH), 117,5 (QC), 118,7 (CH), 120,4 (CH), 124,6 (CH), 124,7 (CH), 129,6 (CH), 129,9 (QC), 138,3 (QC), 141,7 (QC), 143,8 (QC).

T_{пл}: разлагается при 256°C (MeCN).

m/z (EI+): рассчитанная масса 285,129970; наблюдаемая 285,130367 (100%, [M-NDSA]⁺).

m/z (ES-): рассчитанная масса 286,9684; наблюдаемая 286,9697 (100%, [M-LMT]⁻).

Пример 2. Исследования растворимости.

i) Растворимость дибромидной, дихлоридной и бис-(метансульфонатной) солей N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамина (LMT.2HBr, LMT.2HCl и LMT.2MsOH).

Два водных раствора (рН 2,00 и 3,01 при 21,4°C) получали аккуратным добавлением HCl (5 М) к деионизированной воде.

В каждом эксперименте 5-мл аликвоту приведенных выше растворов нагревали до 37°C. Добавляли часть подходящей соли (LMT.2MsOH, LMT.2HCl или LMT.2HBr) и смесь перемешивали в течение нескольких минут для обеспечения полного растворения твердого остатка. Данную стадию повторяли до прекращения дальнейшего растворения.

Результаты показаны в таблице

Соль	pH (21,4°C)	г/5 мл* (37°C)
LMT.2HBr	3,01	4,726-5,236
LMT.2HBr	2,00	4,822-5,096
LMT.2HCl	3,01	4,978-6,029
LMT.2HCl	2,00	4,404-4,961
LMT.2MsOH	2,00	8,825-9,943

*Нижний предел диапазона соответствует суммарному весу, при котором наблюдают полное растворение. Верхний предел представляет собой суммарный вес перед достижением насыщения.

Как можно видеть, LMT.2MSOH обладает хорошей растворимостью в воде.

ii) pH зависимость LMT. 2MsOH соли.

В соответствующих экспериментах получали три буферных исходных раствора (pH 2, 3 и 7) следующим образом.

pH 2 буферный водный раствор.

Первоначально получали раствор (0,2 М) хлорида калия (KCl) (0,745 г в 50 мл деионизированной воды). Из данного раствора отбирали 50 мл и разбавляли приблизительно 80 мл деионизированной воды. Затем применяли раствор (0,2 М) хлористо-водородной кислоты (HCl) для доведения pH до 2 перед последующим разбавлением деионизированной водой до 200 мл. Регистрировали конечную pH 2,00 при 21,6°C.

pH 3 буферный водный раствор.

Первоначально получали раствор (0,1 М) гидрофталата калия (2,042 г в 100 мл деионизированной воды). Из данного раствора отбирали 100 мл и разбавляли приблизительно 50 мл деионизированной воды. Затем применяли 0,2 М HCl раствор для доведения pH до 3 перед последующим разбавлением деионизированной водой до 200 мл. Регистрировали конечную pH 2,99 при 21,7°C.

pH 7 буферный водный раствор.

Первоначально получали раствор (0,1 М) дигидрофосфата калия (KH₂PO₄) (1,370 г в 100 мл деионизированной воды). Из данного раствора отбирали 100 мл и разбавляли приблизительно 80 мл деионизированной воды. Затем применяли 0,5 М раствор гидроксида натрия (NaOH) для доведения pH до 7 перед последующим разбавлением деионизированной водой до 200 мл. Регистрировали конечную pH 7,07 при 22°C.

Способ.

5-мл аликвоту водного буферного раствора добавляли в пробирку, которая содержала микромешальник. Данную пробирку помещали в водяную баню, установленную на 25°C. К раствору добавляли LMT.2MsOH 1-1,5 г порциями. После каждого добавления осуществляли 10-минутное перемешивание для обеспечения максимальной возможности для растворения. О гомогенности смеси судили на глаз. Если твердое вещество все еще присутствовало, после данного периода перемешивания, как определяли визуальным осмотром, считали, что точка насыщения достигнута.

Результаты.

Вязкость полученных в результате смесей не позволяла эффективно отделить избыток твердого вещества, следовательно, было невозможно определить точные величины растворимости. Поэтому каждый из результатов приводили в виде диапазона, в котором суммарная масса LMT.2MsOH, добавленной перед точкой насыщения, образовывала нижний предел, и суммарная масса LMT.2MsOH, добавленной после насыщения, давала верхний предел.

Результаты каждого из трех экспериментов показаны ниже.

pH	Растворимость (г/мл)
2,00	1,600-1,773
2,99	1,981-2,092
7,07	2,033-2,114

Как можно видеть, растворимость немного уменьшается по мере понижения pH, однако LMT.2MsOH хорошо растворялся в каждой из трех водных систем.

В заключение LMT.2MsOH имеет лучшую растворимость в воде, чем MTC (не показано), и повышенную растворимость по сравнению с соответствующей хлоридной и бромидной солями. Это предполагает улучшенную применимость относительно обработки и применений, описанных в настоящем изобретении.

Пример 3. Ингибирование агрегации и токсичность.

Способы. Твердофазный анализ тау-агрегации.

В анализе на тау-агрегацию применяют очищенные рекомбинантные тау-фрагменты в твердофаз-

ном иммуноанализе. Способы подробно описаны, например, в WO 96/307 66. Вкратце, в анализе измеряют связывание укороченного тау (аминокислоты 297-391) в растворе со связанным с твердой фазой укороченным тау (остатки 297-390). Связывание первого детектируют антителом mAb 423, которое специфически узнает пептиды, содержащие С-концевой Glu-391 остаток. Тау-комплекс, образовавшийся *in vitro*, является аналогичным агрегированному комплексу, который образуется при болезни Альцгеймера как следствие стабильности патологического тау-тау связывающего взаимодействия 94/95-аминокислотным повторяющимся доменом (остатки 297-390), обнаруживаемым в протеолитически стабильном ядре спаренной спиральной филаменты.

V_{50} величину (выраженную в виде среднего \pm SE) определяют как концентрация соединения, при которой тау-тау связывание снижается на 50%.

Способы. Анализ тау-агрегации на основе клеток.

Анализ основан на 3Т6 мышинных клетках, которые сконструированы так, чтобы они экспрессировали и полноразмерный человеческий тау-белок (htau40) под контролем индуцибельного промотора (pO-PRSVI) и экспрессировали низкую концентрацию укороченного тау (295-390, dGA) под контролем конститутивного промотора (pCDNA3.1). Экспрессия больших количеств htau40 индуцируется добавлением IPTG (10-50 мкМ), который, в свою очередь, приводит к продуцированию дополнительного укороченного тау способом, в котором агрегация и процессинг полноразмерный тау осуществляются в присутствии dGA тау, который действует как матрица. Добавление ингибиторов тау-тау агрегации в анализ блокирует данный процесс. Способы описаны более подробно в WO 02/055720.

Результаты выражены как концентрация, при которой осуществляется 50% ингибирование генерирования 12 кДа фрагмента. Ее называют EC_{50} величиной.

Клетки (4А и их клоны) выращивают до ~80% конfluenceности в 10-см чашке перед распределением в двух 24-луночных планшетах и выращивают в течение 24 ч. Испытуемое соединение добавляют при различных концентрациях и через 24 ч добавляют IPTG. После выдерживания в течение ночи среду удаляют, лунки промывают PBS и клетки собирают добавлением буфера Лэммли. Образцы хранят при -20°C для последующего гель-электрофореза, вестерн-блоттинга и мечения антителами. Образцы разделяют SDS PAGE, переносят на PVDF мембрану и тау метят 7/51 антителом, детектируемым ECL на Kodak Image Station. Соединения обычно испытывают при четырех концентрациях в трех экземплярах в диапазоне концентраций, причем все образцы пропускают через один гель. Отношение интенсивностей dGA и htau40 полос, нормализованных относительно контрольных образцов, в которых не было лекарственного средства, наносили на график относительно концентрации лекарственного средства, и EC_{50} величину определяли графически из концентрации, при которой отношение снижалось до 0,5.

Способ обобщен в табл. 1, идущей непосредственно ниже. МТС (TRx0014.047) применяли в качестве контроля во всех экспериментах и EC_{50} величину нормализовали так, чтобы МТС имел $EC_{50}=0,59$ мкМ.

Таблица 1
Краткое изложение способа анализа для измерения EC_{50}

Время	Действие
День 1	Распределение клеток по 24-луночным планшетам
День 2	Добавление лекарственного средства при различных концентрациях
День 3	В конце дня добавляют IPTG
День 4	Утро, собирают в буфере Лэммли, хранят при -20°C перед последующей обработкой
День обработки	Прогоняют образцы на SDS PAGE геле, переносят на PVDF мембрану, метят 7/51 анти-тау антителом. Блотты подвергают
	количественной оценке, применяя Kodak 1D программное обеспечение, и данные переносят в Systat статистический пакет программ для построения графиков

Способы. Анализ на клеточную токсичность.

Клетки (3Т6 мышинные фибробласты) выращивают до ~80% конfluenceности в 10-см чашке перед распределением в 96-луночном планшете, 10% 10-см чашки на 96-луночный планшет, 50 мкл на лунку. Одну колонку из 8 лунок оставляют пустой (холостой контрольный реагент в анализе). Клетки выращивают в течение ночи перед добавлением лекарственного средства в четыре лунки при начальной концентрации (обычно 200 мкМ для MIC или LMT.2HBr) и в следующие лунки, применяя 1:2 последовательное разбавление, причем последние четыре лунки применяют в качестве контроля без лекарственного средства. Это позволяет испытывать два лекарственных средства в одном 96-луночном планшете. Клетки оставляли в присутствии лекарственного средства на 48 ч, после чего среду удаляли и клетки промывали PBS. Количество клеток определяли, применяя Cytotox 96-луночный планшет (Proaega), который осно-

ван на анализе с применением лактатдегидрогеназы (LDH). В анализе количественно определяют LDH, стабильный цитозольный фермент, высвобождающийся при лизисе клеток. Высвободившийся LDH измеряют ферментативным анализом, который приводит в результате к превращению тетразольной соли в красный формазановый продукт. Количество образовавшейся краски является пропорциональным числу лизированных клеток.

Вкратце, клетки лизировали 50 мкл/лунка 1× лизисным буфером в течение 45-60 мин с последующим добавлением 50 мкл/лунка LDH реагента для анализа в течение 30 мин и реакцию останавливали добавлением 50 мкл/лунка останавливающего буфера. Поглощение регистрировали при 490 нм. Поглощение относительно необработанных лунок (необработанные клетки = 1,0) наносили на график относительно концентрации лекарственного средства. LD₅₀ определяли графически из концентрации, при которой поглощение снижается на 50%. МТС (TRx0014.047) прогоняли в качестве контроля во всех экспериментах при испытании LMT.2HBr, и LD₅₀ величины корректировали относительно МТС с LD₅₀=65 мкМ.

Результаты.

Различные бис-(сульфонатные) соли согласно настоящему изобретению испытывали и сравнивали с бис-(галогенидными) солями, дихлоридом N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамина (LMTc, LMT.2HCl) и ди(бромидом) N,N,N',N'-тетраметил-10H-фенотиазин-3,7-диамина LMT.2HBr, и с хлоридом метилтиониния (МТС).

In vitro данные для различных метилтиониниевых солевых форм приведены в табл. 2 ниже.

Таблица 2

Краткое изложение in vitro данных

Соединение	LD ₅₀ (мкМ)	EC ₅₀ (мкМ)	ТНх	B ₅₀ (мкМ)
МТС	65±5	0,59±0,04	110	195,6±16,1 (n=10)
LMT.2HBr	61±4 (n=20)	0,66±0,15 (n=8)	92	472,4±27,6 (n=3)
LMT.2MsOH	34±4 (n=8)	0,19±0,04 (n=8)	179	238,2±74,2 (n=3)
LMT.2HCl	64±8 (n=10)	0,63±0,10 (n=7)	102	360,8±38,2 (n=3)
LMT.2TsOH	87±10 (n=8)	0,62±0,34 (n=2)	140	296,0±37,9 (n=3)
LMT.NDSA	77±15 (n=8)	0,71±0,34 (n=4)	108	333,7±63,2 (n=2)
LMT.EDSA	78±6 (n=8)	0,68±0,32 (n=4)	115	399,9±17,6 (n=2)
LMT.2EsOH	52±3 (n=8)	0,52±0,13 (n=3)	100	297,0±75,1 (n=3)
MSA*	-	NE (20)	-	>500
EDSA*	-	NE (20)	-	>500

ТНх, терапевтический индекс (ТНх=LD₅₀/EC₅₀)

Величины выражены как среднее ± SE. NE = неэффективное (при максимальной испытываемой дозе)

*MSA = метансульфокислота; EDSA = этандисульфокислота

Комментарии.

EC₅₀ величины (среднее ± SE) для LMT.2MsOH и LMT.2HCl составляют 0,19±0,04 мкМ и 0,63±0,10 мкМ соответственно с соответствующими терапевтическими индексами 179 и 102.

Относительная эффективность соединений в клеточной модели тау-тау агрегации представляет собой LMT.2MsOH > МТС, LMT.2HBr, LMT.2HCl. Терапевтический индекс является на 63% большим для LMT.2MsOH по сравнению с МТС.

Порядок эффективности в клеточном анализе представляет собой МТС, LMT.2MsOH > LMT.2HCl > LMT.2HBr. B₅₀ величины для LMT.2MsOH и LMT.2HCl составляют 238,2±74,2 мкМ и 360,8±38,2 мкМ соответственно. Порядок относительной эффективности в клеточном анализе представляет собой LMT.2MsOH > МТС, LMT.2HCl, LMT.2HBr.

Пример 4. Токсикология, примеси и влияние на гемопоэтическую систему.

LMT.2HBr, LMT.2HCl, LMT.2MsOH или МТС вводили ежедневно в течение 14 дней женским особям крыс линии Вистар; дозы составляли 95 мг МТ/кг/день с 1 по 10 день и 60 мг МТ/кг/день с 11 по 14 день. Клинические симптомы повышенного положения корпуса, подавленного поведения и общей слабости наблюдали во всех обработанных группах. Гибель животных, связанную с обработкой, наблюдали в LMT.2HBr- и МТС-обработанных группах.

Изменения параметров красных клеток крови наблюдали в крови и костном мозге всех обработанных групп, что является показательным для регенеративной анемии. Они включали снижение количества красных клеток крови, низкую концентрацию гемоглобина и повышенное количество ретикулоцитов в крови и увеличение количества предшественников красных клеток в костном мозге. Это подтверждалось гистологически повышенными концентрациями эритроцитов в селезенке.

Снижение количества нейтрофильных гранулоцитов наблюдали в костном мозге всех обработанных животных, хотя величина этого эффекта была значительно большей в LMT.2HBr-обработанной

группе, чем в других группах. Это различие также заметно в тяжести нейтропении, наблюдаемой в полученных мазках крови, где имелось заметное уменьшение количества зрелых нейтрофилов у LMT.2NBV-обработанных животных, среднее снижение с МТС и отсутствие снижения в LMT.2HCl или LMT.2MsOH группах. Результаты данного исследования предполагают, что в случае крыс, по меньшей мере, LMT.2NBV обладает более высокой склонностью вызывать снижение количества нейтрофилов, чем LMT.2HCl, LMT.2MsOH или МТС. Пониженное количество зрелых нейтрофилов и гранулоцитов также наблюдали в костном мозге при высокой дозе (45 мг МТ/кг/день) в 6-месячном исследовании LMT-2NBV на крысах. Понижение количества нейтрофилов или нейтропения, наблюдаемая после LMT.2NBV, хотя и обратима, будет делать пациентов более подверженными бактериальной инфекции, поскольку их основная роль заключается в разрушении бактерий.

Таким образом, LMT.2MsOH показывает улучшенные свойства по сравнению с LMT.2NBV на крысах с точки зрения и переносимости (связанные с введением смертельных доз), и нейтрофильного ответа.

Таблица: нейтрофильный ответ у крыс после 14-дневного перорального введения различных солевых форм LMT. Суммарное количество нейтрофилов записывали как процент суммарного количества белых клеток (приблизительно 100 белых клеток крови (диапазон 100-107), анализировали из каждого мазка; частоту присутствия незрелых нейтрофилов записывали для каждой группы животных; связанные с введением смертельных доз записывали как число животных на группу из 8 крыс.

Соединение	Нейтрофилы	Ранние нейтрофилы	Связанные с введением смертельных доз
Контроль с плацебо	15,50%	0/8	0/8
LMT.2NBV	3,00%*	8/8	2/8
LMT.2HCl	19,90%	2/8	0/8
LMT.2MsOH	18,30%	1/8	0/8

*P<0,001 по сравнению с контролем.

Хотя LMT.2HCl и LMT.2MsOH являются сравнимыми в приведенном выше анализе, имеется различие в примесях, обнаруживаемых в двух солевых формах. Что касается LMT.2HCl, наличие метилхлорида обнаружено в процессе получения, и он захватывается продуктом таким образом, что его трудно полностью удалить. Наоборот, примеси, такие как этил и метилметансульфонат (EMS, MMS), можно контролировать до гораздо меньших концентраций в LMT.2MsOH способе получения.

Исследования гематопэтической системы проводили на крысах, обезьянах и карликовых свиньях.

Наименьшие дозы, при которых наблюдается метгемоглобинемия, составляли 15 мг МТ/кг/день у крыс (МТС и LMT.2NBV) или 30 мг МТ/кг/день (LMT.2MsOH), 5,3 мг МТ/кг/день у приматов (МТС) и 10 мг МТ/кг/день (LMT.2MsOH и LMT.2NBV) у карликовых свиней.

После первых 28 дней дозирования в 9-месячном LMT.2MsOH исследовании на карликовых свиньях не было случаев метгемоглобинемии при 3 мг МТ/кг/день.

Однако, как ожидается, при повышении уровня дозы МТС, LMT.2NBV или LMT.2MsOH признаки окислительного стресса RBC появляются зависящим от дозы способом, подтверждаемые повышающимися концентрациями метгемоглобина и, в конце концов, при дозах, которые не являются переносимыми, образованием телец Гейнц (агрегаты денатурированного, осажденного гемоглобина с красными клетками).

Пример 5. Фармакокинетика.

Фиг. 18 показывает сравнение концентрации в плазме у крыс МТ молекулы с течением времени после введения дозы LMT.2NBV, LMT.2HCl и LMT.2MsOH при двух пероральных дозах (2 и 15 мг/кг).

Как можно видеть $C_{\text{макс}}$ (при $T_{\text{макс}}$ 1 ч) для LMT. 2MsOH было более чем в 2 раза большей, чем $C_{\text{макс}}$ для LMT.2HCl или LMT.2NBV. Таким образом, LMT.2MsOH может давать более эффективное воздействие МТ, чем LMT.2HCl или LMT.2NBV.

Пример 6. Исследования раздражения желудка.

Исследование (28-дневная крыса с МТС или LMT.2HBr): частота возникновения и тяжесть отобранных полученных микроскопически нарушений в желудке у животных при завершении экспериментов.

Частота возникновения и тяжесть отобранных нарушений в грудине, бедренной кости, печени и селезенке: умерщвление в конце экспериментов																														
Ткани и нарушения	Концентрация (мг/кг/день)	Мужские особи							Женские особи																					
		1M		2M		3M		4M		5M		6M		7M		1F		2F		3F		4F		5F		6F		7F		
		0	5	30	90	0	5	30	90	0	5	30	90	0	5	30	90	0	5	30	90	0	5	30	90	0	5	30	90	
Не исследовали :														5	0	0	5	0	0	5	5	0	0	5	0	0	5	0	0	5
Желудок (неграндулярный) гастрит	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-													
	2	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1													
	3	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1													
Инфильтрация воспалительных клеток	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-													

Пояснения: "-" = нарушение отсутствует, 1 = минимальное, 2 = легкое, 3 = умеренное, 4 = умеренно тяжелое, 5 = тяжелое

Из приведенного выше можно предсказать следующее с 10 на группу.

Частота возникновения и тяжесть отобранных нарушений в грудине, бедренной кости, печени и селезенке: умерщвление в конце экспериментов																															
Ткани и нарушения	Концентрация (мг/кг/день)	Мужские особи							Женские особи																						
		1M		2M		3M		4M		5M		6M		7M		1F		2F		3F		4F		5F		6F		7F			
		0	5	30	90	0	5	30	90	0	5	30	90	0	5	30	90	0	5	30	90	0	5	30	90	0	5	30	90		
Не исследовали :																		10	0	0	10	0	0	10	10	0	0	10	0	0	10
Желудок (неграндулярный) гастрит	1	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-														
	2	-	-	2	-	-	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-	2														
	3	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	2	-	-	-	-	2														
В сумме							2					4				2							2				4				

Исследование (исследование на 28-дневных крысах с LMT.2MsOH): частота возникновения и тяжесть отобранных полученных микроскопически нарушений в желудке у животных при завершении экспериментов.

Частота возникновения и тяжесть отобранных нарушений в грудине, бедренной кости, печени и селезенке: умерщвление в конце экспериментов																	
Ткани и нарушения	Концентрация (мг/кг/день)	Мужские особи				Женские особи											
		1M	2M	3M	4M	1F	2F	3F	4F								
Не исследовали :										10	0	0	10	10	0	0	10
Степень* -																	
Желудок (неграндулярный) гастрит	1	-	-	-	-	-	-	-	-								
	2	-	-	2	-	-	2	-	2								
	3	-	-	-	-	-	-	-	1								
В сумме							2		3								
Инфильтрация воспалительных клеток	1	-	-	4	-	-	4	-	4								
	2	-	-	-	-	-	-	-	1								

* Пояснения: "-" = нарушение отсутствует, 1 = минимальное, 2 = легкое, 3 = умеренное, 4 = умеренно тяжелое, 5 = тяжелое

Данные результаты показывают, что LMT.2MsOH вызывает меньшее раздражение желудка, чем LMT.2HBr.

Пример 7. Составы.

Пример формулирования 1. Получение LMTM таблеток, применяя прямое прессование.

Таблетки, имеющие следующие составы, получали способом прямого прессования.

	Сила действия таблетки (LMT мг/таблетка)				
	50	75	100	125	150
Ингредиент	(мг/таблетка)				
LMTM	84,43	126,65	168,86	211,08	253,29
Высушенный распылением маннитол	344,57	302,35	290,14	392,92	425,71
Микрокристаллическая целлюлоза (Avicel PH102 или PH112)	50,00	75,00	95,00	125,00	150,00
Кросповидон (поперечно-сшитый поливинилпирролидон)	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Стеарат магния	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Суммарный вес сердцевинки таблетки	500,00	525,00	575,00	750,00	850,00

LMTM, высушенный распылением маннитол, микрокристаллическую целлюлозу, кросповидон и стеарат магния смешивали в барабанной мешалке и затем прессовали, применяя таблеточную машину.

Затем сердцевинки таблеток покрывали пленкой с водным раствором суспензии Opadry* blue (*зарегистрированное торговое название Colorcon для ряда материалов для нанесения пленок).

Пример формулирования 2. Получение LMTM таблеток, применяя сухое гранулирование (вальцевание).

Таблетки, имеющие следующие составы, получали способом сухого гранулирования.

	Сила действия таблетки (LMT мг/таблетка)				
	50	75	100	125	150
Ингредиент	(мг/таблетка)				
LMTM	84,43	126,65	168,86	211,08	253,29
Высушенный распылением маннитол	344,57	302,35	290,14	392,92	425,71
Микрокристаллическая целлюлоза (Avicel PH102 или PH112)	50,00	75,00	95,00	125,00	150,00
Кросповидон (поперечно-сшитый поливинилпирролидон)	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Стеарат магния	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Суммарный вес сердцевинки таблетки	500,00	525,00	575,00	750,00	850,00

LMTM, высушенный распылением маннитол, микрокристаллическую целлюлозу, кросповидон и стеарат магния смешивали в барабанной мешалке. Затем смесь подвергали сухому гранулированию, применяя роликовый пресс, и затем измельчали вибрационным гранулятором, применяя подходящее сито. В данном случае половину стеарата магния применяли перед вальцеванием, и затем половину стеарата магния добавляли при гранулировании и смешивали перед прессованием на общепринятой таблеточной машине.

Затем сердцевинки таблеток покрывали пленкой с водным раствором суспензии Opadry* blue (*зарегистрированное торговое название Colorcon для ряда материалов для нанесения пленок).

Пример формулирования 3. Получение MТM таблеток сухим гранулированием (комкование).

Таблетки, имеющие следующие составы, получали следующим способом сухого гранулирования.

	Сила действия таблетки (LMT мг/таблетка)				
	50	75	100	125	150
Ингредиент	(мг/таблетка)				
LMTM	84,43	126,65	168,86	211,08	253,29
Высушенный распылением маннитол	344,57	302,35	290,14	392,92	425,71
Микрокристаллическая целлюлоза (Avicel PH102 или PH112)	50,00	75,00	95,00	125,00	150,00
Кросповидон (поперечно-сшитый поливинилпирролидон)	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Стеарат магния	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Суммарный вес сердцевинки таблетки	500,00	525,00	575,00	750,00	850,00

LMTM и вспомогательные вещества смешивали в барабанной мешалке и затем прессовали, получая массу (гладкие таблетки с плоскими гранями), применяя таблеточную машину.

Затем массу измельчали, применяя вибрационный гранулятор, снабженный 20 меш ситом.

В данном примере половину стеарата магния применяли перед комкованием, и затем половину стеарата магния добавляли при гранулировании и смешивали перед прессованием общепринятой таблеточной машиной.

Затем сердцевинки таблеток покрывали пленкой с водным раствором суспензии Opadry* blue (*зарегистрированное торговое название Colorcon для ряда материалов для нанесения пленок).

Пример формулирования 4. Получение LMTM таблеток влажным гранулированием вспомогательных веществ и введением LMTM экстрагрануляро.

Таблетки, имеющие следующие составы, получали способом влажного гранулирования.

	Сила действия таблетки (LMT мг/таблетка)				
	50	75	100	125	150
Ингредиент	(мг/таблетка)				
LMTM	84,43	126,65	168,86	211,08	253,29
Высушенный распылением маннитол	334,57	292,35	280,14	380,92	413,71
Микрокристаллическая целлюлоза (Avicel PH102 или PH112)	50,00	75,00	95,00	125,00	150,00
Кросповидон (поперечно-сшитый поливинилпирролидон)	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Стеарат магния	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Суммарный вес сердцевинки таблетки	500,00	525,00	575,00	750,00	850,00

Маннитол, кросповидон (треть от суммарного количества) и микрокристаллическую целлюлозу смешивали в барабанной мешалке. Затем смешанный материал гранулируют, применяя раствор PVP в воде. Влажную массу сушили в сушилке в псевдооживленном слое и затем измельчали, применяя вибрационный гранулятор, снабженный подходящим ситом.

Затем измельченный материал смешивали с остатками кросповидона и стеарата магния и LMTM перед прессованием на общепринятой таблеточной машине. Затем сердцевинки таблеток покрывали пленкой с пленкой с водным раствором суспензии Opadry* blue (*зарегистрированное торговое название Colorcon для ряда материалов для нанесения пленок).

Пример формулирования 5. Получение LMTM капсул.

Получали капсулы, имеющие следующие составы.

	Сила действия капсулы (LMT мг/капсула)					
	50	75	100	125	150	200
Ингредиент	(мг/капсула)					
LMTM	84,43	126,65	168,86	211,08	253,29	337,72
Высушенный распылением маннитол	191,07	148,85	116,64	79,42	42,21	37,78
Кросповидон (поперечно-сшитый поливинилпирролидон)	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Стеарат магния	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Суммарный вес сердцевинки таблетки	280,00	280,00	290,00	295,00	300,00	380,00

LMTM и вспомогательные вещества смешивали в барабанной мешалке. Полученную в результате смесь лекарственного средства заполняли в капсулы (50, 75, 100, 125 и 150 мг составы в капсулы размера 1 и 200 мг состав в капсулы размера 0), применяя машину для заполнения капсул. Получали и желатиновые капсулы, и НРМС капсулы.

Пример формулирования 6. Результаты испытания на стабильность LMTM 15-мг таблеток, покрытых пленкой.

Испытание	Момент времени (месяцы)	Место хранения	
		25°C/60%RH	40°C/75%RH
Анализ в виде % LMT свободного основания	0	102,2	102,2
	1	101,5	94,8
	3	100,0	94,2
	6	96,4	Не выполняли
	9	95,6	Не выполняли
	12	96,0	Не выполняли

Пример формулирования 7. Результаты испытания на стабильность LMTM 100-мг таблеток, покрытых пленкой.

Испытание	Момент времени (месяцы)	Место хранения	
		25°C/60%RH	40°C/75%RH
Анализ в виде % LMT свободного основания	0	101,0	101,0
	1	96,7	93,7
	3	95,9	92,8
	6	96,0	94,2
	9	97,1	Не выполняли
	12	96,8	Не выполняли

Пример формулирования 8. Результаты испытания на стабильность LMTM 75-мг таблеток, покрытых пленкой

Испытание	Момент времени (месяцы)	Место хранения	
		25°C/60%RH	40°C/75%RH
% образовавшегося МТ	0	2,16	2,06
	1	2,05	3,79
	3	2,19	4,51
	6	2,83	5,71
	9	3,53	Не выполняли
	12	3,28	Не выполняли

Пример формулирования 9. Результаты испытания на стабильность LMTM 100-мг таблеток, покрытых пленкой.

Испытание	Момент времени (месяцы)	Место хранения	
		25°C/60%RH	40°C/75%RH
% образовавшегося МТ	0	2,07	2,07
	1	1,78	3,27
	3	1,81	4,92
	6	2,51	5,07
	9	2,72	
	12	2,88	

Пример формулирования 10. LMTB 100-мг таблетки, покрытые пленкой.

Материал	мг/таблетка (в виде LMT)	мг/таблетка (в виде LMTM)	% (только сердцевина)
<i>Сердцевина таблетки</i>			
LMTB (номер партии 0802100070)	100,00	163,03	32,61
Высушенный распылением маннитол (Pearlitol 200 SD)	329,00	265,97	53,19
Микрокристаллическая целлюлоза	50,00	50,00	10,00
Кросповидон	15,00	15,00	3,00
Стеарат магния	6,00	6,00	1,20
Суммарный вес сердцевин таблетки	500,00	500,00	100,00
<i>Пленочное покрытие</i>			
Поливиниловый спирт (частично гидрализованый)	8,80	8,80	
Тальк	4,00	4,00	
Диоксид титана	3,10	3,10	
Макрогол PEG 3350	2,47	2,47	
Лецитин (соя)	0,70	0,70	
Оксид железа желтый	0,47	0,47	
Алюминиевый лак индигокармина	0,45	0,45	
Суммарный вес покрытой таблетки	520,00	520,00	
Производитель	Piramal, Morpeth, UK		
Номер партии сердцевин таблеток	A02581		
Дата производства	15 октября 2009		

Таблетки, имеющие приведенный выше состав, получали способом прямого прессования, как описано выше, и затем покрывали пленкой (см. пример формулирования 1).

Пример формулирования 11. LMTM 15-мг таблетки, некрытые пленкой.

Материал	мг/таблетка (теоретическое)	мг/таблетка (действительное)	% (только сердцевина)
<i>Сердцевина таблетки</i>			
LMTM (номера партии 800225510 и 80224450)	75,00	126,80	24,15
Высушенный распылением маннитол (Pearlitol 200 SD)	354,00	302,20	57,56
Микрокристаллическая целлюлоза	75,00	75,00	14,29
Кросповидон	15,00	15,00	2,86
Стеарат магния	6,00	6,00	1,14
Суммарный вес сердцевин таблетки	525,00	525,00	100,00
<i>Пленочное покрытие</i>			
Поливиниловый спирт (частично гидрализованый)	13,86	13,86	
Тальк	6,30	6,30	
Диоксид титана	4,89	4,89	
Макрогол PEG 3350	3,89	3,89	
Лецитин (соя)	1,10	1,10	
Оксид железа желтый	0,75	0,75	
Алюминиевый лак индигокармина	0,71	0,71	
Суммарный вес покрытой таблетки	556,5	556,5	
Производитель	Piramal, Morpeth, UK		
Номер партии сердцевин таблеток	A04827		
Дата производства	5 августа 2010		

Таблетки, имеющие приведенный выше состав, получали способом прямого прессования, как описано выше, и затем покрывали пленкой (см. пример формулирования 1).

Пример формулирования 12. Исследование растворимости.

LMTB покрытые пленкой таблетки (3×100 мг) и LMTM таблетки (4×75 мг), полученные, как в примерах формулирования 10 и 11, перемешивали (см. фиг. 19) при скорости лопатки 50 об/мин и оценивали скорость растворения, применяя стандартный способ фармакопеи (USP 34) и условия, показанные ниже.

Инструментальные условия.

Параметр	Условие
Среда	0,1 М HCl (дегазированная продуванием He)
Объем среды	1000 мл 6 емкостей
Растворенный кислород	<3,00 ppm
Температура бани	37±0,5°C
Лопатка	Покрытая тефлоном
Скорость лопатки	50 об./мин
Объем отбираемой пробы	10 мл - без замены среды
Фильтр	HDPE 10 мкм
Моменты времени	10 15, 30 и 45 минут
Емкости	6 (защищенный от света)
λ_{max} LMT	255 нм
Рабочая концентрация образца (мкг/мл)	Приблизительно 5 мкг/мл (в виде свободного основания) LMT
Стандартная рабочая концентрация (мкг/мл)	Приблизительно 5 мкг/мл (в виде свободного основания) LMT

(Q = 75% при 45 мин. Для S1 6 из 6 таблеток растворялись не менее чем на 80% через 45 мин).
Результаты показаны в следующих таблицах.

LMTM (4×75 мг; партия № A04827).

Растворение (% растворенного):

Емкость	T=10 мин	T=15 мин	T=30 мин	T=45 мин
1	94	95	97	99
2	90	91	94	95
3	94	94	97	97
4	95	94	97	97
5	92	92	94	94
6	93	92	96	97
Среднее	93	93	96	97

ЛМТВ (3×100 мг; партия № А02581).

Растворение (% растворенного):

Емкость	T=10 мин	T=15 мин	T=30 мин	T=45 мин
1	91	95	96	96
2	96	100	99	99
3	95	98	98	99
4	93	95	96	96
5	96	98	99	100
6	98	102	102	102
Среднее	95	98	98	99

Таблетки, которые хранили в течение различных периодов времени, в нормальных (25°C/60% RH) или "стрессовых" условиях (40°C/75% RH), также испытывали, применяя тот же способ.

Результаты показаны в таблицах ниже.

ЛМТМ (4×75 мг; партия № А04827) - хранимые при 25°C/60% RH.

Растворение (% растворенного):

Продолжительность хранения	Емкость	T=10 мин	T=15 мин	T=30 мин	T=45 мин
1 месяц	1	97	97	97	99
	2	96	98	101	101
	3	98	99	102	102
	4	95	97	98	100
	5	97	98	101	101
	6	98	98	100	101
Среднее	97	98	100	101	
3 месяца	1	91	93	95	97
	2	92	95	96	96
	3	93	94	95	97
	4	92	93	96	96
	5	93	94	95	96
	6	90	91	94	95
Среднее	92	93	95	96	
6 месяцев	1	89	89	90	91
	2	91	90	93	94
	3	98	97	98	98
	4	97	97	99	99
	5	94	94	96	96
	6	88	90	93	93
Среднее	93	93	95	95	
9 месяцев	1	92	93	92	94
	2	90	94	95	97
	3	86	91	90	93
	4	85	91	96	94
	5	90	85	94	94
	6	92	96	94	96
Среднее	89	92	93	94	

ЛМТМ (4×75 мг; партия № А04827) - хранимые при 40°C/75% RH.

Растворение (% растворенного):

Продолжительность хранения	Емкость	T=10 мин	T=15 мин	T=30 мин	T=45 мин
1 месяц	1	94	95	97	98
	2	94	96	96	97
	3	94	96	94	96
	4	94	95	95	95
	5	100	102	103	101
	6	93	94	96	97
	Среднее	95	96	97	97
3 месяца	1	92	93	95	96
	2	93	94	95	97
	3	89	91	92	92
	4	89	89	89	91
	5	93	95	96	97
	6	93	95	98	97
	Среднее	91	93	94	95
6 месяцев	1	69	84	92	94
	2	93	94	97	91
	3	64	85	92	94
	4	74	89	92	94
	5	91	95	95	96
	6	73	90	93	94
	Среднее	77	89	94	94

ЛМТВ (3×100 мг; партия № А02581) - хранимые при 25°C/60% RH.

Растворение (% растворенного):

Продолжительность хранения	Емкость	T=10 мин	T=15 мин	T=30 мин	T=45 мин
3 недели	1	96	98	98	98
	2	94	97	97	98
	3	94	97	97	97
	4	98	100	101	101
	5	92	94	95	95
	6	92	95	97	97
	Среднее	94	97	98	98
3 месяца	1	89	92	92	92
	2	89	92	93	92
	3	93	96	96	96
	4	95	98	99	98
	5	95	96	96	96
	6	96	99	98	97
	Среднее	93	96	96	95
6 месяцев	1	96	97	96	97
	2	95	101	100	101
	3	95	97	96	97
	4	95	95	95	96
	5	96	98	99	99
	6	95	94	94	96
	Среднее	95	97	97	98
9 месяцев	1	87	91	93	91
	2	88	92	94	92
	3	90	93	91	92
	4	91	95	93	94
	5	91	93	93	92
	6	94	95	95	93
	Среднее	90	93	93	92
12 месяцев	1	92	97	98	97
	2	91	92	92	92
	3	95	96	95	96
	4	94	95	95	95
	5	89	89	89	89
	6	97	98	98	98
	Среднее	93	94	95	94

ЛМТВ (3×100 мг: партия № А02581) - хранимые при 40°C/75% RH.
 Растворение (% растворенного):

Продолжительность хранения	Емкость	T=10 мин	T=15 мин	T=30 мин	T=45 мин
3 недели	1	94	98	99	98
	2	96	100	100	101
	3	94	97	96	97
	4	94	98	98	98
	5	95	97	98	98
	6	95	97	98	97
	Среднее	95	98	98	98
3 месяца	1	92	93	94	93
	2	93	97	97	97
	3	90	92	92	92
	4	84	89	94	94
	5	84	97	97	97
	6	93	94	93	94
	Среднее	89	94	95	95
6 месяцев	1	8	72	96	96
	2	48	82	95	96
	3	91	93	94	94
	4	94	98	98	99
	5	13	71	93	93
	6	74	87	92	93
	Среднее	55	84	95	95

Приложение. Кристаллографические данные.
Кристаллографические данные для LMT.EDSA (фиг. 17а).

Таблица 1

Кристаллографические данные и уточнение структуры для LMT.EDSA

Идентификационный код	6408CM136		
Эмпирическая формула	C ₁₈ H ₂₇ N ₃ O ₇ S ₃		
Молекулярная масса по формуле соединения	493,62		
Температура	100(2) K		
Длина волны	0,71073 Å		
Кристаллическая система	Моноклинная		
Пространственная группа	C2/c		
Постоянные решетки	a=18,2832(3) Å	α=90°	
	b=11,8667(3) Å	β=114,1990(10)°	
	c=10,9539(2) Å	γ=90°	
Объем	2167,74(8) Å ³		
Z	4		
Плотность (рассчитанная)	1,519 мг/м ³		
Коэффициент поглощения	0,389 мм ⁻¹		
F(000)	1048		
Размеры кристалла	0,28×0,21×0,18 мм ³		
Тета-диапазон для сбора данных	2,11-27,51°		
Диапазоны индексов	-23<=h<=23, -15<=k<=15, -14<=l<=14		
Количество отражений	25214		
Независимые отражения	2487 [R(int)=0,0486]		
Полнота до тета=25,00°	99,9%		
Поправка на поглощение	Полуэмпирическая из эквивалентов		
Максимальное и минимальное пропускание	0,9333 и 0,8989		
Способ уточнения	Наименьшие квадраты с заполненной матрицей на F ²		
Данные/ограничения/параметры	2487/0/144		
Критерий соответствия на F ²	1,080		
Конечные R коэффициенты [>2сигма(I)]	R1=0,0315, wR2=0,0906		
R коэффициенты (все данные)	R1=0,0336, wR2=0,0925		
Наибольший дифф. пик и углубление	0,333 и -0,654 е.Å ⁻³		

Таблица 2

Атомные координаты ($\times 10^4$) и параметры эквивалентного изотопного замещения ($\text{Å}^2 \times 10^3$) для LMT.EDSA. U (эquiv.) определяют как одна треть следа ортогонализированного U^{ij} тензора

	x	y	z	U(эquiv.)
S(1)	10000	2270(1)	12500	19(1)
S(2)	3802(1)	204(1)	9934(1)	11(1)
N(1)	10000	-370(1)	12500	18(1)
N(2)	7750(1)	1619(1)	7782(1)	12(1)
O(1)	3943(1)	-435(1)	11137(1)	18(1)
O(2)	3830(1)	1425(1)	10131(1)	17(1)
O(3)	3063(1)	-144(1)	8793(1)	15(1)
C(1)	9411(1)	1332(1)	11218(1)	13(1)
C(2)	9493(1)	154(1)	11332(1)	14(1)
C(3)	9040(1)	-512(1)	10228(1)	16(1)
C(4)	8481(1)	-30(1)	9061(1)	16(1)
C(5)	8383(1)	1126(1)	8996(1)	13(1)
C(6)	8852(1)	1814(1)	10051(1)	13(1)
C(8)	7127(1)	2225(1)	8087(1)	16(1)
C(9)	8070(1)	2352(1)	7003(1)	17(1)
C(10)	4593(1)	-141(1)	9448(1)	13(1)
O(1S)	5000	2293(1)	2500	24(1)

Таблица 3

Длины связей [Å] и углы [°] для LMT.EDSA

S(1)-C(1)	1.7696(13)
S(1)-C(1)#1	1.7696(13)
S(2)-O(1)	1.4488(10)
S(2)-O(2)	1.4629(10)
S(2)-O(3)	1.4747(10)
S(2)-C(10)	1.7802(13)
N(1)-C(2)	1.3826(15)
N(1)-C(2)#1	1.3826(15)
N(1)-H(1)	0.8800
N(2)-C(5)	1.4785(16)
N(2)-C(9)	1.4959(17)
N(2)-C(8)	1.4970(17)
N(2)-H(2)	0.9300
C(1)-C(6)	1.3913(17)
C(1)-C(2)	1.4049(18)
C(2)-C(3)	1.3972(19)
C(3)-C(4)	1.3908(19)
C(3)-H(3)	0.9500
C(4)-C(5)	1.3804(19)
C(4)-H(4)	0.9500
C(5)-C(6)	1.3881(18)
C(6)-H(6)	0.9500
C(8)-H(8A)	0.9800
C(8)-H(8B)	0.9800
C(8)-H(8C)	0.9800
C(9)-H(9A)	0.9800
C(9)-H(9B)	0.9800
C(9)-H(9C)	0.9800
C(10)-C(10)#2	1.522(2)
C(10)-H(10A)	0.9900
C(10)-H(10B)	0.9900
O(1S)-H(1O1)	0.7486
O(1S)-H(2O1)	0.9717
C(1)-S(1)-C(1)#1	102.05(9)
O(1)-S(2)-O(2)	113.66(6)
O(1)-S(2)-O(3)	112.60(6)
O(2)-S(2)-O(3)	111.52(6)
O(1)-S(2)-C(10)	106.77(6)
O(2)-S(2)-C(10)	106.71(6)
O(3)-S(2)-C(10)	104.89(6)
C(2)-N(1)-C(2)#1	126.50(17)
C(2)-N(1)-H(1)	116.7

C(2)#1-N(1)-H(1)	116.7
C(5)-N(2)-C(9)	113.51(10)
C(5)-N(2)-C(8)	112.13(10)
C(9)-N(2)-C(8)	111.06(11)
C(5)-N(2)-H(2)	106.5
C(9)-N(2)-H(2)	106.5
C(8)-N(2)-H(2)	106.5
C(6)-C(1)-C(2)	120.17(12)
C(6)-C(1)-S(1)	116.69(10)
C(2)-C(1)-S(1)	123.14(10)
N(1)-C(2)-C(3)	118.76(13)
N(1)-C(2)-C(1)	122.44(13)
C(3)-C(2)-C(1)	118.79(12)
C(4)-C(3)-C(2)	120.95(13)
C(4)-C(3)-H(3)	119.5
C(2)-C(3)-H(3)	119.5
C(5)-C(4)-C(3)	119.15(13)
C(5)-C(4)-H(4)	120.4
C(3)-C(4)-H(4)	120.4
C(4)-C(5)-C(6)	121.24(12)
C(4)-C(5)-N(2)	118.50(12)
C(6)-C(5)-N(2)	120.25(12)
C(5)-C(6)-C(1)	119.54(12)
C(5)-C(6)-H(6)	120.2
C(1)-C(6)-H(6)	120.2
N(2)-C(8)-H(8A)	109.5
N(2)-C(8)-H(8B)	109.5
H(8A)-C(8)-H(8B)	109.5
N(2)-C(8)-H(8C)	109.5
H(8A)-C(8)-H(8C)	109.5
H(8B)-C(8)-H(8C)	109.5
N(2)-C(9)-H(9A)	109.5
N(2)-C(9)-H(9B)	109.5
H(9A)-C(9)-H(9B)	109.5
N(2)-C(9)-H(9C)	109.5
H(9A)-C(9)-H(9C)	109.5
H(9B)-C(9)-H(9C)	109.5
C(10)#2-C(10)-S(2)	111.21(12)
C(10)#2-C(10)-H(10A)	109.4
S(2)-C(10)-H(10A)	109.4
C(10)#2-C(10)-H(10B)	109.4
S(2)-C(10)-H(10B)	109.4
H(10A)-C(10)-H(10B)	108.0
H(101)-O(1S)-H(2O1)	100.8

Преобразования симметрии, применяемые для получения идентичных атомов:
 #1 $-x+2, y, -z+5/2$ #2 $-x+1, -y, -z+2$.

Таблица 4

Параметры анизотропного замещения ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) для LMT.EDSA. Экспонента коэффициента анизотропного замещения принимает форму $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
S(1)	20(1)	10(1)	14(1)	0	-6(1)	0
S(2)	10(1)	12(1)	9(1)	0(1)	2(1)	0(1)
N(1)	22(1)	9(1)	14(1)	0	-3(1)	0
N(2)	12(1)	13(1)	9(1)	0(1)	2(1)	-1(1)
O(1)	16(1)	22(1)	13(1)	5(1)	5(1)	0(1)
O(2)	17(1)	13(1)	17(1)	-2(1)	4(1)	0(1)
O(3)	11(1)	16(1)	13(1)	-1(1)	0(1)	-1(1)
C(1)	12(1)	13(1)	11(1)	-1(1)	2(1)	-2(1)
C(2)	12(1)	13(1)	13(1)	0(1)	2(1)	0(1)
C(3)	19(1)	11(1)	14(1)	-2(1)	3(1)	-1(1)
C(4)	16(1)	15(1)	12(1)	-2(1)	2(1)	-1(1)
C(5)	12(1)	15(1)	10(1)	1(1)	2(1)	0(1)
C(6)	13(1)	12(1)	12(1)	0(1)	4(1)	0(1)
C(8)	13(1)	18(1)	15(1)	1(1)	5(1)	1(1)
C(9)	18(1)	22(1)	12(1)	2(1)	6(1)	-2(1)
C(10)	11(1)	17(1)	10(1)	-2(1)	3(1)	-1(1)
O(1S)	25(1)	14(1)	18(1)	0	-7(1)	0

Координаты атомов водорода ($\times 10^4$) и параметры изотопного замещения ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) для LMT.EDSA

	x	y	z	U (экв)
H(1)	10000	-1111	12500	22
H(2)	7492	1019	7227	15
H(3)	9114	-1305	10275	19
H(4)	8171	-489	8319	19
H(6)	8791	2610	9978	15
H(8A)	6937	1734	8616	23
H(8B)	6675	2426	7248	23
H(8C)	7359	2911	8596	23
H(9A)	8321	3023	7531	26
H(9B)	7629	2582	6164	26
H(9C)	8469	1933	6802	26
H(10A)	4571	-955	9239	16
H(10B)	4521	284	8628	16
H(10I)	5146	2050	3190	29
H(20I)	4556	1790	2015	29

Кристаллографические данные для LMT.2EsOH (фиг. 17b).

Таблица 1

Кристаллографические данные и уточнение структуры для LMT.2EsOH

Идентификационный код	6408cm 173c_0m
Эмпирическая формула	$C_{20}H_{31}N_3O_6S_3$
Молекулярная масса по формуле соединения	505,66
Температура	100(2) K
Длина волны	0,71073 \AA
Кристаллическая система	Моноклинная
Пространственная группа	C2/c
Постоянные решетки	a=40,8384(12) \AA $\alpha=90^\circ$ b=25,2658(7) \AA $\beta=115,4540(10)^\circ$ c=20,3833(6) \AA $\gamma=90^\circ$
Объем	18990,2(9) \AA ³
Z	32
Плотность (рассчитанная)	1,415 мг/м ³
Коэффициент поглощения	0,354 мм ⁻¹
F(000)	8576
Размеры кристалла	0,32×0,24×0,18 мм ³
Диапазон тета для сбора данных	0,98-25,00°
Диапазоны индексов	-48<=h<=48, -29<=k<=30, -24<=l<=23
Количество отражений	108984
Независимые отражения	16707 [R(int)=0,0912]
Полнота до тета = 25,00°	99,9%
Поправка на поглощение	Полуэмпирическая из эквивалентов
Максимальное и минимальное пропускание	0,9391 и 0,8952
Способ уточнения	Наименьшие квадраты с заполненной матрицей на F ²
Данные/ограничения/параметры	16707/25/1205
Критерий соответствия на F ²	1,085
Конечные R коэффициенты [I>2сигма(I)]	R1=0,0628, wR2=0,1638
R коэффициенты (все данные)	R1=0,0986, wR2=0,1918
Наибольший дифф. пик и углубление	2,683 и -0,811 е.А ⁻³

Таблица 2

Атомные координаты ($\times 10^4$) и параметры эквивалентного изотопного замещения ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) для LMT.2EsOH. U (экв.) определяют как одна треть следа ортогонализированного U^{ij} тензора

	x	y	z	U (экв)
S(1A)	256(1)	3950(1)	1866(1)	69(1)
N(1A)	-401(1)	3176(1)	1220(2)	29(1)
N(2A)	980(1)	2230(1)	2700(2)	25(1)
N(3A)	-743(1)	5348(1)	744(2)	25(1)
C(1A)	-207(1)	4102(2)	1408(3)	33(1)
C(2A)	-297(1)	4633(2)	1295(3)	32(1)
C(3A)	-652(1)	4786(2)	916(2)	24(1)
C(4A)	-926(1)	4413(2)	664(2)	27(1)
C(5A)	-836(1)	3880(2)	784(3)	28(1)
C(6A)	-479(1)	3714(2)	1142(2)	25(1)
C(7A)	-60(1)	2948(2)	1584(2)	25(1)
C(8A)	-27(1)	2402(2)	1631(2)	24(1)
C(9A)	308(1)	2154(2)	1988(2)	25(1)
C(10A)	614(1)	2468(2)	2318(2)	24(1)
C(11A)	588(1)	3011(2)	2281(3)	29(1)
C(12A)	254(1)	3255(2)	1917(3)	32(1)
C(13A)	1017(1)	1896(2)	3334(3)	36(1)
C(14A)	1092(1)	1933(2)	2196(3)	41(1)
C(15A)	-662(2)	5526(2)	130(3)	50(2)
C(16A)	-570(1)	5712(2)	1375(3)	33(1)
S(1B)	2816(1)	1091(1)	1548(1)	26(1)
N(1B)	2213(1)	258(1)	1144(2)	21(1)
N(2B)	3639(1)	-517(1)	2667(2)	27(1)
N(3B)	1743(1)	2378(1)	956(2)	22(1)
C(1B)	2355(1)	1198(2)	1329(2)	19(1)
C(2B)	2237(1)	1719(2)	1291(2)	22(1)
C(3B)	1873(1)	1825(2)	1032(2)	21(1)
C(4B)	1620(1)	1417(2)	832(2)	22(1)
C(5B)	1738(1)	896(2)	890(2)	21(1)
C(6B)	2104(1)	778(2)	1128(2)	21(1)
C(7B)	2566(1)	73(2)	1537(2)	22(1)
C(8B)	2628(1)	-468(2)	1684(2)	23(1)
C(9B)	2974(1)	-666(2)	2055(2)	24(1)
C(10B)	3263(1)	-320(2)	2304(2)	24(1)
C(11B)	3213(1)	220(2)	2178(2)	23(1)
C(12B)	2866(1)	417(2)	1788(2)	22(1)
C(13B)	3693(2)	-973(2)	3183(3)	38(1)
C(14B)	3785(1)	-651(2)	2126(2)	29(1)
C(15B)	1835(1)	2684(2)	426(3)	34(1)
C(16B)	1872(1)	2660(2)	1668(3)	35(1)

025033

S(1C)	5390(1)	3672(1)	1826(1)	25(1)
N(1C)	4792(1)	2826(1)	1436(2)	25(1)
N(2C)	6224(1)	2099(1)	3029(2)	20(1)
N(3C)	4310(1)	4945(1)	1101(2)	26(1)
C(1C)	4925(1)	3774(2)	1581(2)	20(1)
C(2C)	4803(1)	4289(2)	1510(2)	21(1)
C(3C)	4436(1)	4388(2)	1235(2)	21(1)
C(4C)	4184(1)	3984(2)	1037(2)	25(1)
C(5C)	4307(1)	3464(2)	1126(2)	23(1)
C(6C)	4676(1)	3350(2)	1388(2)	21(1)
C(7C)	5145(1)	2651(2)	1833(2)	22(1)
C(8C)	5213(1)	2113(2)	1990(2)	22(1)
C(9C)	5559(1)	1925(2)	2384(2)	21(1)
C(10C)	5847(1)	2278(2)	2639(2)	20(1)
C(11C)	5788(1)	2813(2)	2493(2)	21(1)
C(12C)	5443(1)	3002(2)	2087(2)	20(1)
C(13C)	6374(1)	1945(2)	2499(2)	26(1)
C(14C)	6284(1)	1670(2)	3576(2)	24(1)
C(15C)	4375(2)	5182(2)	496(3)	47(1)
C(16C)	4468(2)	5280(2)	1771(3)	47(2)
S(1D)	7907(1)	1349(1)	2060(1)	32(1)
N(1D)	7269(1)	547(1)	1633(2)	29(1)
N(2D)	8670(1)	-331(2)	2894(2)	28(1)
N(3D)	6848(1)	2694(1)	1136(2)	27(1)
C(1D)	7440(1)	1484(2)	1723(2)	25(1)
C(2D)	7333(1)	2011(2)	1602(2)	27(1)
C(3D)	6969(1)	2136(2)	1304(2)	26(1)
C(4D)	6709(1)	1744(2)	1117(3)	32(1)
C(5D)	6818(1)	1220(2)	1238(3)	32(1)
C(6D)	7179(1)	1080(2)	1536(2)	24(1)
C(7D)	7614(1)	338(2)	1971(2)	22(1)
C(8D)	7660(1)	-209(2)	2063(2)	24(1)
C(9D)	8001(1)	-439(2)	2370(2)	25(1)
C(10D)	8302(1)	-111(2)	2608(2)	24(1)
C(11D)	8268(1)	437(2)	2537(2)	26(1)
C(12D)	7925(1)	662(2)	2212(2)	23(1)
C(13D)	8743(1)	-762(2)	3435(3)	43(1)
C(14D)	8764(1)	-504(2)	2294(3)	31(1)
C(15D)	6807(2)	2848(2)	397(3)	41(1)
C(16D)	7078(1)	3086(2)	1700(3)	36(1)
S(2)	525(1)	500(1)	1331(1)	35(1)
S(3)	827(1)	2850(1)	152(1)	25(1)
S(4)	1743(1)	4426(1)	389(1)	29(1)
S(5)	3048(1)	3051(1)	1414(1)	30(1)
S(6)	5663(1)	497(1)	1723(1)	33(1)

025033

S(7)	5874(1)	2562(1)	455(1)	34(1)
S(8)	8160(1)	2896(1)	1391(1)	23(1)
S(9)	8481(1)	615(1)	291(1)	26(1)
O(1)	619(4)	884(5)	1948(7)	56(2)
O(2)	392(10)	52(10)	1452(19)	70(6)
O(3)	886(4)	594(6)	1706(8)	55(2)
O(1')	342(2)	769(3)	1689(4)	61(2)
O(2')	419(6)	-77(6)	1226(11)	70(5)
O(3')	893(2)	480(4)	1357(5)	58(2)
O(4)	1009(1)	2335(1)	358(2)	35(1)
O(5)	1031(1)	3269(1)	635(2)	41(1)
O(6)	718(1)	2970(1)	-613(2)	27(1)
O(7)	1911(1)	3966(1)	826(2)	45(1)
O(8)	1422(1)	4299(1)	-282(2)	45(1)
O(9)	1667(1)	4851(1)	790(2)	30(1)
O(10)	3321(1)	2861(1)	1185(2)	41(1)
O(11)	2835(1)	2637(2)	1525(3)	68(1)
O(12)	3217(1)	3392(1)	2047(2)	46(1)
O(13)	5318(1)	542(2)	1772(2)	56(1)
O(14)	5728(1)	-26(1)	1506(2)	60(1)
O(15)	5964(1)	678(1)	2388(2)	42(1)
O(16)	5932(1)	2520(1)	-212(2)	32(1)
O(17)	5774(1)	2071(2)	681(2)	57(1)
O(18)	6182(1)	2836(1)	1038(2)	39(1)
O(19)	8126(1)	2360(1)	1113(2)	31(1)
O(20)	8540(1)	3032(1)	1876(2)	35(1)
O(21)	7918(1)	3019(1)	1720(2)	31(1)
O(22)	8264(1)	640(1)	-494(2)	26(1)
O(23)	8590(1)	62(1)	534(2)	31(1)
O(24)	8786(1)	983(1)	553(2)	33(1)
C(1S)	298(2)	782(2)	463(4)	62(2)
C(2S)	387(2)	1337(2)	396(3)	45(1)
C(3S)	2064(1)	4682(2)	95(3)	30(1)
C(4S)	1928(1)	5196(2)	-337(3)	39(1)
C(5S)	2748(1)	3452(2)	689(3)	37(1)
C(6S)	2934(1)	3925(2)	551(3)	32(1)
C(7S)	5504(1)	2984(2)	239(3)	39(1)
C(8S)	5570(2)	3516(2)	-63(4)	54(2)
C(9S)	5626(2)	921(2)	1016(3)	38(1)
C(10S)	5990(3)	881(4)	989(5)	100(3)
C(11S)	8047(1)	3340(2)	650(3)	28(1)
C(12S)	7648(1)	3320(2)	118(3)	38(1)
C(13S)	8200(1)	808(2)	708(3)	27(1)
C(14S)	7876(1)	454(2)	490(3)	34(1)
C(15S)	414(1)	2769(2)	254(3)	36(1)
C(16S)	186(2)	3261(2)	66(3)	49(2)

Длины связей [Å] и углы [°] для LMT.2EsOH

S(1A)-C(1A)	1.756(5)
S(1A)-C(12A)	1.759(5)
N(1A)-C(7A)	1.390(6)
N(1A)-C(6A)	1.389(6)
N(1A)-H(1AA)	0.8800
N(2A)-C(10A)	1.485(5)
N(2A)-C(14A)	1.492(6)
N(2A)-C(13A)	1.495(6)
N(2A)-H(2AA)	0.9300
N(3A)-C(3A)	1.474(5)
N(3A)-C(16A)	1.489(6)
N(3A)-C(15A)	1.494(6)
N(3A)-H(3A)	0.9300
C(1A)-C(2A)	1.384(6)
C(1A)-C(6A)	1.404(6)
C(2A)-C(3A)	1.371(6)
C(2A)-H(2A)	0.9500
C(3A)-C(4A)	1.384(6)
C(4A)-C(5A)	1.389(6)
C(4A)-H(4A)	0.9500
C(5A)-C(6A)	1.384(6)
C(5A)-H(5A)	0.9500
C(7A)-C(8A)	1.387(6)
C(7A)-C(12A)	1.399(6)
C(8A)-C(9A)	1.391(6)
C(8A)-H(8A)	0.9500
C(9A)-C(10A)	1.384(6)
C(9A)-H(9A)	0.9500
C(10A)-C(11A)	1.376(6)
C(11A)-C(12A)	1.388(6)
C(11A)-H(11A)	0.9500
C(13A)-H(13A)	0.9800
C(13A)-H(13B)	0.9800
C(13A)-H(13C)	0.9800
C(14A)-H(14A)	0.9800
C(14A)-H(14B)	0.9800
C(14A)-H(14C)	0.9800
C(15A)-H(15A)	0.9800
C(15A)-H(15B)	0.9800
C(15A)-H(15C)	0.9800
C(16A)-H(16A)	0.9800
C(16A)-H(16B)	0.9800
C(16A)-H(16C)	0.9800

S(1B)-C(12B)	1.761(4)
S(1B)-C(1B)	1.762(4)
N(1B)-C(6B)	1.385(5)
N(1B)-C(7B)	1.392(6)
N(1B)-H(1B)	0.8800
N(2B)-C(10B)	1.474(6)
N(2B)-C(14B)	1.502(6)
N(2B)-C(13B)	1.512(6)
N(2B)-H(2BB)	0.9300
N(3B)-C(3B)	1.479(5)
N(3B)-C(16B)	1.496(6)
N(3B)-C(15B)	1.501(6)
N(3B)-H(3B)	0.9300
C(1B)-C(2B)	1.392(6)
C(1B)-C(6B)	1.410(6)
C(2B)-C(3B)	1.372(6)
C(2B)-H(2B)	0.9500
C(3B)-C(4B)	1.391(6)
C(4B)-C(5B)	1.391(6)
C(4B)-H(4B)	0.9500
C(5B)-C(6B)	1.389(6)
C(5B)-H(5B)	0.9500
C(7B)-C(8B)	1.399(6)
C(7B)-C(12B)	1.406(6)
C(8B)-C(9B)	1.377(6)
C(8B)-H(8B)	0.9500
C(9B)-C(10B)	1.381(6)
C(9B)-H(9B)	0.9500
C(10B)-C(11B)	1.384(6)
C(11B)-C(12B)	1.388(6)
C(11B)-H(11B)	0.9500
C(13B)-H(13D)	0.9800
C(13B)-H(13E)	0.9800
C(13B)-H(13F)	0.9800
C(14B)-H(14D)	0.9800
C(14B)-H(14E)	0.9800
C(14B)-H(14F)	0.9800
C(15B)-H(15D)	0.9800
C(15B)-H(15E)	0.9800
C(15B)-H(15F)	0.9800
C(16B)-H(16D)	0.9800
C(16B)-H(16E)	0.9800
C(16B)-H(16F)	0.9800
S(1C)-C(12C)	1.760(4)
S(1C)-C(1C)	1.765(4)

N(1C)-C(7C)	1.387(5)
N(1C)-C(6C)	1.395(5)
N(1C)-H(1C)	0.8800
N(2C)-C(10C)	1.469(5)
N(2C)-C(14C)	1.498(5)
N(2C)-C(13C)	1.503(5)
N(2C)-H(2CC)	0.9300
N(3C)-C(3C)	1.482(5)
N(3C)-C(15C)	1.494(6)
N(3C)-C(16C)	1.497(6)
N(3C)-H(3C)	0.9300
C(1C)-C(2C)	1.377(6)
C(1C)-C(6C)	1.411(6)
C(2C)-C(3C)	1.380(6)
C(2C)-H(2C)	0.9500
C(3C)-C(4C)	1.381(6)
C(4C)-C(5C)	1.390(6)
C(4C)-H(4C)	0.9500
C(5C)-C(6C)	1.397(6)
C(5C)-H(5C)	0.9500
C(7C)-C(8C)	1.397(6)
C(7C)-C(12C)	1.413(6)
C(8C)-C(9C)	1.378(6)
C(8C)-H(8C)	0.9500
C(9C)-C(10C)	1.386(6)
C(9C)-H(9C)	0.9500
C(10C)-C(11C)	1.384(6)
C(11C)-C(12C)	1.377(6)
C(11C)-H(11C)	0.9500
C(13C)-H(13G)	0.9800
C(13C)-H(13H)	0.9800
C(13C)-H(13I)	0.9800
C(14C)-H(14G)	0.9800
C(14C)-H(14H)	0.9800
C(14C)-H(14I)	0.9800
C(15C)-H(15G)	0.9800
C(15C)-H(15H)	0.9800
C(15C)-H(15I)	0.9800
C(16C)-H(16G)	0.9800
C(16C)-H(16H)	0.9800
C(16C)-H(16I)	0.9800
S(1D)-C(12D)	1.760(4)
S(1D)-C(1D)	1.761(5)
N(1D)-C(7D)	1.381(6)
N(1D)-C(6D)	1.389(6)

N(1D)-H(1D)	0.8800
N(2D)-C(10D)	1.471(6)
N(2D)-C(13D)	1.486(6)
N(2D)-C(14D)	1.495(6)
N(2D)-H(2D)	0.9300
N(3D)-C(3D)	1.483(6)
N(3D)-C(15D)	1.495(6)
N(3D)-C(16D)	1.504(6)
N(3D)-H(3D)	0.9300
C(1D)-C(2D)	1.389(6)
C(1D)-C(6D)	1.405(6)
C(2D)-C(3D)	1.379(6)
C(2D)-H(2DD)	0.9500
C(3D)-C(4D)	1.381(6)
C(4D)-C(5D)	1.385(7)
C(4D)-H(4D)	0.9500
C(5D)-C(6D)	1.377(6)
C(5D)-H(5D)	0.9500
C(7D)-C(8D)	1.394(6)
C(7D)-C(12D)	1.409(6)
C(8D)-C(9D)	1.385(6)
C(8D)-H(8D)	0.9500
C(9D)-C(10D)	1.384(6)
C(9D)-H(9D)	0.9500
C(10D)-C(11D)	1.391(6)
C(11D)-C(12D)	1.388(6)
C(11D)-H(11D)	0.9500
C(13D)-H(13J)	0.9800
C(13D)-H(13K)	0.9800
C(13D)-H(13L)	0.9800
C(14D)-H(14J)	0.9800
C(14D)-H(14K)	0.9800
C(14D)-H(14L)	0.9800
C(15D)-H(15J)	0.9800
C(15D)-H(15K)	0.9800
C(15D)-H(15L)	0.9800
C(16D)-H(16J)	0.9800
C(16D)-H(16K)	0.9800
C(16D)-H(16L)	0.9800
S(2)-O(2)	1.32(3)
S(2)-O(3)	1.359(16)
S(2)-O(1')	1.423(7)
S(2)-O(3')	1.481(8)
S(2)-O(2')	1.510(16)
S(2)-O(1)	1.503(13)

S(2)-C(1S)	1.756(6)
S(3)-O(5)	1.442(3)
S(3)-O(6)	1.459(3)
S(3)-O(4)	1.469(3)
S(3)-C(15S)	1.795(5)
S(4)-O(7)	1.446(4)
S(4)-O(9)	1.461(3)
S(4)-O(8)	1.466(3)
S(4)-C(3S)	1.779(5)
S(5)-O(11)	1.438(4)
S(5)-O(12)	1.456(4)
S(5)-O(10)	1.463(3)
S(5)-C(5S)	1.775(5)
S(6)-O(14)	1.453(4)
S(6)-O(15)	1.456(4)
S(6)-O(13)	1.458(4)
S(6)-C(9S)	1.749(5)
S(7)-O(17)	1.442(4)
S(7)-O(18)	1.479(4)
S(7)-O(16)	1.482(3)
S(7)-C(7S)	1.744(5)
S(8)-O(21)	1.447(3)
S(8)-O(19)	1.452(3)
S(8)-O(20)	1.479(3)
S(8)-C(11S)	1.776(4)
S(9)-O(24)	1.458(3)
S(9)-O(22)	1.458(3)
S(9)-O(23)	1.486(3)
S(9)-C(13S)	1.765(5)
O(1)-O(3)	1.56(2)
C(1S)-C(2S)	1.470(8)
C(1S)-H(1S1)	0.9900
C(1S)-H(1S2)	0.9900
C(2S)-H(2S1)	0.9800
C(2S)-H(2S2)	0.9800
C(2S)-H(2S3)	0.9800
C(3S)-C(4S)	1.534(7)
C(3S)-H(3S1)	0.9900
C(3S)-H(3S2)	0.9900
C(4S)-H(4S1)	0.9800
C(4S)-H(4S2)	0.9800
C(4S)-H(4S3)	0.9800
C(5S)-C(6S)	1.506(7)
C(5S)-H(5S1)	0.9900
C(5S)-H(5S2)	0.9900

C(6S)-H(6S1)	0.9800
C(6S)-H(6S2)	0.9800
C(6S)-H(6S3)	0.9800
C(7S)-C(8S)	1.550(7)
C(7S)-H(7S1)	0.9900
C(7S)-H(7S2)	0.9900
C(8S)-H(8S1)	0.9800
C(8S)-H(8S2)	0.9800
C(8S)-H(8S3)	0.9800
C(9S)-C(10S)	1.511(10)
C(9S)-H(9S1)	0.9900
C(9S)-H(9S2)	0.9900
C(10S)-H(10A)	0.9800
C(10S)-H(10B)	0.9800
C(10S)-H(10C)	0.9800
C(11S)-C(12S)	1.522(7)
C(11S)-H(11E)	0.9900
C(11S)-H(11F)	0.9900
C(12S)-H(12A)	0.9800
C(12S)-H(12B)	0.9800
C(12S)-H(12C)	0.9800
C(13S)-C(14S)	1.498(6)
C(13S)-H(13M)	0.9900
C(13S)-H(13N)	0.9900
C(14S)-H(14M)	0.9800
C(14S)-H(14N)	0.9800
C(14S)-H(14O)	0.9800
C(15S)-C(16S)	1.500(7)
C(15S)-H(15M)	0.9900
C(15S)-H(15N)	0.9900
C(16S)-H(16M)	0.9800
C(16S)-H(16N)	0.9800
C(16S)-H(16O)	0.9800
C(1A)-S(1A)-C(12A)	102.6(2)
C(7A)-N(1A)-C(6A)	126.5(4)
C(7A)-N(1A)-H(1AA)	116.8
C(6A)-N(1A)-H(1AA)	116.8
C(10A)-N(2A)-C(14A)	112.3(4)
C(10A)-N(2A)-C(13A)	112.8(4)
C(14A)-N(2A)-C(13A)	111.3(4)
C(10A)-N(2A)-H(2AA)	106.7
C(14A)-N(2A)-H(2AA)	106.7
C(13A)-N(2A)-H(2AA)	106.7
C(3A)-N(3A)-C(16A)	114.4(3)

C(3A)-N(3A)-C(15A)	111.3(4)
C(16A)-N(3A)-C(15A)	110.1(4)
C(3A)-N(3A)-H(3A)	106.8
C(16A)-N(3A)-H(3A)	106.8
C(15A)-N(3A)-H(3A)	106.8
C(2A)-C(1A)-C(6A)	120.3(4)
C(2A)-C(1A)-S(1A)	116.7(3)
C(6A)-C(1A)-S(1A)	123.0(3)
C(3A)-C(2A)-C(1A)	120.4(4)
C(3A)-C(2A)-H(2A)	119.8
C(1A)-C(2A)-H(2A)	119.8
C(2A)-C(3A)-C(4A)	120.6(4)
C(2A)-C(3A)-N(3A)	120.2(4)
C(4A)-C(3A)-N(3A)	119.1(4)
C(3A)-C(4A)-C(5A)	118.8(4)
C(3A)-C(4A)-H(4A)	120.6
C(5A)-C(4A)-H(4A)	120.6
C(6A)-C(5A)-C(4A)	121.8(4)
C(6A)-C(5A)-H(5A)	119.1
C(4A)-C(5A)-H(5A)	119.1
C(5A)-C(6A)-N(1A)	119.7(4)
C(5A)-C(6A)-C(1A)	118.0(4)
N(1A)-C(6A)-C(1A)	122.3(4)
C(8A)-C(7A)-N(1A)	119.7(4)
C(8A)-C(7A)-C(12A)	118.4(4)
N(1A)-C(7A)-C(12A)	121.9(4)
C(7A)-C(8A)-C(9A)	121.9(4)
C(7A)-C(8A)-H(8A)	119.0
C(9A)-C(8A)-H(8A)	119.0
C(10A)-C(9A)-C(8A)	118.4(4)
C(10A)-C(9A)-H(9A)	120.8
C(8A)-C(9A)-H(9A)	120.8
C(11A)-C(10A)-C(9A)	120.9(4)
C(11A)-C(10A)-N(2A)	117.9(4)
C(9A)-C(10A)-N(2A)	121.2(4)
C(10A)-C(11A)-C(12A)	120.4(4)
C(10A)-C(11A)-H(11A)	119.8
C(12A)-C(11A)-H(11A)	119.8
C(11A)-C(12A)-C(7A)	119.9(4)
C(11A)-C(12A)-S(1A)	116.5(3)
C(7A)-C(12A)-S(1A)	123.5(3)
N(2A)-C(13A)-H(13A)	109.5
N(2A)-C(13A)-H(13B)	109.5
H(13A)-C(13A)-H(13B)	109.5
N(2A)-C(13A)-H(13C)	109.5

H(13A)-C(13A)-H(13C)	109.5
H(13B)-C(13A)-H(13C)	109.5
N(2A)-C(14A)-H(14A)	109.5
N(2A)-C(14A)-H(14B)	109.5
H(14A)-C(14A)-H(14B)	109.5
N(2A)-C(14A)-H(14C)	109.5
H(14A)-C(14A)-H(14C)	109.5
H(14B)-C(14A)-H(14C)	109.5
N(3A)-C(15A)-H(15A)	109.5
N(3A)-C(15A)-H(15B)	109.5
H(15A)-C(15A)-H(15B)	109.5
N(3A)-C(15A)-H(15C)	109.5
H(15A)-C(15A)-H(15C)	109.5
H(15B)-C(15A)-H(15C)	109.5
N(3A)-C(16A)-H(16A)	109.5
N(3A)-C(16A)-H(16B)	109.5
H(16A)-C(16A)-H(16B)	109.5
N(3A)-C(16A)-H(16C)	109.5
H(16A)-C(16A)-H(16C)	109.5
H(16B)-C(16A)-H(16C)	109.5
C(12B)-S(1B)-C(1B)	101.6(2)
C(6B)-N(1B)-C(7B)	125.1(4)
C(6B)-N(1B)-H(1B)	117.4
C(7B)-N(1B)-H(1B)	117.4
C(10B)-N(2B)-C(14B)	111.3(3)
C(10B)-N(2B)-C(13B)	114.6(4)
C(14B)-N(2B)-C(13B)	110.7(4)
C(10B)-N(2B)-H(2BB)	106.5
C(14B)-N(2B)-H(2BB)	106.5
C(13B)-N(2B)-H(2BB)	106.5
C(3B)-N(3B)-C(16B)	113.0(3)
C(3B)-N(3B)-C(15B)	111.8(3)
C(16B)-N(3B)-C(15B)	111.1(4)
C(3B)-N(3B)-H(3B)	106.9
C(16B)-N(3B)-H(3B)	106.9
C(15B)-N(3B)-H(3B)	106.9
C(2B)-C(1B)-C(6B)	120.4(4)
C(2B)-C(1B)-S(1B)	117.8(3)
C(6B)-C(1B)-S(1B)	121.5(3)
C(3B)-C(2B)-C(1B)	119.7(4)
C(3B)-C(2B)-H(2B)	120.2
C(1B)-C(2B)-H(2B)	120.2
C(2B)-C(3B)-C(4B)	121.1(4)
C(2B)-C(3B)-N(3B)	120.3(4)
C(4B)-C(3B)-N(3B)	118.7(4)

C(5B)-C(4B)-C(3B)	119.2(4)
C(5B)-C(4B)-H(4B)	120.4
C(3B)-C(4B)-H(4B)	120.4
C(4B)-C(5B)-C(6B)	121.1(4)
C(4B)-C(5B)-H(5B)	119.5
C(6B)-C(5B)-H(5B)	119.5
N(1B)-C(6B)-C(5B)	120.1(4)
N(1B)-C(6B)-C(1B)	121.4(4)
C(5B)-C(6B)-C(1B)	118.5(4)
N(1B)-C(7B)-C(8B)	119.9(4)
N(1B)-C(7B)-C(12B)	121.8(4)
C(8B)-C(7B)-C(12B)	118.3(4)
C(9B)-C(8B)-C(7B)	121.6(4)
C(9B)-C(8B)-H(8B)	119.2
C(7B)-C(8B)-H(8B)	119.2
C(8B)-C(9B)-C(10B)	119.0(4)
C(8B)-C(9B)-H(9B)	120.5
C(10B)-C(9B)-H(9B)	120.5
C(9B)-C(10B)-C(11B)	121.4(4)
C(9B)-C(10B)-N(2B)	120.8(4)
C(11B)-C(10B)-N(2B)	117.6(4)
C(10B)-C(11B)-C(12B)	119.5(4)
C(10B)-C(11B)-H(11B)	120.3
C(12B)-C(11B)-H(11B)	120.3
C(11B)-C(12B)-C(7B)	120.3(4)
C(11B)-C(12B)-S(1B)	118.2(3)
C(7B)-C(12B)-S(1B)	121.2(3)
N(2B)-C(13B)-H(13D)	109.5
N(2B)-C(13B)-H(13E)	109.5
H(13D)-C(13B)-H(13E)	109.5
N(2B)-C(13B)-H(13F)	109.5
H(13D)-C(13B)-H(13F)	109.5
H(13E)-C(13B)-H(13F)	109.5
N(2B)-C(14B)-H(14D)	109.5
N(2B)-C(14B)-H(14E)	109.5
H(14D)-C(14B)-H(14E)	109.5
N(2B)-C(14B)-H(14F)	109.5
H(14D)-C(14B)-H(14F)	109.5
H(14E)-C(14B)-H(14F)	109.5
N(3B)-C(15B)-H(15D)	109.5
N(3B)-C(15B)-H(15E)	109.5
H(15D)-C(15B)-H(15E)	109.5
N(3B)-C(15B)-H(15F)	109.5
H(15D)-C(15B)-H(15F)	109.5
H(15E)-C(15B)-H(15F)	109.5

N(3B)-C(16B)-H(16D)	109.5
N(3B)-C(16B)-H(16E)	109.5
H(16D)-C(16B)-H(16E)	109.5
N(3B)-C(16B)-H(16F)	109.5
H(16D)-C(16B)-H(16F)	109.5
H(16E)-C(16B)-H(16F)	109.5
C(12C)-S(1C)-C(1C)	101.7(2)
C(7C)-N(1C)-C(6C)	125.4(4)
C(7C)-N(1C)-H(1C)	117.3
C(6C)-N(1C)-H(1C)	117.3
C(10C)-N(2C)-C(14C)	114.9(3)
C(10C)-N(2C)-C(13C)	110.2(3)
C(14C)-N(2C)-C(13C)	111.2(3)
C(10C)-N(2C)-H(2CC)	106.7
C(14C)-N(2C)-H(2CC)	106.7
C(13C)-N(2C)-H(2CC)	106.7
C(3C)-N(3C)-C(15C)	111.2(4)
C(3C)-N(3C)-C(16C)	112.9(4)
C(15C)-N(3C)-C(16C)	111.5(4)
C(3C)-N(3C)-H(3C)	106.9
C(15C)-N(3C)-H(3C)	106.9
C(16C)-N(3C)-H(3C)	106.9
C(2C)-C(1C)-C(6C)	120.3(4)
C(2C)-C(1C)-S(1C)	117.7(3)
C(6C)-C(1C)-S(1C)	121.8(3)
C(1C)-C(2C)-C(3C)	119.7(4)
C(1C)-C(2C)-H(2C)	120.2
C(3C)-C(2C)-H(2C)	120.2
C(2C)-C(3C)-C(4C)	121.8(4)
C(2C)-C(3C)-N(3C)	118.6(4)
C(4C)-C(3C)-N(3C)	119.5(4)
C(3C)-C(4C)-C(5C)	118.7(4)
C(3C)-C(4C)-H(4C)	120.7
C(5C)-C(4C)-H(4C)	120.7
C(4C)-C(5C)-C(6C)	120.9(4)
C(4C)-C(5C)-H(5C)	119.5
C(6C)-C(5C)-H(5C)	119.5
N(1C)-C(6C)-C(5C)	119.9(4)
N(1C)-C(6C)-C(1C)	121.3(4)
C(5C)-C(6C)-C(1C)	118.7(4)
N(1C)-C(7C)-C(8C)	119.9(4)
N(1C)-C(7C)-C(12C)	122.0(4)
C(8C)-C(7C)-C(12C)	118.1(4)
C(9C)-C(8C)-C(7C)	121.5(4)
C(9C)-C(8C)-H(8C)	119.2

C(7C)-C(8C)-H(8C)	119.2
C(8C)-C(9C)-C(10C)	119.3(4)
C(8C)-C(9C)-H(9C)	120.3
C(10C)-C(9C)-H(9C)	120.3
C(11C)-C(10C)-C(9C)	120.5(4)
C(11C)-C(10C)-N(2C)	117.5(4)
C(9C)-C(10C)-N(2C)	121.9(4)
C(12C)-C(11C)-C(10C)	120.4(4)
C(12C)-C(11C)-H(11C)	119.8
C(10C)-C(11C)-H(11C)	119.8
C(11C)-C(12C)-C(7C)	120.1(4)
C(11C)-C(12C)-S(1C)	118.4(3)
C(7C)-C(12C)-S(1C)	121.3(3)
N(2C)-C(13C)-H(13G)	109.5
N(2C)-C(13C)-H(13H)	109.5
H(13G)-C(13C)-H(13H)	109.5
N(2C)-C(13C)-H(13I)	109.5
H(13G)-C(13C)-H(13I)	109.5
H(13H)-C(13C)-H(13I)	109.5
N(2C)-C(14C)-H(14G)	109.5
N(2C)-C(14C)-H(14H)	109.5
H(14G)-C(14C)-H(14H)	109.5
N(2C)-C(14C)-H(14I)	109.5
H(14G)-C(14C)-H(14I)	109.5
H(14H)-C(14C)-H(14I)	109.5
N(3C)-C(15C)-H(15G)	109.5
N(3C)-C(15C)-H(15H)	109.5
H(15G)-C(15C)-H(15H)	109.5
N(3C)-C(15C)-H(15I)	109.5
H(15G)-C(15C)-H(15I)	109.5
H(15H)-C(15C)-H(15I)	109.5
N(3C)-C(16C)-H(16G)	109.5
N(3C)-C(16C)-H(16H)	109.5
H(16G)-C(16C)-H(16H)	109.5
N(3C)-C(16C)-H(16I)	109.5
H(16G)-C(16C)-H(16I)	109.5
H(16H)-C(16C)-H(16I)	109.5
C(12D)-S(1D)-C(1D)	102.4(2)
C(7D)-N(1D)-C(6D)	126.5(4)
C(7D)-N(1D)-H(1D)	116.7
C(6D)-N(1D)-H(1D)	116.7
C(10D)-N(2D)-C(13D)	114.5(4)
C(10D)-N(2D)-C(14D)	111.3(3)
C(13D)-N(2D)-C(14D)	110.7(4)
C(10D)-N(2D)-H(2D)	106.6

C(13D)-N(2D)-H(2D)	106.6
C(14D)-N(2D)-H(2D)	106.6
C(3D)-N(3D)-C(15D)	111.2(4)
C(3D)-N(3D)-C(16D)	114.3(4)
C(15D)-N(3D)-C(16D)	111.2(4)
C(3D)-N(3D)-H(3D)	106.5
C(15D)-N(3D)-H(3D)	106.5
C(16D)-N(3D)-H(3D)	106.5
C(2D)-C(1D)-C(6D)	120.2(4)
C(2D)-C(1D)-S(1D)	117.4(3)
C(6D)-C(1D)-S(1D)	122.4(3)
C(3D)-C(2D)-C(1D)	119.7(4)
C(3D)-C(2D)-H(2DD)	120.1
C(1D)-C(2D)-H(2DD)	120.1
C(2D)-C(3D)-C(4D)	120.7(4)
C(2D)-C(3D)-N(3D)	120.7(4)
C(4D)-C(3D)-N(3D)	118.4(4)
C(3D)-C(4D)-C(5D)	119.2(5)
C(3D)-C(4D)-H(4D)	120.4
C(5D)-C(4D)-H(4D)	120.4
C(6D)-C(5D)-C(4D)	121.5(4)
C(6D)-C(5D)-H(5D)	119.2
C(4D)-C(5D)-H(5D)	119.2
C(5D)-C(6D)-N(1D)	118.7(4)
C(5D)-C(6D)-C(1D)	118.6(4)
N(1D)-C(6D)-C(1D)	122.7(4)
N(1D)-C(7D)-C(8D)	119.7(4)
N(1D)-C(7D)-C(12D)	121.5(4)
C(8D)-C(7D)-C(12D)	118.7(4)
C(9D)-C(8D)-C(7D)	121.8(4)
C(9D)-C(8D)-H(8D)	119.1
C(7D)-C(8D)-H(8D)	119.1
C(10D)-C(9D)-C(8D)	118.3(4)
C(10D)-C(9D)-H(9D)	120.9
C(8D)-C(9D)-H(9D)	120.9
C(9D)-C(10D)-C(11D)	121.7(4)
C(9D)-C(10D)-N(2D)	121.0(4)
C(11D)-C(10D)-N(2D)	117.1(4)
C(12D)-C(11D)-C(10D)	119.5(4)
C(12D)-C(11D)-H(11D)	120.3
C(10D)-C(11D)-H(11D)	120.3
C(11D)-C(12D)-C(7D)	120.0(4)
C(11D)-C(12D)-S(1D)	116.4(3)
C(7D)-C(12D)-S(1D)	123.4(3)
N(2D)-C(13D)-H(13J)	109.5

N(2D)-C(13D)-H(13K)	109.5
H(13J)-C(13D)-H(13K)	109.5
N(2D)-C(13D)-H(13L)	109.5
H(13J)-C(13D)-H(13L)	109.5
H(13K)-C(13D)-H(13L)	109.5
N(2D)-C(14D)-H(14J)	109.5
N(2D)-C(14D)-H(14K)	109.5
H(14J)-C(14D)-H(14K)	109.5
N(2D)-C(14D)-H(14L)	109.5
H(14J)-C(14D)-H(14L)	109.5
H(14K)-C(14D)-H(14L)	109.5
N(3D)-C(15D)-H(15J)	109.5
N(3D)-C(15D)-H(15K)	109.5
H(15J)-C(15D)-H(15K)	109.5
N(3D)-C(15D)-H(15L)	109.5
H(15J)-C(15D)-H(15L)	109.5
H(15K)-C(15D)-H(15L)	109.5
N(3D)-C(16D)-H(16J)	109.5
N(3D)-C(16D)-H(16K)	109.5
H(16J)-C(16D)-H(16K)	109.5
N(3D)-C(16D)-H(16L)	109.5
H(16J)-C(16D)-H(16L)	109.5
H(16K)-C(16D)-H(16L)	109.5
O(2)-S(2)-O(3)	118.5(17)
O(2)-S(2)-O(1')	87.9(12)
O(3)-S(2)-O(1')	108.0(8)
O(2)-S(2)-O(3')	117.2(14)
O(3)-S(2)-O(3')	31.5(6)
O(1')-S(2)-O(3')	138.3(6)
O(2)-S(2)-O(2')	23.8(18)
O(3)-S(2)-O(2')	115.1(10)
O(1')-S(2)-O(2')	110.6(8)
O(3')-S(2)-O(2')	101.4(8)
O(2)-S(2)-O(1)	111.9(14)
O(3)-S(2)-O(1)	65.7(9)
O(1')-S(2)-O(1)	42.6(5)
O(3')-S(2)-O(1)	95.8(7)
O(2')-S(2)-O(1)	134.1(9)
O(2)-S(2)-C(1S)	117.0(16)
O(3)-S(2)-C(1S)	118.1(6)
O(1')-S(2)-C(1S)	99.1(4)
O(3')-S(2)-C(1S)	97.8(4)
O(2')-S(2)-C(1S)	104.8(8)
O(1)-S(2)-C(1S)	114.6(5)
O(5)-S(3)-O(6)	113.5(2)

O(5)-S(3)-O(4)	112.5(2)
O(6)-S(3)-O(4)	111.9(2)
O(5)-S(3)-C(15S)	107.5(2)
O(6)-S(3)-C(15S)	106.2(2)
O(4)-S(3)-C(15S)	104.6(2)
O(7)-S(4)-O(9)	113.8(2)
O(7)-S(4)-O(8)	113.4(2)
O(9)-S(4)-O(8)	111.3(2)
O(7)-S(4)-C(3S)	106.0(2)
O(9)-S(4)-C(3S)	106.6(2)
O(8)-S(4)-C(3S)	104.9(2)
O(11)-S(5)-O(12)	112.3(3)
O(11)-S(5)-O(10)	114.1(3)
O(12)-S(5)-O(10)	109.9(2)
O(11)-S(5)-C(5S)	107.4(2)
O(12)-S(5)-C(5S)	107.2(2)
O(10)-S(5)-C(5S)	105.5(2)
O(14)-S(6)-O(15)	112.2(2)
O(14)-S(6)-O(13)	113.4(3)
O(15)-S(6)-O(13)	111.4(2)
O(14)-S(6)-C(9S)	105.6(2)
O(15)-S(6)-C(9S)	108.3(2)
O(13)-S(6)-C(9S)	105.4(3)
O(17)-S(7)-O(18)	114.0(2)
O(17)-S(7)-O(16)	114.2(2)
O(18)-S(7)-O(16)	110.7(2)
O(17)-S(7)-C(7S)	105.8(3)
O(18)-S(7)-C(7S)	105.3(2)
O(16)-S(7)-C(7S)	106.0(2)
O(21)-S(8)-O(19)	114.3(2)
O(21)-S(8)-O(20)	111.7(2)
O(19)-S(8)-O(20)	111.95(19)
O(21)-S(8)-C(11S)	106.3(2)
O(19)-S(8)-C(11S)	108.1(2)
O(20)-S(8)-C(11S)	103.7(2)
O(24)-S(9)-O(22)	113.23(19)
O(24)-S(9)-O(23)	112.94(19)
O(22)-S(9)-O(23)	111.07(18)
O(24)-S(9)-C(13S)	106.1(2)
O(22)-S(9)-C(13S)	107.7(2)
O(23)-S(9)-C(13S)	105.3(2)
S(2)-O(1)-O(3)	52.7(7)
S(2)-O(3)-O(1)	61.8(8)
C(2S)-C(1S)-S(2)	115.9(5)
C(2S)-C(1S)-H(1S1)	108.3

S(2)-C(1S)-H(1S1)	108.3
C(2S)-C(1S)-H(1S2)	108.3
S(2)-C(1S)-H(1S2)	108.3
H(1S1)-C(1S)-H(1S2)	107.4
C(1S)-C(2S)-H(2S1)	109.5
C(1S)-C(2S)-H(2S2)	109.5
H(2S1)-C(2S)-H(2S2)	109.5
C(1S)-C(2S)-H(2S3)	109.5
H(2S1)-C(2S)-H(2S3)	109.5
H(2S2)-C(2S)-H(2S3)	109.5
C(4S)-C(3S)-S(4)	111.3(3)
C(4S)-C(3S)-H(3S1)	109.4
S(4)-C(3S)-H(3S1)	109.4
C(4S)-C(3S)-H(3S2)	109.4
S(4)-C(3S)-H(3S2)	109.4
H(3S1)-C(3S)-H(3S2)	108.0
C(3S)-C(4S)-H(4S1)	109.5
C(3S)-C(4S)-H(4S2)	109.5
H(4S1)-C(4S)-H(4S2)	109.5
C(3S)-C(4S)-H(4S3)	109.5
H(4S1)-C(4S)-H(4S3)	109.5
H(4S2)-C(4S)-H(4S3)	109.5
C(6S)-C(5S)-S(5)	112.7(3)
C(6S)-C(5S)-H(5S1)	109.0
S(5)-C(5S)-H(5S1)	109.0
C(6S)-C(5S)-H(5S2)	109.0
S(5)-C(5S)-H(5S2)	109.0
H(5S1)-C(5S)-H(5S2)	107.8
C(5S)-C(6S)-H(6S1)	109.5
C(5S)-C(6S)-H(6S2)	109.5
H(6S1)-C(6S)-H(6S2)	109.5
C(5S)-C(6S)-H(6S3)	109.5
H(6S1)-C(6S)-H(6S3)	109.5
H(6S2)-C(6S)-H(6S3)	109.5
C(8S)-C(7S)-S(7)	110.8(4)
C(8S)-C(7S)-H(7S1)	109.5
S(7)-C(7S)-H(7S1)	109.5
C(8S)-C(7S)-H(7S2)	109.5
S(7)-C(7S)-H(7S2)	109.5
H(7S1)-C(7S)-H(7S2)	108.1
C(7S)-C(8S)-H(8S1)	109.5
C(7S)-C(8S)-H(8S2)	109.5
H(8S1)-C(8S)-H(8S2)	109.5
C(7S)-C(8S)-H(8S3)	109.5
H(8S1)-C(8S)-H(8S3)	109.5

H(8S2)-C(8S)-H(8S3)	109.5
C(10S)-C(9S)-S(6)	104.5(5)
C(10S)-C(9S)-H(9S1)	110.8
S(6)-C(9S)-H(9S1)	110.8
C(10S)-C(9S)-H(9S2)	110.8
S(6)-C(9S)-H(9S2)	110.8
H(9S1)-C(9S)-H(9S2)	108.9
C(9S)-C(10S)-H(10A)	109.5
C(9S)-C(10S)-H(10B)	109.5
H(10A)-C(10S)-H(10B)	109.5
C(9S)-C(10S)-H(10C)	109.5
H(10A)-C(10S)-H(10C)	109.5
H(10B)-C(10S)-H(10C)	109.5
C(12S)-C(11S)-S(8)	113.0(3)
C(12S)-C(11S)-H(11E)	109.0
S(8)-C(11S)-H(11E)	109.0
C(12S)-C(11S)-H(11F)	109.0
S(8)-C(11S)-H(11F)	109.0
H(11E)-C(11S)-H(11F)	107.8
C(11S)-C(12S)-H(12A)	109.5
C(11S)-C(12S)-H(12B)	109.5
H(12A)-C(12S)-H(12B)	109.5
C(11S)-C(12S)-H(12C)	109.5
H(12A)-C(12S)-H(12C)	109.5
H(12B)-C(12S)-H(12C)	109.5
C(14S)-C(13S)-S(9)	111.6(3)
C(14S)-C(13S)-H(13M)	109.3
S(9)-C(13S)-H(13M)	109.3
C(14S)-C(13S)-H(13N)	109.3
S(9)-C(13S)-H(13N)	109.3
H(13M)-C(13S)-H(13N)	108.0
C(13S)-C(14S)-H(14M)	109.5
C(13S)-C(14S)-H(14N)	109.5
H(14M)-C(14S)-H(14N)	109.5
C(13S)-C(14S)-H(14O)	109.5
H(14M)-C(14S)-H(14O)	109.5
H(14N)-C(14S)-H(14O)	109.5
C(16S)-C(15S)-S(3)	112.7(4)
C(16S)-C(15S)-H(15M)	109.0
S(3)-C(15S)-H(15M)	109.0
C(16S)-C(15S)-H(15N)	109.0
S(3)-C(15S)-H(15N)	109.0
H(15M)-C(15S)-H(15N)	107.8
C(15S)-C(16S)-H(16M)	109.5
C(15S)-C(16S)-H(16N)	109.5
H(16M)-C(16S)-H(16N)	109.5
C(15S)-C(16S)-H(16O)	109.5
H(16M)-C(16S)-H(16O)	109.5
H(16N)-C(16S)-H(16O)	109.5

Преобразования симметрии, применяемые для получения идентичных атомов.

Таблица 4

Параметры анизотропного замещения ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) для LMT.2EsOH. Экспонента коэффициента анизотропного замещения принимает форму $-2\pi^2[h^2 a^{*2} U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
S(1A)	18(1)	21(1)	121(2)	12(1)	-15(1)	-2(1)
N(1A)	15(2)	24(2)	36(2)	1(2)	0(2)	-3(2)
N(2A)	19(2)	20(2)	27(2)	5(2)	1(2)	0(2)
N(3A)	17(2)	23(2)	27(2)	-1(2)	3(2)	1(2)
C(1A)	20(3)	22(2)	39(3)	3(2)	-4(2)	-1(2)
C(2A)	17(2)	24(2)	39(3)	2(2)	-4(2)	-1(2)
C(3A)	22(2)	22(2)	25(2)	-1(2)	7(2)	-2(2)
C(4A)	17(2)	29(2)	31(3)	-5(2)	7(2)	2(2)
C(5A)	15(2)	28(2)	37(3)	-6(2)	9(2)	-6(2)
C(6A)	18(2)	23(2)	26(2)	-2(2)	3(2)	-3(2)
C(7A)	22(2)	23(2)	25(2)	0(2)	5(2)	-2(2)
C(8A)	21(2)	25(2)	21(2)	-3(2)	6(2)	-7(2)
C(9A)	25(2)	22(2)	24(2)	2(2)	7(2)	-3(2)
C(10A)	19(2)	24(2)	22(2)	3(2)	4(2)	2(2)
C(11A)	19(2)	23(2)	33(3)	2(2)	1(2)	-8(2)
C(12A)	20(3)	22(2)	42(3)	6(2)	2(2)	-1(2)
C(13A)	28(3)	39(3)	30(3)	15(2)	0(2)	-2(2)
C(14A)	34(3)	44(3)	37(3)	1(2)	7(2)	13(2)
C(15A)	96(5)	26(3)	36(3)	3(2)	37(3)	2(3)
C(16A)	32(3)	26(2)	30(3)	-9(2)	4(2)	6(2)
S(1B)	17(1)	18(1)	39(1)	3(1)	7(1)	-1(1)
N(1B)	21(2)	16(2)	25(2)	-2(2)	8(2)	-3(2)
N(2B)	29(2)	24(2)	20(2)	4(2)	1(2)	6(2)
N(3B)	21(2)	19(2)	21(2)	-2(2)	3(2)	2(2)
C(1B)	17(2)	20(2)	18(2)	0(2)	5(2)	0(2)
C(2B)	21(2)	23(2)	16(2)	-3(2)	3(2)	-4(2)
C(3B)	22(2)	18(2)	18(2)	-2(2)	6(2)	1(2)
C(4B)	16(2)	23(2)	20(2)	-1(2)	3(2)	0(2)
C(5B)	16(2)	21(2)	21(2)	-1(2)	5(2)	-4(2)
C(6B)	25(2)	20(2)	17(2)	0(2)	9(2)	1(2)
C(7B)	22(2)	24(2)	20(2)	-3(2)	9(2)	0(2)
C(8B)	29(3)	19(2)	27(2)	0(2)	17(2)	-2(2)
C(9B)	32(3)	20(2)	25(2)	3(2)	16(2)	4(2)

C(10B)	31(3)	24(2)	14(2)	1(2)	7(2)	9(2)
C(11B)	24(2)	23(2)	19(2)	-2(2)	6(2)	-1(2)
C(12B)	28(3)	18(2)	20(2)	0(2)	9(2)	2(2)
C(13B)	53(3)	30(3)	26(3)	14(2)	11(2)	17(2)
C(14B)	22(2)	30(2)	27(3)	1(2)	4(2)	6(2)
C(15B)	42(3)	22(2)	35(3)	3(2)	15(2)	3(2)
C(16B)	39(3)	30(3)	25(3)	-8(2)	2(2)	10(2)
S(1C)	16(1)	21(1)	34(1)	2(1)	6(1)	0(1)
N(1C)	15(2)	22(2)	31(2)	-8(2)	4(2)	-5(2)
N(2C)	16(2)	19(2)	23(2)	0(2)	6(2)	0(1)
N(3C)	21(2)	28(2)	27(2)	1(2)	7(2)	5(2)
C(1C)	16(2)	25(2)	15(2)	-1(2)	2(2)	0(2)
C(2C)	20(2)	24(2)	17(2)	-2(2)	6(2)	-1(2)
C(3C)	21(2)	20(2)	19(2)	1(2)	6(2)	5(2)
C(4C)	20(2)	34(3)	20(2)	-2(2)	7(2)	4(2)
C(5C)	20(2)	26(2)	20(2)	-1(2)	6(2)	-1(2)
C(6C)	22(2)	24(2)	15(2)	-4(2)	7(2)	-1(2)
C(7C)	18(2)	29(2)	17(2)	-4(2)	6(2)	2(2)
C(8C)	17(2)	22(2)	27(2)	-8(2)	9(2)	-6(2)
C(9C)	21(2)	20(2)	22(2)	-3(2)	10(2)	-2(2)
C(10C)	14(2)	25(2)	18(2)	-3(2)	5(2)	1(2)
C(11C)	15(2)	24(2)	21(2)	-5(2)	6(2)	-7(2)
C(12C)	18(2)	19(2)	21(2)	-4(2)	7(2)	2(2)
C(13C)	17(2)	30(2)	29(3)	2(2)	9(2)	3(2)
C(14C)	23(2)	23(2)	23(2)	2(2)	7(2)	-2(2)
C(15C)	46(3)	45(3)	56(4)	22(3)	29(3)	11(3)
C(16C)	38(3)	33(3)	46(3)	-18(2)	-4(3)	8(2)
S(1D)	25(1)	23(1)	46(1)	-3(1)	13(1)	-4(1)
N(1D)	26(2)	23(2)	36(2)	-4(2)	11(2)	-4(2)
N(2D)	22(2)	35(2)	23(2)	2(2)	7(2)	2(2)
N(3D)	27(2)	24(2)	34(2)	0(2)	16(2)	2(2)
C(1D)	28(3)	28(2)	20(2)	-3(2)	10(2)	0(2)
C(2D)	30(3)	29(2)	23(2)	-5(2)	13(2)	-4(2)
C(3D)	33(3)	24(2)	24(2)	-1(2)	13(2)	1(2)
C(4D)	27(3)	31(3)	33(3)	0(2)	10(2)	-1(2)
C(5D)	26(3)	29(3)	36(3)	-6(2)	8(2)	-6(2)
C(6D)	29(3)	24(2)	19(2)	-3(2)	10(2)	0(2)
C(7D)	23(2)	27(2)	16(2)	0(2)	9(2)	-1(2)
C(8D)	30(3)	27(2)	19(2)	0(2)	15(2)	-3(2)
C(9D)	29(3)	29(2)	16(2)	3(2)	9(2)	-2(2)
C(10D)	24(2)	30(2)	17(2)	-2(2)	8(2)	0(2)
C(11D)	26(3)	32(2)	17(2)	-6(2)	7(2)	-6(2)
C(12D)	28(3)	24(2)	18(2)	-5(2)	11(2)	-1(2)
C(13D)	33(3)	60(4)	33(3)	19(3)	11(2)	10(3)
C(14D)	30(3)	33(3)	32(3)	3(2)	16(2)	5(2)

025033

C(15D)	51(3)	34(3)	41(3)	6(2)	23(3)	10(2)
C(16D)	35(3)	26(2)	47(3)	-12(2)	19(3)	-3(2)
S(2)	36(1)	27(1)	45(1)	9(1)	18(1)	2(1)
S(3)	23(1)	22(1)	24(1)	-3(1)	4(1)	-1(1)
S(4)	16(1)	23(1)	40(1)	-4(1)	4(1)	-1(1)
S(5)	23(1)	24(1)	41(1)	8(1)	12(1)	4(1)
S(6)	42(1)	19(1)	29(1)	0(1)	9(1)	-2(1)
S(7)	31(1)	28(1)	39(1)	4(1)	12(1)	1(1)
S(8)	20(1)	19(1)	24(1)	0(1)	4(1)	-1(1)
S(9)	23(1)	23(1)	27(1)	-1(1)	7(1)	4(1)
O(1)	67(4)	53(4)	52(5)	19(4)	29(4)	10(4)
O(2)	56(6)	25(9)	107(14)	17(8)	13(8)	-20(7)
O(3)	55(4)	54(4)	57(5)	23(4)	25(4)	8(3)
O(1')	79(5)	68(4)	48(4)	25(3)	39(4)	31(4)
O(2')	53(4)	20(7)	109(13)	14(6)	9(7)	-4(5)
O(3')	35(3)	71(5)	68(5)	41(4)	21(4)	9(3)
O(4)	26(2)	26(2)	44(2)	3(2)	7(2)	2(1)
O(5)	40(2)	33(2)	35(2)	-10(2)	0(2)	-8(2)
O(6)	23(2)	31(2)	26(2)	-2(1)	9(1)	-6(1)
O(7)	27(2)	27(2)	72(3)	11(2)	11(2)	0(2)
O(8)	16(2)	42(2)	57(2)	-18(2)	-3(2)	-2(2)
O(9)	24(2)	29(2)	38(2)	-2(1)	14(2)	-3(1)
O(10)	43(2)	49(2)	33(2)	12(2)	18(2)	30(2)
O(11)	37(2)	48(2)	95(4)	34(2)	4(2)	-11(2)
O(12)	78(3)	30(2)	34(2)	-2(2)	28(2)	3(2)
O(13)	52(3)	72(3)	56(3)	-16(2)	35(2)	-33(2)
O(14)	94(3)	25(2)	35(2)	-2(2)	3(2)	13(2)
O(15)	37(2)	40(2)	35(2)	-9(2)	1(2)	5(2)
O(16)	23(2)	37(2)	36(2)	-16(2)	13(2)	-8(1)
O(17)	59(3)	36(2)	68(3)	23(2)	21(2)	-5(2)
O(18)	28(2)	52(2)	32(2)	-9(2)	9(2)	0(2)
O(19)	33(2)	19(2)	34(2)	-1(1)	7(2)	-2(1)
O(20)	20(2)	24(2)	45(2)	-4(2)	-1(2)	-2(1)
O(21)	32(2)	34(2)	28(2)	3(1)	14(2)	2(1)
O(22)	26(2)	27(2)	24(2)	-2(1)	9(1)	-2(1)
O(23)	26(2)	23(2)	39(2)	3(1)	9(2)	8(1)
O(24)	26(2)	25(2)	42(2)	-5(2)	8(2)	-4(1)
C(1S)	60(4)	50(4)	56(4)	14(3)	5(3)	6(3)
C(2S)	48(3)	52(3)	36(3)	10(3)	19(3)	-2(3)
C(3S)	20(2)	37(3)	30(3)	-4(2)	6(2)	5(2)
C(4S)	32(3)	57(3)	28(3)	14(2)	12(2)	8(2)
C(5S)	23(3)	31(3)	50(3)	11(2)	9(2)	8(2)
C(6S)	37(3)	32(3)	26(3)	6(2)	13(2)	3(2)
C(7S)	32(3)	47(3)	38(3)	-2(2)	14(2)	1(2)
C(8S)	48(4)	22(3)	73(4)	9(3)	8(3)	-3(2)
C(9S)	45(3)	31(3)	43(3)	11(2)	24(3)	7(2)
C(10S)	118(8)	88(6)	104(7)	-11(5)	58(6)	-22(6)
C(11S)	30(3)	25(2)	30(3)	3(2)	14(2)	-2(2)
C(12S)	40(3)	40(3)	30(3)	3(2)	11(2)	2(2)
C(13S)	29(3)	25(2)	26(2)	0(2)	11(2)	1(2)
C(14S)	35(3)	32(3)	37(3)	-2(2)	18(2)	-2(2)
C(15S)	38(3)	39(3)	35(3)	2(2)	19(2)	-2(2)
C(16S)	51(4)	50(3)	63(4)	5(3)	40(3)	4(3)

Таблица 5

Координаты атомов водорода ($\times 10^4$) и параметры изотопного замещения ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) для LMT.2EsOH

	x	y	z	U(экв)
H(1AA)	-585	2958	1019	35
H(2AA)	1142	2510	2886	30
H(3A)	-993	5379	587	30
H(2A)	-112	4894	1482	38
H(4A)	-1173	4519	414	32
H(5A)	-1024	3623	616	33
H(8A)	-239	2190	1412	29
H(9A)	327	1779	2005	30
H(11A)	801	3220	2506	34
H(13A)	956	2107	3668	55
H(13B)	1268	1770	3586	55
H(13C)	853	1592	3162	55
H(14A)	950	1606	2041	62
H(14B)	1350	1846	2447	62
H(14C)	1048	2153	1770	62
H(15A)	-399	5529	288	75
H(15B)	-759	5883	-21	75
H(15C)	-775	5281	-280	75
H(16A)	-638	5607	1762	49
H(16B)	-652	6075	1222	49
H(16C)	-306	5694	1555	49
H(1B)	2048	25	885	25
H(2BB)	3779	-238	2945	33
H(3B)	1492	2364	765	27
H(2B)	2408	2001	1444	26
H(4B)	1368	1494	658	26
H(5B)	1566	616	765	25
H(8B)	2428	-704	1523	28
H(9B)	3012	-1036	2140	29

H(11B)	3416	453	2358	28
H(13D)	3579	-889	3507	57
H(13E)	3953	-1033	3472	57
H(13F)	3582	-1293	2905	57
H(14D)	3650	-952	1829	43
H(14E)	4042	-744	2383	43
H(14F)	3758	-345	1811	43
H(15D)	2099	2713	612	50
H(15E)	1729	3039	363	50
H(15F)	1737	2500	-42	50
H(16D)	1800	2460	1997	53
H(16E)	1763	3014	1591	53
H(16F)	2137	2692	1883	53
H(1C)	4627	2587	1195	30
H(2CC)	6358	2390	3285	24
H(3C)	4060	4939	950	32
H(2C)	4971	4574	1649	25
H(4C)	3932	4060	845	30
H(5C)	4137	3182	1006	27
H(8C)	5015	1871	1821	26
H(9C)	5601	1557	2480	25
H(11C)	5987	3052	2673	25
H(13G)	6256	1619	2248	39
H(13H)	6636	1887	2761	39
H(13I)	6327	2230	2142	39
H(14G)	6168	1769	3891	36
H(14H)	6544	1621	3871	36
H(14I)	6177	1339	3323	36
H(15G)	4636	5189	631	70
H(15H)	4280	5544	406	70
H(15I)	4252	4970	55	70
H(16G)	4450	5092	2174	70
H(16H)	4333	5614	1683	70
H(16I)	4723	5354	1894	70
H(1D)	7088	320	1462	34
H(2D)	8828	-56	3133	33
H(3D)	6618	2711	1123	32
H(2DD)	7510	2283	1724	32
H(4D)	6459	1833	909	38
H(5D)	6639	950	1112	38
H(8D)	7452	-429	1911	28
H(9D)	8028	-812	2416	30
H(11D)	8478	655	2709	31
H(13J)	8654	-656	3792	65
H(13K)	9004	-828	3683	65

H(13L)	8618	-1085	3187	65
H(14J)	8622	-820	2060	46
H(14K)	9023	-587	2493	46
H(14L)	8707	-220	1935	46
H(15J)	7042	2819	377	61
H(15K)	6720	3214	295	61
H(15L)	6632	2612	33	61
H(16J)	7101	2976	2179	54
H(16K)	6965	3437	1582	54
H(16L)	7320	3101	1708	54
H(1S1)	354	568	117	74
H(1S2)	34	756	315	74
H(2S1)	348	1552	757	67
H(2S2)	230	1466	-93	67
H(2S3)	641	1363	479	67
H(3S1)	2296	4750	523	36
H(3S2)	2109	4415	-213	36
H(4S1)	1692	5133	-749	59
H(4S2)	2102	5315	-517	59
H(4S3)	1901	5469	-21	59
H(5S1)	2641	3235	241	44
H(5S2)	2548	3575	803	44
H(6S1)	3029	4152	984	48
H(6S2)	2760	4126	137	48
H(6S3)	3134	3806	444	48
H(7S1)	5283	2814	-129	47
H(7S2)	5465	3051	679	47
H(8S1)	5796	3675	290	81
H(8S2)	5368	3758	-148	81
H(8S3)	5587	3453	-521	81
H(9S1)	5428	806	551	46
H(9S2)	5579	1289	1119	46
H(10A)	6182	981	1462	150
H(10B)	5993	1119	613	150
H(10C)	6028	516	875	150
H(11E)	8109	3705	840	33
H(11F)	8195	3253	387	33
H(12A)	7581	2956	-55	57
H(12B)	7605	3553	-295	57
H(12C)	7500	3438	363	57
H(13M)	8341	797	1242	33
H(13N)	8118	1177	569	33
H(14M)	7744	447	-41	52
H(14N)	7716	589	698	52
H(14O)	7955	95	671	52
H(15M)	272	2476	-63	44
H(15N)	475	2669	763	44
H(16M)	317	3544	407	74
H(16N)	-43	3188	97	74
H(16O)	135	3371	-430	74

Кристаллографические данные для LMT. 2MsOH (фиг. 17с).

Таблица 1

Кристаллографические данные и уточнение структуры для LMT.2MsOH		
Идентификационный код	64412SC171	
Эмпирическая формула	$C_{18}H_{27}N_3O_8S_3$	
Молекулярная масса по формуле соединения	477,61	
Температура	150(2) К	
Длина волны	0,71073 Å	
Кристаллическая система	Триклинная	
Пространственная группа	P-1	
Постоянные решетки	a=11,6401(6) Å	$\alpha=104,682(2)^\circ$
	b=12,0744(6) Å	$\beta=92,386(2)^\circ$
	c=18,4846(9) Å	$\gamma=116,151(2)^\circ$
Объем	2220,42(19) Å ³	
Z	4	
Плотность (рассчитанная)	1,429 мг/м ³	
Коэффициент поглощения	0,374 мм ⁻¹	
F(000)	1008	
Размеры кристалла	0,30×0,18×0,04 мм ³	
Диапазон тета для сбора данных	1,16-27,57°	
Диапазоны индексов	-15≤h≤15, -15≤k≤15, -24≤l≤24	
Количество отражения	42564	
Независимые отражения	10184 [R(int)=0,0662]	
Полнота до тета = 25,00	99,6%	
Поправка на поглощение	Полуэмпирическая из эквивалентов	
Максимальное и минимальное пропускание	0,9852 и 0,8962	
Способ уточнения	Наименьшие квадраты с заполненной матрицей на F ²	
Данные/ограничения/параметры	10184/198/552	
Критерий соответствия на F ²	1,071	
Конечные R коэффициенты [I>2σ(I)]	R1=0,0593, wR2=0,1399	
R коэффициенты (все данные)	R1=0,0909, wR2=0,1566	
Наибольший дифф. пик и углубление	1,192 и -0,905 е. Å ⁻³	

Таблица 2

Атомные координаты ($\times 10^4$) и параметры эквивалентного изотопного замещения ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) для eull Om. U (экв.) определяют как одна треть следа ортогонализированного U^{ij} тензора

	x	y	z	U (экв)
C(1A)	2847(3)	7453(4)	3069(2)	28(1)
C(2A)	2545(3)	8117(3)	2643(2)	27(1)
C(3A)	3528(3)	9173(4)	2496(2)	29(1)
C(4A)	4823(3)	9566(4)	2760(2)	37(1)
C(5A)	5121(3)	8863(4)	3154(2)	39(1)
C(6A)	4156(3)	7809(4)	3317(2)	34(1)
C(7A)	3630(5)	5911(5)	3768(2)	48(1)
C(8A)	4139(5)	5179(5)	4015(2)	55(1)
C(9A)	3314(5)	4011(5)	4119(2)	58(1)
C(10A)	1978(5)	3531(5)	3953(2)	52(1)
C(11A)	1451(5)	4217(4)	3678(2)	45(1)
C(12A)	2292(4)	5408(4)	3601(2)	42(1)
C(13A)	3947(4)	10426(4)	1555(2)	39(1)
C(14A)	3035(4)	10981(4)	2698(2)	36(1)
C(15A)	479(5)	2617(4)	4788(2)	56(1)
C(16A)	422(9)	1431(7)	3338(3)	21(2)
C(16')	-175(7)	1295(6)	3509(4)	38(2)
C(1B)	1734(3)	3733(3)	1573(2)	20(1)
C(2B)	467(3)	2802(3)	1532(2)	20(1)
C(3B)	-556(3)	2949(3)	1228(2)	20(1)
C(4B)	-328(3)	4011(3)	986(2)	21(1)
C(5B)	938(3)	4959(3)	1054(2)	22(1)
C(6B)	1992(3)	4819(3)	1335(2)	21(1)
C(7B)	4382(3)	5861(3)	1707(2)	21(1)
C(8B)	5559(3)	6955(3)	1766(2)	22(1)
C(9B)	6724(3)	7111(3)	2126(2)	22(1)
C(10B)	6691(3)	6167(3)	2435(2)	20(1)
C(11B)	5535(3)	5073(3)	2382(2)	20(1)
C(12B)	4385(3)	4907(3)	2011(2)	20(1)
C(13B)	-2276(3)	1245(3)	1673(2)	27(1)
C(14B)	-2081(3)	892(3)	317(2)	27(1)
C(15B)	8932(3)	7573(3)	3209(2)	26(1)
C(16B)	8431(3)	5579(3)	2180(2)	29(1)
C(1S)	3536(4)	59(4)	4695(2)	38(1)
C(2S)	8797(4)	7948(3)	434(2)	33(1)
C(3S)	5403(4)	3853(4)	327(2)	40(1)
C(4S)	6718(6)	3037(5)	4356(2)	67(2)
N(1A)	4480(3)	7134(4)	3726(2)	46(1)
N(2A)	3126(3)	9915(3)	2118(2)	29(1)
N(3A)	1056(5)	2317(4)	4117(2)	68(1)

025033

N(1B)	3245(2)	5734(3)	1338(2)	24(1)
N(2B)	-1895(2)	1871(3)	1060(1)	21(1)
N(3B)	7903(2)	6237(2)	2774(2)	21(1)
O(1S)	1876(5)	153(5)	5602(3)	31(1)
O(2S)	1457(5)	367(5)	4352(3)	27(1)
O(3S)	3166(4)	2156(4)	5329(3)	28(1)
O(2S')	3198(4)	1901(4)	4683(3)	26(1)
O(1S')	2515(5)	924(5)	5683(3)	25(1)
O(3S')	1291(5)	-191(6)	4380(3)	27(1)
O(4S)	10898(2)	10147(2)	1042(1)	34(1)
O(5S)	9224(3)	9462(3)	1796(2)	40(1)
O(6S)	10527(2)	8353(2)	1521(2)	39(1)
O(7S)	6954(2)	2997(3)	-257(1)	34(1)
O(8S)	6130(2)	2435(2)	845(1)	31(1)
O(9S)	4703(3)	1484(2)	-383(2)	44(1)
O(10S)	7552(3)	4905(3)	3786(2)	53(1)
O(11S)	8403(4)	3384(4)	3483(2)	73(1)
O(12S)	6252(3)	2791(3)	2924(2)	57(1)
S(1)	2478(1)	713(1)	4948(1)	30(1)
S(2)	9944(1)	9074(1)	1257(1)	23(1)
S(3)	5818(1)	2588(1)	111(1)	22(1)
S(4)	7286(1)	3562(1)	3574(1)	26(1)
S(1A)	1567(1)	6322(1)	3376(1)	32(1)
S(1B)	2994(1)	3393(1)	1838(1)	26(1)

Таблица 3

Длины связей [\AA] и углы [$^\circ$] для eull_0m

C(1A)-C(2A)	1.390(5)
C(1A)-C(6A)	1.408(4)
C(1A)-S(1A)	1.753(4)
C(2A)-C(3A)	1.388(5)
C(2A)-H(2A)	0.9500
C(3A)-C(4A)	1.388(5)
C(3A)-N(2A)	1.472(5)
C(4A)-C(5A)	1.387(6)
C(4A)-H(4A)	0.9500
C(5A)-C(6A)	1.390(6)
C(5A)-H(5A)	0.9500
C(6A)-N(1A)	1.393(5)
C(7A)-C(12A)	1.386(6)
C(7A)-N(1A)	1.394(6)
C(7A)-C(8A)	1.409(5)
C(8A)-C(9A)	1.380(7)
C(8A)-H(8A)	0.9500
C(9A)-C(10A)	1.387(7)
C(9A)-H(9A)	0.9500
C(10A)-C(11A)	1.399(5)
C(10A)-N(3A)	1.502(7)
C(11A)-C(12A)	1.386(7)
C(11A)-H(11A)	0.9500
C(12A)-S(1A)	1.768(3)
C(13A)-N(2A)	1.506(4)
C(13A)-H(13A)	0.9800
C(13A)-H(13B)	0.9800
C(13A)-H(13C)	0.9800
C(14A)-N(2A)	1.499(5)
C(14A)-H(14A)	0.9800
C(14A)-H(14B)	0.9800
C(14A)-H(14C)	0.9800
C(15A)-N(3A)	1.477(6)
C(15A)-H(15A)	0.9800
C(15A)-H(15B)	0.9800
C(15A)-H(15C)	0.9800
C(16A)-N(3A)	1.482(6)
C(16A)-H(16H)	0.9800
C(16A)-H(16I)	0.9800
C(16A)-H(16J)	0.9800
C(16')-N(3A)	1.563(6)
C(16')-H(16K)	0.9800
C(16')-H(16L)	0.9800

C(16)-H(16M)	0.9800
C(1B)-C(2B)	1.390(4)
C(1B)-C(6B)	1.398(4)
C(1B)-S(1B)	1.770(3)
C(2B)-C(3B)	1.394(4)
C(2B)-H(2B)	0.9500
C(3B)-C(4B)	1.384(4)
C(3B)-N(2B)	1.479(4)
C(4B)-C(5B)	1.386(4)
C(4B)-H(4B)	0.9500
C(5B)-C(6B)	1.407(4)
C(5B)-H(5B)	0.9500
C(6B)-N(1B)	1.387(4)
C(7B)-N(1B)	1.391(4)
C(7B)-C(8B)	1.397(4)
C(7B)-C(12B)	1.405(4)
C(8B)-C(9B)	1.398(4)
C(8B)-H(8B)	0.9500
C(9B)-C(10B)	1.385(4)
C(9B)-H(9B)	0.9500
C(10B)-C(11B)	1.387(4)
C(10B)-N(3B)	1.478(4)
C(11B)-C(12B)	1.386(4)
C(11B)-H(11B)	0.9500
C(12B)-S(1B)	1.766(3)
C(13B)-N(2B)	1.494(4)
C(13B)-H(13D)	0.9800
C(13B)-H(13E)	0.9800
C(13B)-H(13F)	0.9800
C(14B)-N(2B)	1.503(4)
C(14B)-H(14D)	0.9800
C(14B)-H(14E)	0.9800
C(14B)-H(14F)	0.9800
C(15B)-N(3B)	1.497(4)
C(15B)-H(15D)	0.9800
C(15B)-H(15E)	0.9800
C(15B)-H(15F)	0.9800
C(16B)-N(3B)	1.503(4)
C(16B)-H(16A)	0.9800
C(16B)-H(16B)	0.9800
C(16B)-H(16C)	0.9800
C(1S)-S(1)	1.755(4)
C(1S)-H(1S1)	0.9800
C(1S)-H(1S2)	0.9800
C(1S)-H(1S3)	0.9800

C(2S)-S(2)	1.768(3)
C(2S)-H(2S1)	0.9800
C(2S)-H(2S2)	0.9800
C(2S)-H(2S3)	0.9800
C(3S)-S(3)	1.755(4)
C(3S)-H(3S1)	0.9800
C(3S)-H(3S2)	0.9800
C(3S)-H(3S3)	0.9800
C(4S)-S(4)	1.762(4)
C(4S)-H(4S1)	0.9800
C(4S)-H(4S2)	0.9800
C(4S)-H(4S3)	0.9800
N(1A)-H(1A)	0.8800
N(2A)-H(2A1)	0.9300
N(3A)-H(3A)	0.9300
N(1B)-H(1B)	0.8800
N(2B)-H(2B1)	0.9300
N(3B)-H(3B)	0.9300
O(1S)-S(1)	1.573(5)
O(2S)-S(1)	1.422(5)
O(3S)-S(1)	1.508(5)
O(2S')-S(1)	1.528(5)
O(1S')-S(1)	1.312(5)
O(3S')-S(1)	1.473(5)
O(4S)-S(2)	1.449(2)
O(5S)-S(2)	1.447(3)
O(6S)-S(2)	1.472(2)
O(7S)-S(3)	1.458(2)
O(8S)-S(3)	1.467(2)
O(9S)-S(3)	1.433(3)
O(10S)-S(4)	1.451(3)
O(11S)-S(4)	1.417(3)
O(12S)-S(4)	1.443(3)
C(2A)-C(1A)-C(6A)	119.8(3)
C(2A)-C(1A)-S(1A)	117.7(2)
C(6A)-C(1A)-S(1A)	122.0(3)
C(3A)-C(2A)-C(1A)	120.3(3)
C(3A)-C(2A)-H(2A)	119.9
C(1A)-C(2A)-H(2A)	119.9
C(2A)-C(3A)-C(4A)	120.5(4)
C(2A)-C(3A)-N(2A)	116.9(3)
C(4A)-C(3A)-N(2A)	122.3(3)
C(5A)-C(4A)-C(3A)	118.9(4)
C(5A)-C(4A)-H(4A)	120.5

C(3A)-C(4A)-H(4A)	120.5
C(4A)-C(5A)-C(6A)	121.7(3)
C(4A)-C(5A)-H(5A)	119.1
C(6A)-C(5A)-H(5A)	119.1
C(5A)-C(6A)-N(1A)	120.6(3)
C(5A)-C(6A)-C(1A)	118.6(4)
N(1A)-C(6A)-C(1A)	120.8(4)
C(12A)-C(7A)-N(1A)	122.0(3)
C(12A)-C(7A)-C(8A)	118.7(5)
N(1A)-C(7A)-C(8A)	119.3(4)
C(9A)-C(8A)-C(7A)	120.2(5)
C(9A)-C(8A)-H(8A)	119.9
C(7A)-C(8A)-H(8A)	119.9
C(8A)-C(9A)-C(10A)	120.1(4)
C(8A)-C(9A)-H(9A)	120.0
C(10A)-C(9A)-H(9A)	120.0
C(9A)-C(10A)-C(11A)	120.6(5)
C(9A)-C(10A)-N(3A)	121.4(4)
C(11A)-C(10A)-N(3A)	117.8(4)
C(12A)-C(11A)-C(10A)	118.5(4)
C(12A)-C(11A)-H(11A)	120.7
C(10A)-C(11A)-H(11A)	120.7
C(7A)-C(12A)-C(11A)	121.8(4)
C(7A)-C(12A)-S(1A)	121.7(4)
C(11A)-C(12A)-S(1A)	116.2(3)
N(2A)-C(13A)-H(13A)	109.5
N(2A)-C(13A)-H(13B)	109.5
H(13A)-C(13A)-H(13B)	109.5
N(2A)-C(13A)-H(13C)	109.5
H(13A)-C(13A)-H(13C)	109.5
H(13B)-C(13A)-H(13C)	109.5
N(2A)-C(14A)-H(14A)	109.5
N(2A)-C(14A)-H(14B)	109.5
H(14A)-C(14A)-H(14B)	109.5
N(2A)-C(14A)-H(14C)	109.5
H(14A)-C(14A)-H(14C)	109.5
H(14B)-C(14A)-H(14C)	109.5
N(3A)-C(15A)-H(15A)	109.5
N(3A)-C(15A)-H(15B)	109.5
H(15A)-C(15A)-H(15B)	109.5
N(3A)-C(15A)-H(15C)	109.5
H(15A)-C(15A)-H(15C)	109.5
H(15B)-C(15A)-H(15C)	109.5
N(3A)-C(16A)-H(16H)	109.5
N(3A)-C(16A)-H(16I)	109.5

N(3A)-C(16A)-H(16J)	109.5
N(3A)-C(16')-H(16K)	109.5
N(3A)-C(16'')-H(16L)	109.5
H(16K)-C(16)-H(16L)	109.5
N(3A)-C(16'')-H(16M)	109.5
H(16K)-C(16)-H(16M)	109.5
H(16L)-C(16'')-H(16M)	109.5
C(2B)-C(1B)-C(6B)	121.3(3)
C(2B)-C(1B)-S(1B)	116.9(2)
C(6B)-C(1B)-S(1B)	121.5(2)
C(1B)-C(2B)-C(3B)	118.7(3)
C(1B)-C(2B)-H(2B)	120.7
C(3B)-C(2B)-H(2B)	120.7
C(4B)-C(3B)-C(2B)	121.2(3)
C(4B)-C(3B)-N(2B)	118.7(3)
C(2B)-C(3B)-N(2B)	119.5(3)
C(3B)-C(4B)-C(5B)	119.7(3)
C(3B)-C(4B)-H(4B)	120.1
C(5B)-C(4B)-H(4B)	120.1
C(4B)-C(5B)-C(6B)	120.4(3)
C(4B)-C(5B)-H(5B)	119.8
C(6B)-C(5B)-H(5B)	119.8
N(1B)-C(6B)-C(1B)	122.5(3)
N(1B)-C(6B)-C(5B)	118.7(3)
C(1B)-C(6B)-C(5B)	118.7(3)
N(1B)-C(7B)-C(8B)	119.3(3)
N(1B)-C(7B)-C(12B)	121.7(3)
C(8B)-C(7B)-C(12B)	119.0(3)
C(7B)-C(8B)-C(9B)	120.9(3)
C(7B)-C(8B)-H(8B)	119.5
C(9B)-C(8B)-H(8B)	119.5
C(10B)-C(9B)-C(8B)	118.7(3)
C(10B)-C(9B)-H(9B)	120.6
C(8B)-C(9B)-H(9B)	120.6
C(9B)-C(10B)-C(11B)	121.4(3)
C(9B)-C(10B)-N(3B)	121.0(3)
C(11B)-C(10B)-N(3B)	117.4(3)
C(12B)-C(11B)-C(10B)	119.7(3)
C(12B)-C(11B)-H(11B)	120.1
C(10B)-C(11B)-H(11B)	120.1
C(11B)-C(12B)-C(7B)	120.2(3)
C(11B)-C(12B)-S(1B)	117.6(2)
C(7B)-C(12B)-S(1B)	121.8(2)
N(2B)-C(13B)-H(13D)	109.5
N(2B)-C(13B)-H(13E)	109.5

H(13D)-C(13B)-H(13E)	109.5
N(2B)-C(13B)-H(13F)	109.5
H(13D)-C(13B)-H(13F)	109.5
H(13E)-C(13B)-H(13F)	109.5
N(2B)-C(14B)-H(14D)	109.5
N(2B)-C(14B)-H(14E)	109.5
H(14D)-C(14B)-H(14E)	109.5
N(2B)-C(14B)-H(14F)	109.5
H(14D)-C(14B)-H(14F)	109.5
H(14E)-C(14B)-H(14F)	109.5
N(3B)-C(15B)-H(15D)	109.5
N(3B)-C(15B)-H(15E)	109.5
H(15D)-C(15B)-H(15E)	109.5
N(3B)-C(15B)-H(15F)	109.5
H(15D)-C(15B)-H(15F)	109.5
H(15E)-C(15B)-H(15F)	109.5
N(3B)-C(16B)-H(16A)	109.5
N(3B)-C(16B)-H(16B)	109.5
H(16A)-C(16B)-H(16B)	109.5
N(3B)-C(16B)-H(16C)	109.5
H(16A)-C(16B)-H(16C)	109.5
H(16B)-C(16B)-H(16C)	109.5
S(1)-C(1S)-H(1S1)	109.5
S(1)-C(1S)-H(1S2)	109.5
H(1S1)-C(1S)-H(1S2)	109.5
S(1)-C(1S)-H(1S3)	109.5
H(1S1)-C(1S)-H(1S3)	109.5
H(1S2)-C(1S)-H(1S3)	109.5
S(2)-C(2S)-H(2S1)	109.5
S(2)-C(2S)-H(2S2)	109.5
H(2S1)-C(2S)-H(2S2)	109.5
S(2)-C(2S)-H(2S3)	109.5
H(2S1)-C(2S)-H(2S3)	109.5
H(2S2)-C(2S)-H(2S3)	109.5
S(3)-C(3S)-H(3S1)	109.5
S(3)-C(3S)-H(3S2)	109.5
H(3S1)-C(3S)-H(3S2)	109.5
S(3)-C(3S)-H(3S3)	109.5
H(3S1)-C(3S)-H(3S3)	109.5
H(3S2)-C(3S)-H(3S3)	109.5
S(4)-C(4S)-H(4S1)	109.5
S(4)-C(4S)-H(4S2)	109.5
H(4S1)-C(4S)-H(4S2)	109.5
S(4)-C(4S)-H(4S3)	109.5
H(4S1)-C(4S)-H(4S3)	109.5

H(4S2)-C(4S)-H(4S3)	109.5
C(6A)-N(1A)-C(7A)	124.8(3)
C(6A)-N(1A)-H(1A)	117.6
C(7A)-N(1A)-H(1A)	117.6
C(3A)-N(2A)-C(14A)	110.2(3)
C(3A)-N(2A)-C(13A)	114.9(3)
C(14A)-N(2A)-C(13A)	111.1(3)
C(3A)-N(2A)-H(2A1)	106.7
C(14A)-N(2A)-H(2A1)	106.7
C(13A)-N(2A)-H(2A1)	106.7
C(15A)-N(3A)-C(10A)	111.1(3)
C(15A)-N(3A)-C(16A)	130.2(6)
C(10A)-N(3A)-C(16A)	101.3(4)
C(15A)-N(3A)-C(16')	102.0(5)
C(10A)-N(3A)-C(16')	119.1(4)
C(16A)-N(3A)-C(16')	28.2(3)
C(15A)-N(3A)-H(3A)	103.9
C(10A)-N(3A)-H(3A)	103.9
C(16A)-N(3A)-H(3A)	103.9
C(16')-N(3A)-H(3A)	116.0
C(6B)-N(1B)-C(7B)	125.8(3)
C(6B)-N(1B)-H(1B)	117.1
C(7B)-N(1B)-H(1B)	117.1
C(3B)-N(2B)-C(13B)	114.9(2)
C(3B)-N(2B)-C(14B)	109.1(2)
C(13B)-N(2B)-C(14B)	111.1(3)
C(3B)-N(2B)-H(2B1)	107.1
C(13B)-N(2B)-H(2B1)	107.1
C(14B)-N(2B)-H(2B1)	107.1
C(10B)-N(3B)-C(15B)	114.9(2)
C(10B)-N(3B)-C(16B)	110.6(2)
C(15B)-N(3B)-C(16B)	110.8(2)
C(10B)-N(3B)-H(3B)	106.7
C(15B)-N(3B)-H(3B)	106.7
C(16B)-N(3B)-H(3B)	106.7
O(1S')-S(1)-O(2S)	131.2(3)
O(1S')-S(1)-O(3S')	123.5(3)
O(2S)-S(1)-O(3S')	25.1(2)
O(1S')-S(1)-O(3S)	71.7(3)
O(2S)-S(1)-O(3S)	110.8(3)
O(3S')-S(1)-O(3S)	134.9(3)
O(1S')-S(1)-O(2S')	116.5(3)
O(2S)-S(1)-O(2S')	84.3(3)
O(3S')-S(1)-O(2S')	107.5(3)
O(3S)-S(1)-O(2S')	45.0(2)

O(1S)-S(1)-O(1S)	33.5(2)
O(2S)-S(1)-O(1S)	109.1(3)
O(3S)-S(1)-O(1S)	93.0(3)
O(3S)-S(1)-O(1S)	103.3(3)
O(2S)-S(1)-O(1S)	148.0(3)
O(1S)-S(1)-C(1S)	107.0(2)
O(2S)-S(1)-C(1S)	114.7(2)
O(3S)-S(1)-C(1S)	102.3(2)
O(3S)-S(1)-C(1S)	113.6(2)
O(2S)-S(1)-C(1S)	95.2(2)
O(1S)-S(1)-C(1S)	104.4(2)
O(4S)-S(2)-O(5S)	112.76(15)
O(4S)-S(2)-O(6S)	111.68(16)
O(5S)-S(2)-O(6S)	112.07(17)
O(4S)-S(2)-C(2S)	108.24(17)
O(5S)-S(2)-C(2S)	106.71(17)
O(6S)-S(2)-C(2S)	104.86(16)
O(9S)-S(3)-O(7S)	112.41(17)
O(9S)-S(3)-O(8S)	113.91(16)
O(7S)-S(3)-O(8S)	111.12(14)
O(9S)-S(3)-C(3S)	105.99(19)
O(7S)-S(3)-C(3S)	107.38(18)
O(8S)-S(3)-C(3S)	105.42(16)
O(11S)-S(4)-O(12S)	112.8(2)
O(11S)-S(4)-O(10S)	114.1(2)
O(12S)-S(4)-O(10S)	110.8(2)
O(11S)-S(4)-C(4S)	106.2(3)
O(12S)-S(4)-C(4S)	107.6(2)
O(10S)-S(4)-C(4S)	104.6(2)
C(1A)-S(1A)-C(12A)	100.76(19)
C(12B)-S(1B)-C(1B)	101.93(14)

Преобразования симметрии, применяемые для получения идентичных атомов.

Таблица 4

Параметры анизотропного замещения ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) для eull 0m. Экспонента коэффициента анизотропного замещения принимает форму $-27\pi^2 [h^2 a^*^2 U^{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U^{12}]$

	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
C(1A)	22(1)	45(2)	19(1)	2(1)	1(1)	21(1)
C(2A)	17(1)	41(2)	20(1)	4(1)	0(1)	14(1)
C(3A)	19(1)	46(2)	15(1)	2(1)	1(1)	12(1)
C(4A)	19(1)	57(2)	19(1)	-4(1)	2(1)	12(1)
C(5A)	19(1)	66(2)	20(1)	-6(1)	-2(1)	21(1)
C(6A)	23(1)	59(2)	17(1)	-4(1)	-2(1)	26(1)
C(7A)	75(2)	90(2)	15(1)	8(2)	5(1)	73(2)
C(8A)	86(2)	98(2)	19(1)	6(2)	0(1)	83(2)
C(9A)	101(2)	92(2)	20(2)	6(2)	-2(2)	86(2)
C(10A)	100(2)	76(2)	18(1)	9(1)	3(2)	78(2)
C(11A)	86(2)	71(2)	16(1)	14(1)	7(1)	69(2)
C(12A)	75(2)	75(2)	15(1)	15(1)	8(1)	67(2)
C(13A)	27(2)	44(2)	20(2)	8(2)	4(2)	-3(2)
C(14A)	39(2)	30(2)	25(2)	7(2)	10(2)	5(2)
C(15A)	104(4)	34(2)	28(2)	4(2)	-10(2)	34(3)
C(1B)	17(1)	22(1)	18(1)	4(1)	3(1)	10(1)
C(2B)	21(1)	22(1)	18(1)	6(1)	4(1)	10(1)
C(3B)	19(1)	23(1)	19(1)	5(1)	4(1)	10(1)
C(4B)	20(1)	23(1)	22(1)	6(1)	3(1)	12(1)
C(5B)	22(1)	21(1)	24(1)	7(1)	4(1)	11(1)
C(6B)	18(1)	22(1)	23(1)	5(1)	6(1)	10(1)
C(7B)	21(1)	20(1)	23(1)	6(1)	6(1)	11(1)
C(8B)	23(1)	19(1)	26(1)	6(1)	6(1)	11(1)
C(9B)	21(1)	19(1)	26(1)	5(1)	7(1)	9(1)
C(10B)	19(1)	21(1)	19(1)	3(1)	4(1)	10(1)
C(11B)	20(1)	21(1)	20(1)	5(1)	5(1)	10(1)
C(12B)	18(1)	20(1)	20(1)	6(1)	5(1)	8(1)
C(13B)	21(2)	30(2)	24(2)	10(2)	4(1)	7(1)
C(14B)	24(2)	26(2)	21(2)	0(1)	0(1)	6(1)
C(15B)	24(2)	22(2)	25(2)	0(1)	0(1)	8(1)
C(16B)	27(2)	31(2)	27(2)	0(2)	2(1)	18(2)
C(1S)	33(2)	49(2)	28(2)	7(2)	0(2)	20(2)
C(2S)	35(2)	29(2)	26(2)	2(2)	-6(2)	12(2)
C(3S)	62(3)	44(2)	31(2)	12(2)	9(2)	40(2)
C(4S)	95(4)	51(3)	30(2)	16(2)	22(2)	11(3)
N(1A)	42(2)	88(3)	23(2)	2(2)	-6(1)	52(2)
N(2A)	20(1)	32(2)	19(1)	5(1)	2(1)	0(1)
N(3A)	159(4)	58(2)	17(2)	1(2)	-12(2)	84(3)
N(1B)	18(1)	25(1)	34(2)	17(1)	7(1)	9(1)
N(2B)	17(1)	25(1)	21(1)	6(1)	2(1)	10(1)

025033

N(3B)	18(1)	20(1)	21(1)	2(1)	1(1)	8(1)
O(4S)	39(2)	25(1)	33(1)	10(1)	12(1)	9(1)
O(5S)	37(2)	35(2)	34(2)	0(1)	14(1)	10(1)
O(6S)	30(1)	27(1)	54(2)	14(1)	-11(1)	8(1)
O(7S)	27(1)	48(2)	42(2)	28(1)	16(1)	22(1)
O(8S)	33(1)	42(1)	34(1)	23(1)	13(1)	25(1)
O(9S)	33(2)	28(1)	53(2)	7(1)	-5(1)	3(1)
O(10S)	96(2)	27(1)	26(1)	4(1)	-11(2)	24(2)
O(11S)	84(3)	128(3)	45(2)	25(2)	15(2)	82(3)
O(12S)	43(2)	54(2)	28(2)	2(1)	-5(1)	-11(1)
S(1)	21(1)	19(1)	45(1)	13(1)	-12(1)	5(1)
S(2)	23(1)	22(1)	20(1)	5(1)	3(1)	9(1)
S(3)	19(1)	22(1)	28(1)	10(1)	6(1)	11(1)
S(4)	29(1)	22(1)	18(1)	6(1)	2(1)	4(1)
S(1A)	29(1)	43(1)	39(1)	19(1)	5(1)	26(1)
S(1B)	17(1)	22(1)	39(1)	15(1)	1(1)	7(1)

Таблица 5

Координаты атомов водорода ($\times 10^4$) и параметры изотопного замещения ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) для eul1_0m

	x	y	z	U (экв)
H(2A)	1662	7847	2452	32
H(4A)	5495	10304	2671	45
H(5A)	6007	9108	3318	47
H(8A)	5053	5489	4110	66
H(9A)	3662	3536	4304	69
H(11A)	536	3874	3547	54
H(13A)	4800	11131	1827	58
H(13B)	3517	10752	1260	58
H(13C)	4057	9728	1211	58
H(14A)	2513	10627	3064	54
H(14B)	2623	11370	2445	54
H(14C)	3910	11643	2966	54
H(15A)	1173	3266	5213	84
H(15B)	-13	1828	4928	84
H(15C)	-105	2958	4669	84
H(16H)	-60	541	3357	32
H(16I)	1086	1487	3019	32
H(16J)	-179	1679	3122	32
H(16K)	-683	569	3701	56
H(16L)	94	977	3039	56
H(16M)	-708	1698	3407	56
H(2B)	301	2081	1708	24
H(4B)	-1035	4090	775	25
H(5B)	1095	5709	911	26
H(8B)	5567	7602	1559	27
H(9B)	7524	7850	2158	27
H(11B)	5531	4439	2601	24
H(13D)	-1727	843	1744	41
H(13E)	-3189	582	1529	41
H(13F)	-2161	1901	2148	41
H(14D)	-1922	1307	-87	41
H(14E)	-2973	184	197	41
H(14F)	-1468	547	355	41
H(15D)	9282	8071	2855	39
H(15E)	9634	7519	3485	39
H(15F)	8555	8004	3570	39
H(16A)	7739	4713	1898	43
H(16B)	9145	5506	2426	43
H(16C)	8752	6089	1829	43

H(1S1)	4324	513	5083	56
H(1S2)	3770	163	4204	56
H(1S3)	3106	-863	4655	56
H(2S1)	8396	8376	210	50
H(2S2)	8124	7229	571	50
H(2S3)	9237	7616	64	50
H(3S1)	5170	3997	-144	60
H(3S2)	6146	4646	652	60
H(3S3)	4661	3623	594	60
H(4S1)	6520	2129	4255	100
H(4S2)	5930	3121	4436	100
H(4S3)	7389	3569	4811	100
H(1A)	5282	7506	3975	55
H(2A1)	2289	9350	1848	35
H(3A)	1596	2011	4279	82
H(1B)	3327	6282	1083	29
H(2B1)	-2456	2212	994	26
H(3B)	7679	5766	3119	25

Ссылки.

- Abrahamson, M., Jonsdottir, S., Olafsson, I. & Grubb, A. (1992) Hereditary cystatin C amyloid angiopathy identification of the disease-causing mutation and specific diagnosis by polymerase chain reaction based analysis. *Human Genetics* 89, 377-380.
- Andersen, P. (2006) Amyotrophic lateral sclerosis associated with mutations in the CuZn superoxide dismutase gene. *Current Neurology and Neuroscience Reports* 6, 37-46.
- Arai, T., Hasegawa, M., Nonaka, T., Kametani, F., Yamashita, M., Hosokawa, M., Niizato, K., Tsuchiya, K., Kobayashi, Z., Ikeda, K., Yoshida, M., Onaya, M., Fujishiro, H. & Akiyama, H. (2010) Phosphorylated and cleaved TDP-43 in ALS, FTLD and other neurodegenerative disorders and in cellular models of TDP-43 proteinopathy. *Neuropathology* 30, 170-181.
- Askanas, V., Engel, W.K. & Nogalska, A. (2009) Inclusion body myositis: a degenerative muscle disease associated with intra-muscle fiber multi-protein aggregates, proteasome inhibition, endoplasmic reticulum stress and decreased lysosomal degradation. *Brain Pathology* 19, 493-506.
- Barmada, S.J., Skibinski, G., Korb, E., Rao, E.J., Wu, J.Y. & Finkbeiner, S. (2010) Cytoplasmic mislocalization of TDP-43 is toxic to neurons and enhanced by a mutation associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neuroscience* 30, 639-649.
- Blair, I.P., Williams, K.L., Warraich, S.T., Durnall, J.C., Thoeng, A.D., Manavis, J., Blumbergs, P.C., Vucic, S., Kiernan, M.C. & Nicholson, G.A. (2010) FUS mutations in amyotrophic lateral sclerosis: clinical, pathological, neurophysiological and genetic analysis. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 81, 639-645.
- Booth, D.R., Sunde, M., Bellotti, V., Robinson, C.V., Hutchinson, W.L., Fraser, P.E., Hawkins, P.N., Dobson, C.M., Radford, S.E., Blake, C.C.F. & Pepys, M.B. (1997) Instability, unfolding and aggregation of human lysozyme variants underlying amyloid fibrillogenesis. *Nature* 385, 787-793.
- Byrne, S., Walsh, C., Lynch, C., Bede, P., Elamin, M., Kenna, K., McLaughlin, R. & Hardiman, O. (2011) Rate of familial amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 82, 623-627.
- Carrell, R.W. & Gooptu, B. (1998) Conformational changes and disease - serpins, prions and Alzheimer's. *Current Opinion in Structural Biology* 8, 799-809.
- Chen-Plotkin, A.S., Lee, V.M.Y. & Trojanowski, J.Q. (2010) TAR DNA-binding protein 43 in neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neurology* 6, 211-220.

- Chiti, F., Webster, P., Taddei, N., Clark, A., Stefani, M., Ramponi, G. & Dobson, C. (1999) Designing conditions for in vitro formation of amyloid protofilaments and fibrils. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 96, 3590-3594.
- Cox, L.E., Ferraiuolo, L., Goodall, E.F., Heath, P.R., Higginbottom, A., Mortiboys, H., Hollinger, H.C., Hartley, J.A., Brockington, A., Burness, C.E., Morrison, K.E., Wharton, S.B., Grierson, A.J., Ince, P.G., Kirby, J. & Shaw, P.J. (2010) Mutations in CHMP2B in lower motor neuron predominant amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *PLOS One* 5, e9872.
- Czech, C., Tremp, G. & Pradier, L. (2000) Presenilins and Alzheimer's disease: biological functions and pathogenic mechanisms. *Progress in Neurobiology* 60, 363-384.
- Davis, R.L., Shrimpton, A.E., Holohan, P.D., Bradshaw, C., Feiglin, D., Collins, G.H., Sonderegger, P., Kinter, J., Becker, L.M., Lacbawan, F., Krasnewich, D., Muenke, M., Lawrence, D.A., Yerby, M.S., Shaw, C.-M., Gooptu, B., Elliott, P.R., Finch, J.T., Carrell, R.W. & Lomas, D.A. (1999) Familial dementia caused by polymerization of mutant neuroserpin. *Nature* 401, 376-379.
- DiFiglia, M., Sapp, E., Chase, K.O., Davies, S.W., Bates, G.P., Vonsattel, J.P. & Aronin, N. (1997) Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science* 277, 1990-1993.
- Dische, F.E., Wernstedt, C., Westermark, G.T., Westermark, P., Pepys, M.B., Rennie, J.A., Gilbey, S.G. & Watkins, P.J. (1988) Insulin as an amyloid-fibril protein at sites of repeated insulin injections in a diabetic patient. *Diabetologia* 31, 158-161.
- Elden, A.C., Kim, H.-J., Hart, M.P., Chen-Plotkin, A.S., Johnson, B.S., Fang, X., Armakola, M., Geser, F., Greene, R., Lu, M.M., Padmanabhan, A., Clay-Falcone, D., McCluskey, L., Elman, L., Juhr, D., Gruber, P.J., Rub, U., Auburger, G., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.Y., Van Deerlin, V.M., Bonini, N.M. & Gitler, A.D. (2010) Ataxin-2 intermediate-length polyglutamine expansions are associated with increased risk for ALS. *Nature* 466, 1069-1075.
- Finsterer, J. (2009) Mitochondrial disorders, cognitive impairment and dementia. *J Neurol. Sci.* 283:143-148
- Gasset, M., Bladwin, M.A., Lloyd, D.H., abriel, J.-M., Holtzman, D.M., Cohen, F.E., Fletterick, R. & Prusiner, S.B. (1992) Predicted α -helical region of the prion protein when synthesized as peptides form amyloid. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 89, 10940-10944.
- Gendron, T.F., Josephs, K.A. & Petrucelli, L. (2010) Review: Transactive response DNA-binding protein 43 (TDP-43): mechanisms of neurodegeneration. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 36, 97-112.
- Geser, F., Lee, V.M.-Y. & Trojanowski, J.Q. (2010) Amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration: A spectrum of TDP-43 proteinopathies. *Neuropathology* 30, 103-112.
- Gitcho, M.A., Baloh, R.H., Chakraverty, S., Mayo, K., Norton, J.B., Levitch, D., Hatanpaa, K.J., White, C.L., III, Bigio, E.H., Caselli, R., Baker, M., Al-Lozi, M.T., Morris, J.C.,

- Pestronk, A., Rademakers, R., Goate, A.M. & Cairns, N.J. (2008) TDP-43 A315T mutation in familial motor neuron disease. *Annals of Neurology* 63, 535-538.
- Glenner, G.G. & Wong, C.W. (1984) Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterisation of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 120, 885-890
- Goate, A., Chartier-Harlin, M.-C., Mullian, M., Brown, J., Crawford, F., Fidani, L., Giuffra, L., Haynes, A., Irving, N., James, L., Mant, R., Newton, P., Rooke, K., Roques, P., Talbot, C., Pericak-Vance, M., Roses, A., Williamson, R., Rossor, M., Owen, M. & Hardy, J. (1991) Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 349, 704-706.
- Gorevic, P.D., Casey, T.T., Stone, W.J., DiRaimondo, C.R., Prelli, F.C. & Frangione, B. (1985) b-2 Microglobulin is an amyloidogenic protein in man. *Journal of Clinical Investigation* 76, 2425-2429.
- Gustavsson, A., Engström, U. & Westermarck, P. (1991) Normal transthyretin and synthetic transthyretin fragments form amyloid-like fibrils in vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 175, 1159-1164.
- Higashi, S., Tsuchiya, Y., Araki, T., Wada, K. & Kabuta, T. (2010) TDP-43 physically interacts with amyotrophic lateral sclerosis-linked mutant CuZn superoxide dismutase. *Neurochemistry International* 57, 906-913.
- Hutton, M., Lendon, C., Rizzu, P., Baker, M., Froelich, S., Houlden, H., Pickering-Brown, S., Chakraverty, S., Isaacs, A., Grover, A., Hackett, J., Adamson, J., Lincoln, S., Dickson, D., Davies, P., Petersen, R.C., Stevens, M., de Graaf, E., Wauters, E., van Baren, J., Hillebrand, M., Joosse, M., Kwon, J.M., Nowotny, P., Che, L.K., Norton, J., Morris, J.C., Reed, L.A., Trojanowski, J.Q., Basun, H., Lannfelt, L., Neystat, M., Fahn, S., Dark, F., Tannenberg, T., Dodd, P.R., Hayward, N., Kwok, J.B.J., Schofield, P.R., Andreadis, A., Snowden, J., Craufurd, D., Neary, D., Owen, F., Oostra, B.A., Hardy, J., Goate, A., van Swieten, J., Mann, D., Lynch, T. & Heutink, P. (1998) Association of missense and 5'-splice-site mutations in *tau* with the inherited dementia FTDP-17. *Nature* 393, 702-705.
- Igaz, L.M., Kwong, L.K., Chen-Plotkin, A., Winton, M.J., Unger, T.L., Xu, Y., Neumann, M., Trojanowski, J.Q. & Lee, V.M.Y. (2009) Expression of TDP-43 C-terminal fragments in vitro recapitulates pathological features of TDP-43 proteinopathies. *Journal of Biological Chemistry* 284, 8516-8524.
- Jinwal, UK, Miyata, Y, Koren, J, III, Jones, JR, Trotter, JH *et al.* (2009) Chemical manipulation of Hsp70 ATPase activity regulates tau stability. *J. Neurosci.* 29:12079-12088
- Johansson, B., Wernstedt, C. & Westermarck, P. (1987) Atrial natriuretic peptide deposited as atrial amyloid fibrils. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 148, 1087-1092.
- Johnson, B.S., McCaffery, J.M., Lindquist, S. & Gitler, A.D. (2008) A yeast TDP-43 proteinopathy model: Exploring the molecular determinants of TDP-43

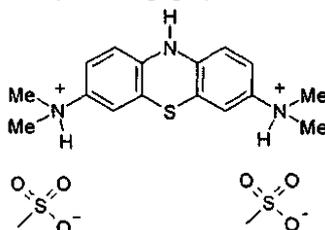
- aggregation and cellular toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 6439-6444.
- Johnson, B.S., Sneed, D., Lee, J.J., McCaffery, J.M., Shorter, J. & Gitler, A.D. (2009) TDP-43 is intrinsically aggregation-prone, and amyotrophic lateral sclerosis-linked mutations accelerate aggregation and increase toxicity. *Journal of Biological Chemistry* 284, 20329-20339.
- Johnson, J.O., Mandrioli, J., Benatar, M., Abramzon, Y., Van Deerlin, V.M., Trojanowski, J.Q., Gibbs, J.R., Brunetti, M., Gronka, S., Wu, J., Ding, J., McCluskey, L., Martinez-Lage, M., Falcone, D., Hernandez, D.G., Arepalli, S., Chong, S., Schymick, J.C., Rothstein, J., Landi, F., Wang, Y.-D., Calvo, A., Mora, G., Sabatelli, M., Monsurro, M.R., Battistini, S., Salvi, F., Spataro, R., Sola, P., Borghero, G., Galassi, G., Scholz, S.W., Taylor, J.P., Restagno, G., Chiò, A. & Traynor, B.J. (2010) Exome sequencing reveals VCP mutations as a cause of familial ALS. *Neuron* 68, 857-864.
- Kabashi, E., Lin, L., Tradewell, M.L., Dion, P.A., Bercier, V., Bourgouin, P., Rochefort, D., Bel Hadj, S., Durham, H.D., Velde, C.V., Rouleau, G.A. & Drapeau, P. (2010) Gain and loss of function of ALS-related mutations of *TARDBP* (TDP-43) cause motor deficits in vivo. *Human Molecular Genetics* 19, 671-683.
- Kabashi, E., Valdmanis, P.N., Dion, P., Spiegelman, D., McConkey, B.J., Velde, C.V., Bouchard, J.-P., Lacomblez, L., Pochigaeva, K., Salachas, F., Pradat, P.-F., Camu, W., Meininger, V., Dupre, N. & Rouleau, G.A. (2008) *TARDBP* mutations in individuals with sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Genetics* 40, 572-574.
- Ling, S.-C., Albuquerque, C.P., Han, J.S., Lagier-Tourenne, C., Tokunaga, S., Zhou, H. & Cleveland, D.W. (2010) ALS-associated mutations in TDP-43 increase its stability and promote TDP-43 complexes with FUS/TLS. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 13318-13323.
- Lomas, D.A., Evans, D.L., Finch, J.T. & Carrell, R.W. (1992) The mechanism of Z a1-antitrypsin accumulation in the liver. *Nature* 357, 605-607.
- Love, S., Bridges, L.R. & Case, C.P. (1995) Neurofibrillary tangles in Niemann-Pick disease type C. *Brain* 118, 119-129.
- Mackenzie, I.R.A., Bigio, E.H., Ince, P.G., Geser, F., Neumann, M., Cairns, N.J., Kwong, L.K., Forman, M.S., Ravits, J., Stewart, H., Eisen, A., McClusky, L., Kretschmar, H.A., Monoranu, C.M., Highley, J.R., Kirby, J., Siddique, T., Shaw, P.J., Lee, V.M.Y. & Trojanowski, J.Q. (2007) Pathological TDP-43 distinguishes sporadic amyotrophic lateral sclerosis from amyotrophic lateral sclerosis with SOD1 mutations. *Annals of Neurology* 61, 427-434.
- Mackenzie, I.R.A., Rademakers, R. & Neumann, M. (2010) TDP-43 and FUS in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. *The Lancet Neurology* 9, 995-1007.

- Maury, C.P. & Baumann, M. (1990) Isolation and characterization of cardiac amyloid in familial amyloid polyneuropathy type IV (Finnish): relation of the amyloid protein to variant gelsolin. *Biochimica et Biophysica Acta* 1096, 84-86.
- Neary, D., Snowden, J.S., Gustafson, L., Passant, U., Stuss, D., Black, S., Freedman, M., Kertesz, A., Robert, P.H., Albert, M., Boone, K., Miller, B.L., Cummings, J. & Benson, D.F. (1998) Frontotemporal lobar degeneration: a consensus on clinical diagnostic criteria. *Neurology* 51, 1546-1554.
- Neumann, M. (2009) Molecular neuropathology of TDP-43 proteinopathies. *International Journal of Molecular Sciences* 10, 232-246.
- Neumann, M., Sampathu, D.M., Kwong, L.K., Truax, A.C., Micsenyi, M.C., Chou, T.T., Bruce, J., Schuck, T., Grossman, M., Clark, C.M., McCluskey, L.F., Miller, B.L., Masliah, E., Mackenzie, I.R., Feldman, H., Feiden, W., Kretschmar, H.A., Trojanowski, J.Q. & Lee, V.M.Y. (2006) Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 314, 130-133.
- Nonaka, T., Kametani, F., Arai, T., Akiyama, H. & Hasegawa, M. (2009) Truncation and pathogenic mutations facilitate the formation of intracellular aggregates of TDP-43. *Human Molecular Genetics* 18, 3353-3364.
- Ohmi, K., Kudo, L.C., Ryazantsev, S., Zhao, H.-Z., Karsten, S.L. & Neufeld, E.F. (2009) Sanfilippo syndrome type B, a lysosomal storage disease, is also a tauopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 8332-8337.
- Orr, H.T. & Zoghbi, H.Y. (2007) Trinucleotide repeat disorders. *Annual Review of Neuroscience* 30, 575-621.
- Paulson, H.L. (1999) Human genetics '99: trinucleotide repeats. *American Journal of Human Genetics* 64, 339-345.
- Pepys, M.B., Hawkins, P.N., Booth, D.R., Vigushin, D.M., Tennent, G.A., Soutar, A.K., Totty, N., Nguyen, O., Blake, C.C.F., Terry, C.J., Feast, T.G., Zalin, A.M. & Hsuan, J.J. (1993) Human lysozyme gene mutations cause hereditary systemic amyloidosis. *Nature* 362, 553-557.
- Polymeropoulos, M.H., Lavedan, C., Leroy, E., Ide, S.E., Dehejia, A., Dutra, A., Pike, B., Root, H., Rubenstein, J., Boyer, R., Stenroos, E.S., Chandrasekharappa, S., Athanassiadou, A., Papaetropoulos, T., Johnson, W.G., Lazzarini, A.M., Duvoisin, R.C., Di Iorio, G., Golbe, L.I. & Nussbaum, R.L. (1997) Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 276, 2045-2047.
- Prusiner, S.B., Scott, M.R., DeArmond, S.J. & Cohen, F.E. (1998) Prion protein biology. *Cell* 93, 337-348.
- Seetharaman, S.V., Prudencio, M., Karch, C., Holloway, S.P., Borchelt, D.R. & Hart, P.J. (2009) Immature copper-zinc superoxide dismutase and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Experimental Biology and Medicine* 234, 1140-1154.
- Seilhean, D., Cazeneuve, C., Thuries, V., Russaouen, O., Millecamps, S., Salachas, F., Meininger, V., LeGuern, E. & Duyckaerts, C. (2009) Accumulation of TDP-43 and

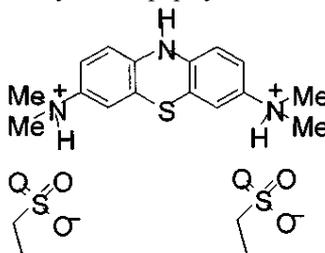
- α -actin in an amyotrophic lateral sclerosis patient with the K17I ANG mutation
Acta Neuropathologica 118, 561-573.
- Shibata, N., Hirano, A., Kobayashi, M., Siddique, T., Deng, H.X., Hung, W.Y., Kato, T. & Asayama, K. (1996) Intense superoxide dismutase-1 immunoreactivity in intracytoplasmic hyaline inclusions of familial amyotrophic lateral sclerosis with posterior column involvement. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 55, 481-490.
- Sletten, K., Westermark, P. & Natvig, J.B. (1976) Characterization of amyloid fibril proteins from medullary carcinoma of the thyroid. *Journal of Experimental Medicine* 143, 993-998.
- Spillantini, M.G., Crowther, R.A., Jakes, R., Hasegawa, M. & Goedert, M. (1998) α -Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 95, 6469-6473.
- Sreedharan, J., Blair, I.P., Tripathi, V.B., Hu, X., Vance, C., Rogelj, B., Ackerley, S., Durnall, J.C., Williams, K.L., Buratti, E., Baralle, F., de Bellerocche, J., Mitchell, J.D., Leigh, P.N., Al-Chalabi, A., Miller, C.C., Nicholson, G. & Shaw, C.E. (2008) TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 319, 1668-1672.
- Uemichi, T., Luepnicks, J.J. & Benson, M.D. (1994) Hereditary renal amyloidosis with a novel variant fibrinogen. *Journal of Clinical Investigation* 93, 731-736.
- van Bebber, F., Paquet, D., Hruscha, A., Schmid, B. & Haass, C. (2010) Methylene blue fails to inhibit Tau and polyglutamine protein dependent toxicity in zebrafish. *Neurobiology of Disease* 39, 265-271.
- Vance, C., Rogelj, B., Hortobagyi, T., De Vos, K.J., Nishimura, A.L., Sreedharan, J., Hu, X., Smith, B., Ruddy, D., Wright, P., Ganesalingam, J., Williams, K.L., Tripathi, V., Al-Saraj, S., Al-Chalabi, A., Leigh, P.N., Blair, I.P., Nicholson, G., de Bellerocche, J., Gallo, J.-M., Miller, C.C. & Shaw, C.E. (2009) Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science* 323, 1208-1211.
- Westermark, P., Engstrom, U., Johnson, K.H., Westermark, G.T. & Betsholtz, C. (1990) Islet amyloid polypeptide: pinpointing amino acid residues linked to amyloid fibril formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 87, 5036-5040.
- Westermark, P., Johnson, K.H. & Pitkanen, P. (1985) Systemic amyloidosis: A review with emphasis on pathogenesis. *Applied Physiology* 3, 55-68.
- Westermark, P., Johnson, K.H., O'Brien, T.D. & Betsholtz, C. (1992) Islet amyloid polypeptide - a novel controversy in diabetes research. *Diabetologia* 35, 297-303.
- Wijesekera, L. & Leigh, P.N. (2009) Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 4, 3.
- Wischik, C.M., Novak, M., Thøgersen, H.C., Edwards, P.C., Runswick, M.J., Jakes, R., Walker, J.E., Milstein, C., M., R. & Klug, A. (1988) Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 85, 4506-4510.
- Yamashita, M., Nonaka, T., Arai, T., Kametani, F., Buchman, V.L., Ninkina, N., Bachurin, S.O., Akiyama, H., Goedert, M. & Hasegawa, M. (2009) Methylene blue and dimebon inhibit aggregation of TDP-43 in cellular models. *FEBS Letters* 583, 2419-2424.
- Zhang, Y.-J., Xu, Y.-F., Cook, C., Gendron, T.F., Roettges, P., Link, C.D., Lin, W.-L., Tong, J., Castanedes-Casey, M., Ash, P., Gass, J., Rangachari, V., Buratti, E., Baralle, F., Goide, T.E., Dickson, D.W. & Petrucelli, L. (2009) Aberrant cleavage of TDP-43 enhances aggregation and cellular toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 7607-7612.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, соответствующее следующей формуле:



2. Соединение, соответствующее следующей формуле:



3. Соединение по п.1 в кристаллической форме, имеющее кристаллическую структуру, как показано на фиг. 11-16.

4. Соединение по п.2 в кристаллической форме, имеющее кристаллическую структуру, как показано на фиг. 17.

5. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-4 и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

6. Фармацевтическая композиция по п.5, которая представляет собой твердую лекарственную форму, содержащую соединение по любому из пп.1-4 и по меньшей мере один разбавитель, подходящий для сухого прессования, при этом необязательно твердую лекарственную форму получают прямым прессованием сухим гранулированием.

7. Композиция по п.6, где твердая лекарственная форма растворяется до степени по меньшей мере 80% в пределах 30 мин, как оценено стандартным способом фармакопеи, как определено фармакопеей США (USP), общая глава <711>.

8. Композиция по любому из пп.6, 7, где указанный по меньшей мере один разбавитель выбран из микрокристаллической целлюлозы, лактозы, маннитола и сахаров, таких как лактоза, сахароза, декстроза и мальтодекстрин, необязательно дополнительно содержащая по меньшей мере один разрыхлитель, выбранный из поперечно сшитого поливинилпирролидона (кросповидона), натрий-крахмалгликолята, поперечно сшитой натрий-карбоксиметилцеллюлозы (кроскармелоза натрия) или прежелатинизированного крахмала.

9. Композиция по любому из пп.6-8, где твердую лекарственную форму покрывают пленкой.

10. Композиция по любому из пп.6-9, дополнительно содержащая кислоту, имеющую рК1 больше чем 1,5, где кислота необязательно выбрана из maleиновой кислоты, фосфорной кислоты, аскорбиновой кислоты, сорбиновой кислоты, аспарагиновой кислоты и сиаловой кислоты.

11. Композиция по п.10, дополнительно содержащая носитель, выбранный из маннитола, целлюлозного материала, крахмала или их смесей.

12. Композиция по любому из пп.6-11, характеризующаяся тем, что указанная композиция содержит частицы, из которых более чем 10% имеют размер частиц больше чем 10 мкм.

13. Композиция по любому из пп.6-11, содержащая носитель, имеющий форму частиц, которая препятствует включению воды, такой как Elcema ТМ, этилцеллюлоза, маннитол или крахмал 1500 ТМ.

14. Способ получения фармацевтической композиции, включающий смешивание соединения по любому из пп.1-4 и фармацевтически приемлемого носителя или разбавителя.

15. Способ по п.14, где способ включает сухое прессование тонко перемешанной порошковой смеси, содержащей соединение по любому из пп.1-4, по меньшей мере с одним разбавителем, пригодным для сухого прессования, и необязательно одним или более другими вспомогательными веществами, где:

(i) данный способ включает способ сухого гранулирования, где указанное соединение, по меньшей мере один разбавитель и необязательные вспомогательные вещества получают в виде прессованной массы, измельчают и затем прессуют, применяя таблеточную машину; или

(ii) данный способ включает способ прямого прессования, где указанное соединение, по меньшей мере один разбавитель и необязательные вспомогательные вещества смешивают вместе в виде твердых частиц, получая указанную тонкоперемешанную смесь, и затем прессуют, применяя таблеточную машину, где указанный по меньшей мере один разбавитель необязательно выбран из микрокристаллической

целлюлозы, лактозы, маннитола, кальциевых солей, таких как гидрофосфат дикальция, сульфат кальция, карбонат кальция, и сахаров, таких как лактоза, сахароза, декстроза и мальтодекстрин, и где указанный по меньшей мере один разбавитель необязательно представляет собой гранулированный продукт, полученный способом влажного гранулирования одного или более вспомогательных веществ, включающим стадию гранулирования влажной массы одного или более вспомогательных веществ с применением гранулирующей жидкости и сушку с получением указанного гранулированного продукта.

16. Способ по любому из пп.14 или 15, дополнительно включающий стадию нанесения пленочного покрытия на полученные в результате таблетки.

17. Применение соединения по любому из пп.1-4 в способе лечения или профилактики заболевания человека или млекопитающего, где заболевание представляет собой заболевание белковой агрегации.

18. Применение по п.17, где заболевание представляет собой TDP-43 протеинопатию.

19. Применение по п.17, где заболевание представляет собой таупатию.

20. Применение по п.19, где таупатия представляет собой болезнь Альцгеймера (AD), болезнь Пика, прогрессирующий надъядерный паралич (PSP), фронтотемпоральную деменцию (FTD), FTD с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17 (FTDP 17), синдром лобно-височной лобарной дегенерации (FTLD); комплекс расторможенность-деменция-паркинсонизм-амиотрофия (DDPAC), паллидо-понтонигральную дегенерацию (PPND), гуам-ALS синдром, паллидо-нигро-льеисовую дегенерацию (PNLD), кортикобазальную дегенерацию (CBD), деменцию с аргирофильными волокнами (AgD), деменцию боксеров (DP) или хроническую травматическую энцефалопатию (СТЕ), синдром Дауна (DS), деменцию с тельцами Леви (DLB), подострый склерозирующий панэнцефалит (SSPE), мягкое когнитивное расстройство (MCI), болезнь Ниманна-Пика типа С (NPC), синдром Санфилиппо типа В (или мукополисахаридоз III В (MPS III В)), миотоническую дистрофию (DM), DM1 или DM2 или амиотрофический латеральный склероз (ALS).

21. Применение по п.20, где заболевание представляет собой болезнь Альцгеймера.

22. Применение по п.17, где заболевание представляет собой болезнь Паркинсона.

23. Применение по п.17, где заболевание представляет собой PSP, ALS или FTLD.

24. Применение по п.17, где заболевание представляет собой полиглутаминовое расстройство.

25. Применение по п.17, где заболевание представляет собой болезнь Хаттингтона, спинальную и бульбарную мышечную атрофию, дентато-рубродо-паллидо-льеисову атрофию или спинально-церебеллярную атаксию.

26. Применение соединения по любому из пп.1-4 в способе лечения или профилактики заболевания человека или млекопитающего, где заболевание представляет собой рак кожи или меланому или вирусное, бактериальное или протозойное заболевание.

27. Применение по п.26, где вирусное, бактериальное или протозойное заболевание выбрано из гепатита С, ВИЧ, вируса Западного Нила (WNV) и малярии.

28. Применение по любому из пп.17-27 в виде фармацевтической композиции, включающей соединение и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

29. Применение соединения или композиции по любому из пп.1-4 для производства лекарственного средства для применения в лечении или профилактике заболевания человека или животного, где заболевание представляет собой заболевание белковой агрегации.

30. Применение по п.29, где заболевание представляет собой TDP-43 протеинопатию.

31. Применение по п.29, где заболевание представляет собой таупатию.

32. Применение по п.31, где таупатия представляет собой болезнь Альцгеймера (AD), болезнь Пика, прогрессирующий надъядерный паралич (PSP), фронтотемпоральную деменцию (FTD), FTD с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17 (FTDP 17), синдром лобно-височной лобарной дегенерации (FTLD); комплекс расторможенность-деменция-паркинсонизм-амиотрофия (DDPAC), паллидо-понтонигральную дегенерацию (PPND), гуам-ALS синдром, паллидо-нигро-льеисовую дегенерацию (PNLD), кортикобазальную дегенерацию (CBD), деменцию с аргирофильными волокнами (AgD), деменцию боксеров (DP) или хроническую травматическую энцефалопатию (СТЕ), синдром Дауна (DS), деменцию с тельцами Леви (DLB), подострый склерозирующий панэнцефалит (SSPE), мягкое когнитивное нарушение (MCI), болезнь Ниманна-Пика типа С (NPC), синдром Санфилиппо типа В (или мукополисахаридоз III В (MPS III В)), или миотоническую дистрофию (DM), DM1 или DM2, или амиотрофический латеральный склероз (ALS).

33. Применение по п.32, где заболевание представляет собой болезнь Альцгеймера.

34. Применение по п.29, где заболевание представляет собой болезнь Паркинсона.

35. Применение по п.29, где заболевание представляет собой PSP, ALS или FTLD.

36. Применение по п.29, где заболевание представляет собой полиглутаминовое расстройство.

37. Применение по п.29, где заболевание представляет собой болезнь Хаттингтона, спинальную и бульбарную мышечную атрофию, дентато-рубродо-паллидо-льеисову атрофию или спинально-церебеллярную атаксию.

38. Применение соединения по любому из пп.1-4 для получения лекарственного средства для применения в способе лечения или профилактики заболевания человека или млекопитающего, где заболева-

ние представляет собой рак кожи или меланому или вирусное, бактериальное или протозойное заболевание.

39. Применение по п.38, где вирусное, бактериальное или протозойное заболевание выбрано из гепатита С, ВИЧ, вируса Западного Нила (WNV) и малярии.

40. Применение по любому из пп.29-39 в виде фармацевтической композиции, включающей соединение и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

41. Способ лечения или профилактики заболевания у субъекта, включающий введение субъекту профилактически или терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-13, где заболевание представляет собой заболевание белковой агрегации.

42. Способ по п.41, где заболевание представляет собой TDP-43 протеинопатию.

43. Способ по п.41, где заболевание представляет собой таупатию.

44. Способ по п.43, где заболевание представляет собой таупатию, необязательно выбранную из следующей группы: болезнь Альцгеймера (AD), болезнь Пика, прогрессирующий надъядерный паралич (PSP), фронтотемпоральная деменция (FTD), FTD с паркинсонизмом, связанным с хромосомой 17 (FTDP 17), синдром лобно-височной лобарной дегенерации (FTLD); комплекс расторможенность-деменция-паркинсонизм-амиотрофия (DDPAC), паллидо-понтонигральная дегенерация (PPND), гуам-ALS синдром, паллидо-нигро-люисовая дегенерация (PNLD), кортикобазальная дегенерация (CBD), деменция с аргирофильными волокнами (AgD), деменция боксеров (DP) или хроническая травматическая энцефалопатия (СТЕ), синдром Дауна (DS), деменция с тельцами Леви (DLB), подострый склерозирующий панэнцефалит (SSPE), мягкое когнитивное нарушение (MCI), болезнь Ниманна-Пика типа С (NPC), синдром Санфилиппо типа В (или мукополисахаридоз III В (MPS III В)), или миотоническая дистрофия (DM), DM1 или DM2, или амиотрофический латеральный склероз (ALS).

45. Способ по п.44, где заболевание представляет собой болезнь Альцгеймера.

46. Способ по п.41, где заболевание представляет собой болезнь Паркинсона.

47. Способ по п.41, где заболевание представляет собой PSP, ALS или FTLD.

48. Способ по п.41, где заболевание представляет собой полиглутаминовое расстройство.

49. Способ по п.41, где заболевание представляет собой болезнь Хаттингтона, спинальную и бульбарную мышечную атрофию, дентато-рубродо-паллидо-люисову атрофию или спинально-церебеллярную атаксию.

50. Способ лечения или профилактики заболевания у субъекта, включающий введение субъекту профилактически или терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-14, где заболевание представляет собой рак кожи или меланому или вирусное, бактериальное или протозойное заболевание.

51. Способ по п.50, где вирусное, бактериальное или протозойное заболевание выбрано из гепатита С, ВИЧ, вируса Западного Нила (WNV) и малярии.

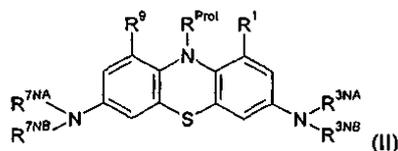
52. Способ по любому из пп.41-51 в виде фармацевтической композиции, включающей соединение и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

53. Способ обращения и/или ингибирования агрегации белка, включающий контакт белка с эффективным количеством соединения или композиции по любому из пп.1-13, в котором агрегация необязательно связана с заболеванием, включающий стадию введения нуждающемуся в данном лечении млекопитающему профилактически или терапевтически эффективного количества указанного соединения или композиции.

54. Способ дезактивации патогена в образце, включающий стадии введения соединения по любому из пп.1-4 в образец и затем воздействия на образец светом.

55. Способ получения соединения по любому из пп.1-4 из N-защищенного 3,7-диамино-10Н-фенотиазина, включающий стадии деблокирования кольцевой аминогруппы (DP) и образования соли (SF).

56. Способ по п.55, где N-защищенный 3,7-диамино-10Н-фенотиазин представляет собой соединение формулы (II)



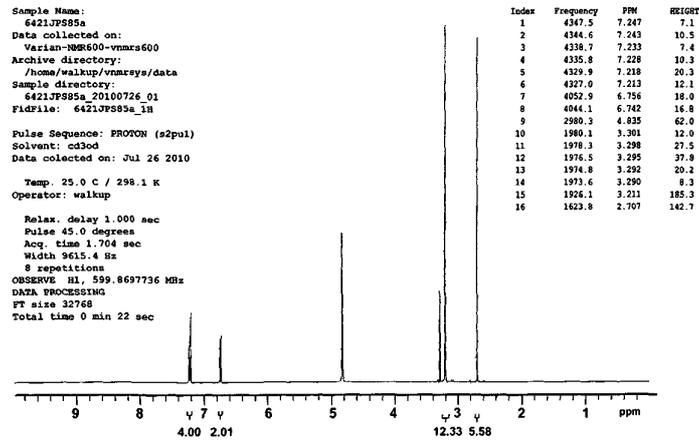
где R^{Prot} представляет собой защитную группу аминогруппы и каждый из R^1 и R^9 представляет собой -H;

каждый из R^{3NA} , R^{3NB} , R^{7NA} , R^{7NB} представляет собой метил;

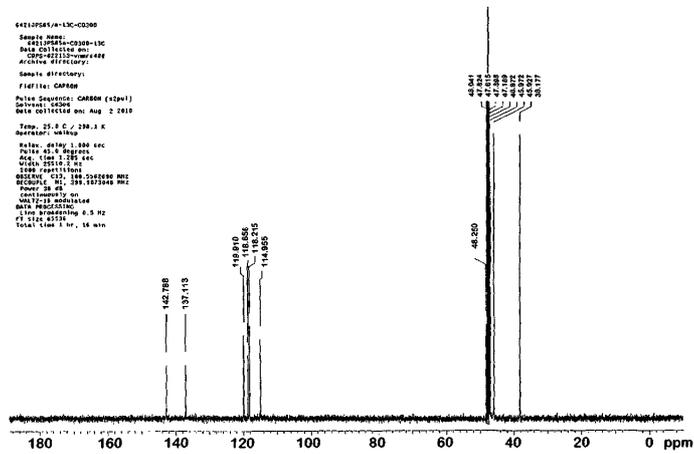
R^{Prot} представляет собой ацил.

57. Способ по любому из пп.55 или 56, где деблокирование кольцевой аминогруппы (DP) и образование соли (SF) проводят одновременно и деблокирование кольцевой аминогруппы (DP) и образование соли (SF) необязательно включают обработку N-защищенного 3,7-диамино-10Н-фенотиазина по мень-

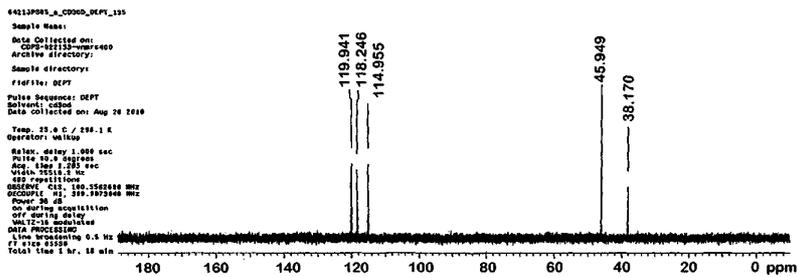
шей мере одной сульфокислотой, такую как обработка метансульфокислотой и водой, в органическом растворителе с получением бис-(метансульфонатной) соли.



Фиг. 1

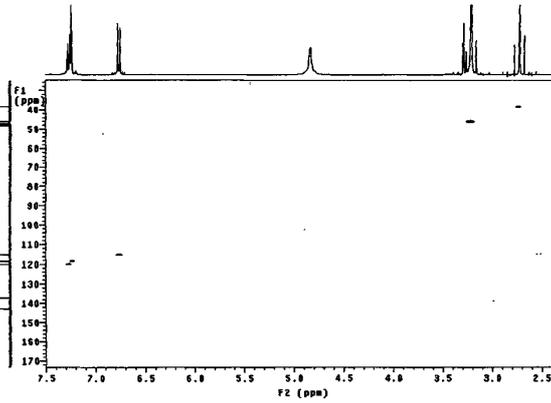


Фиг. 2



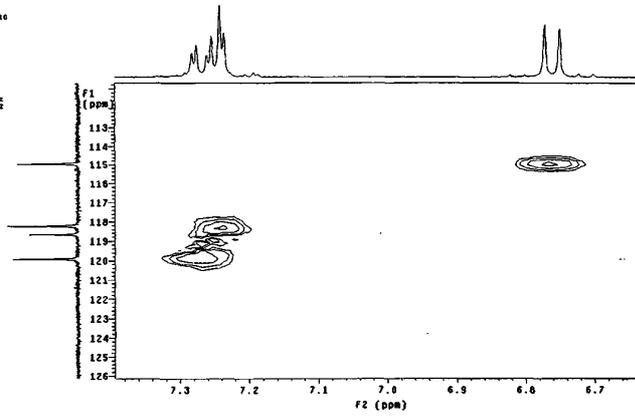
Фиг. 3

Sample Name: 6421JPS5a_C0300-1H
 Data Collection on: 08/28/2010
 Archive directory:
 Sample directory:
 File(s): gmsqca
 Pulse Sequence: gmsqca
 Solvent: cdcl3
 Data collected on: Aug 28 2010
 Temp: 25.0 C / 298.1 K
 Operator: wslup
 Relax delay: 1.000 sec
 Acq. time: 0.150 sec
 Width: 6510.0 Hz
 2D width: 3210.0 Hz
 # repetitions: 4
 2D increments: 2
 OSCILLATE: ON 100.625350 MHz
 WIDEN: OFF 100.625350 MHz
 Power: 12.00
 on during acquisition
 off during delay
 use: 2200000000
 DATA PROCESSING
 F2 axis resolution: 0.049 sec
 F1 axis resolution: 0.012 sec
 #1 title: 298.1 K 2D
 Total time: 41 min

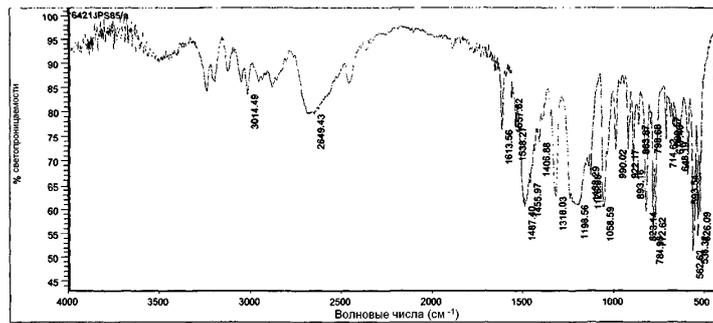


Фиг. 4

Sample Name: 6421JPS5a_C0300-1H
 Data Collection on: 08/28/2010
 Archive directory:
 Sample directory:
 File(s): gmsqca
 Pulse Sequence: gmsqca
 Solvent: cdcl3
 Data collected on: Aug 28 2010
 Temp: 25.0 C / 298.1 K
 Operator: wslup
 Relax delay: 1.000 sec
 Acq. time: 0.150 sec
 Width: 6510.0 Hz
 2D width: 3210.0 Hz
 # repetitions: 4
 2D increments: 2
 OSCILLATE: ON 100.625350 MHz
 WIDEN: OFF 100.625350 MHz
 Power: 12.00
 on during acquisition
 off during delay
 use: 2200000000
 DATA PROCESSING
 F2 axis resolution: 0.049 sec
 F1 axis resolution: 0.012 sec
 #1 title: 298.1 K 2D
 Total time: 41 min



Фиг. 5



Mon May 03 00:42:11 2010

FIND PEAKS:
 Spectrum: 6421JPS5a
 Region: 4000.00 400.00
 Absolute threshold: 84.166
 Sensitivity: 50
 Peak list:

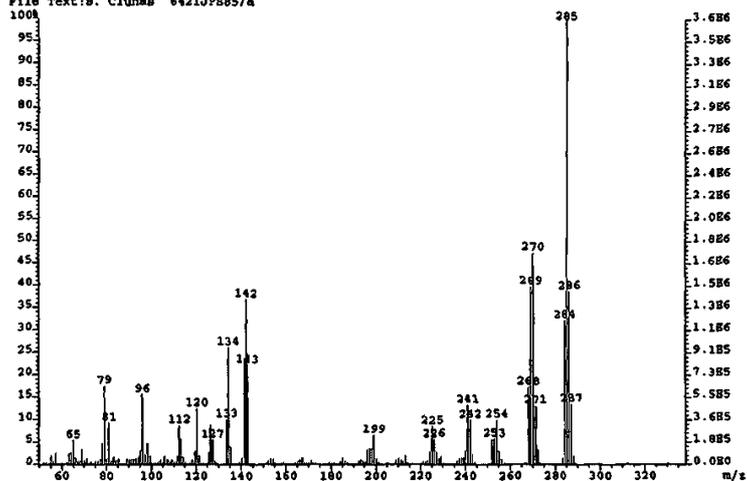
Position	Intensity
526.09	59.305
536.32	54.573
562.82	51.500
593.54	67.112
648.19	73.812
617.40	77.342
690.57	78.882

gms
 20th Jun 2010
 [Nicolet IR100]

Фиг. 6

025033

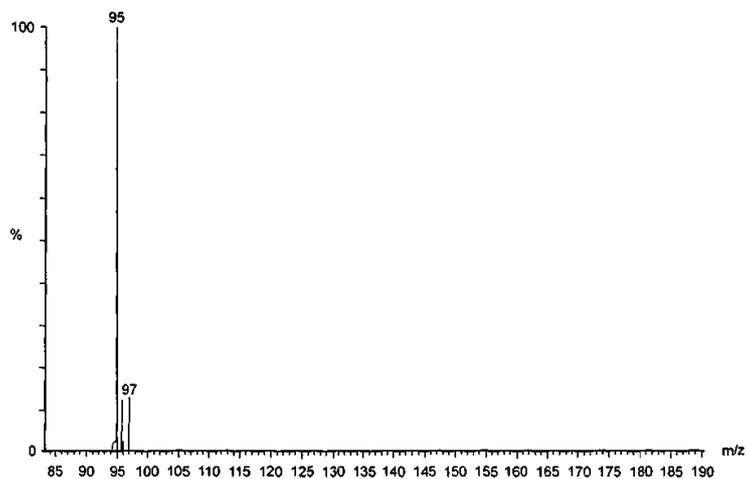
File: 26ABRDER02 Ident: 34+35 Mer Def 0.25 Acq: 2-JUL-2010 15:51:11 +1:40 Cal: PFK250610A
AutoSpec EI+ Magnet BpM: 285 BpI: 3649536 TIC: 27582534 Plage: HALL
File Text: S. Clunas 6421JPS85/a



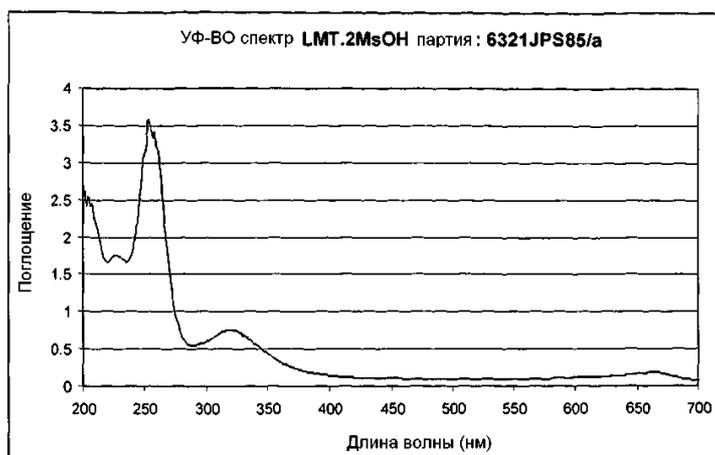
Фиг. 7

S. Clunas 6421JPS85/a
26abrd9en01 23 (0 421) Cm (2 30)

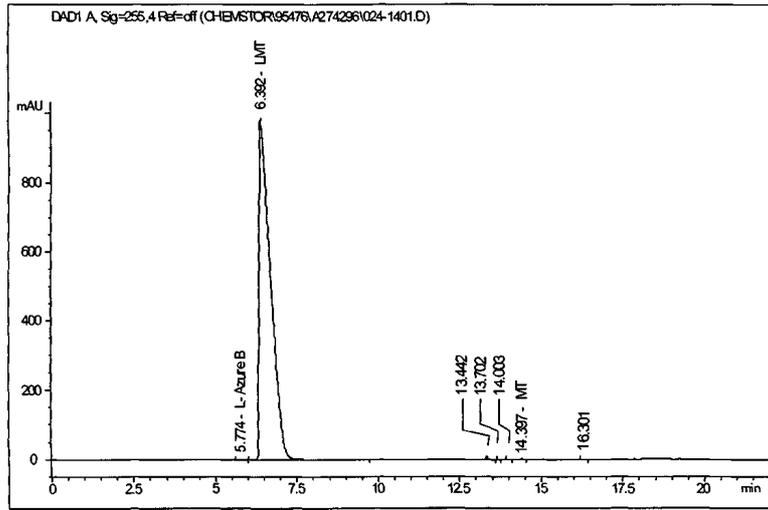
02-Jul-2010
TOF MS ES-
7 30e4



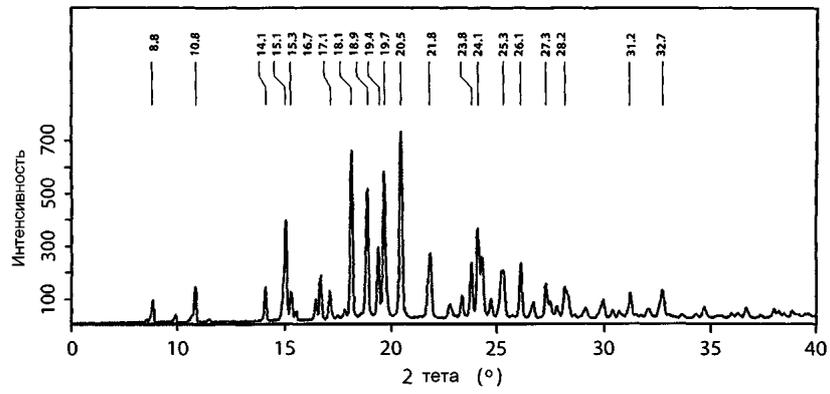
Фиг. 8



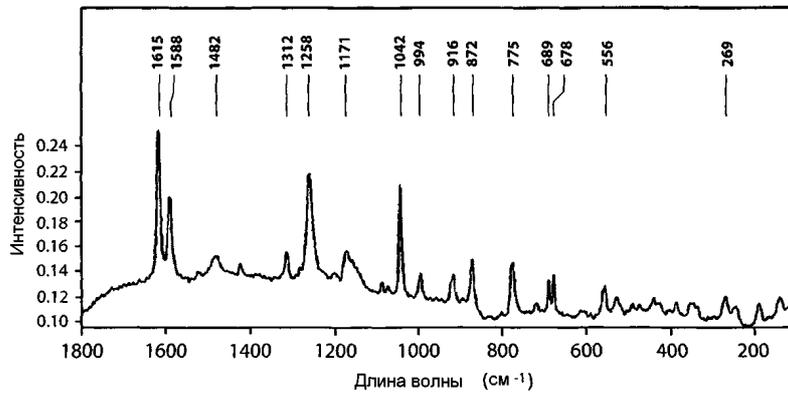
Фиг. 9



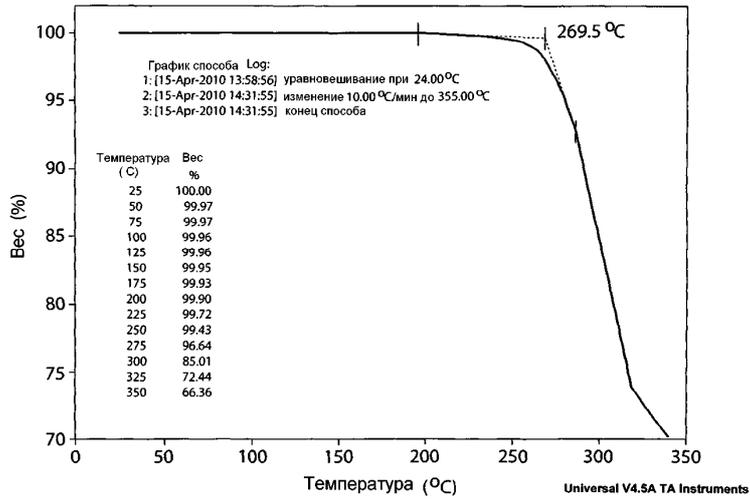
Фиг. 10



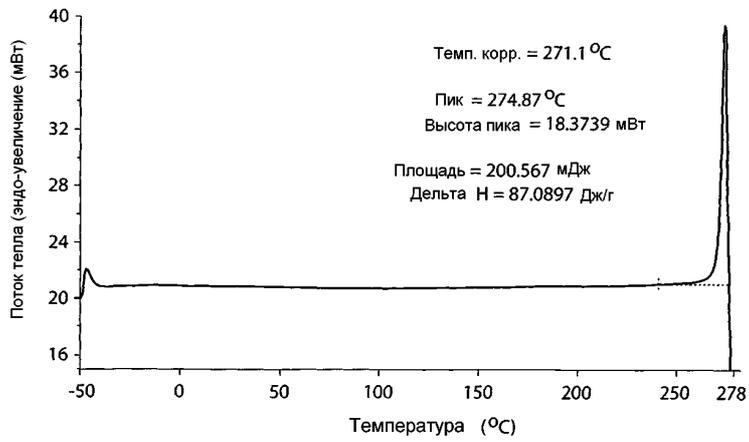
Фиг. 11



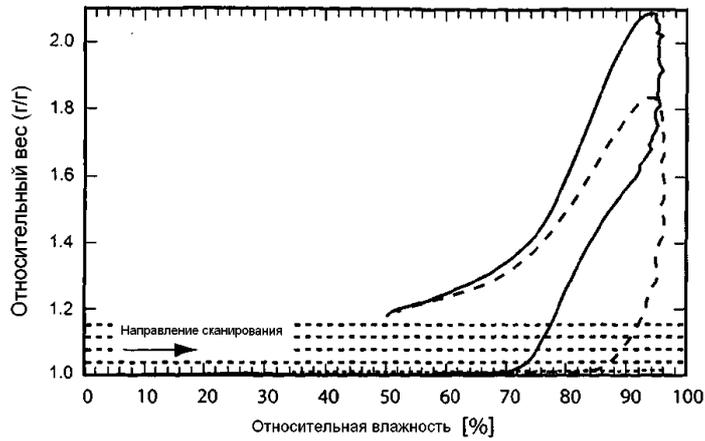
Фиг. 12



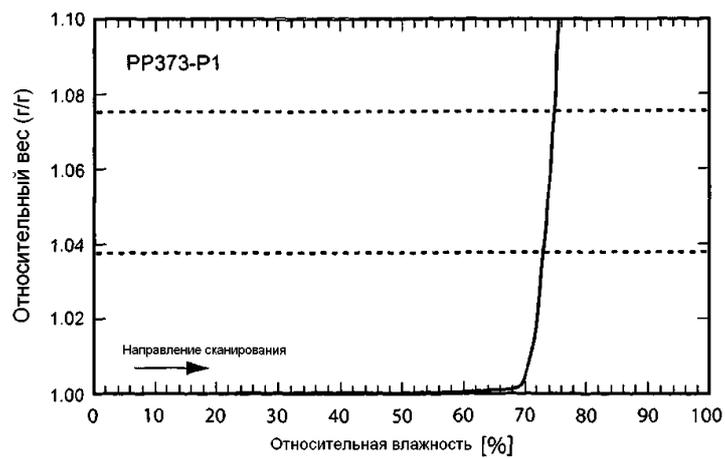
Фиг. 13



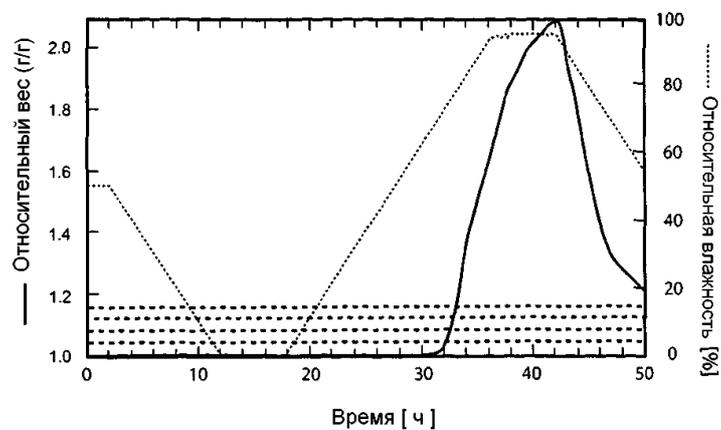
Фиг. 14



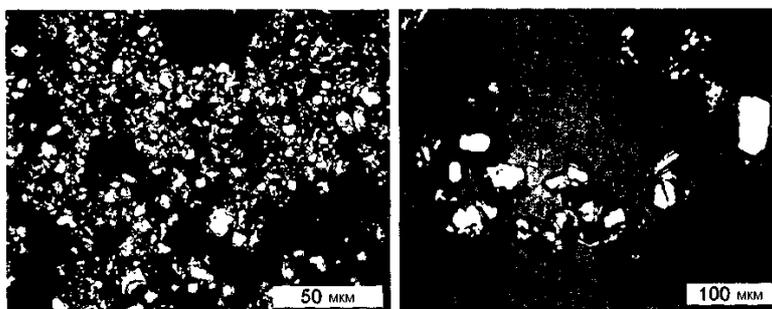
Фиг. 15а



Фиг. 15b

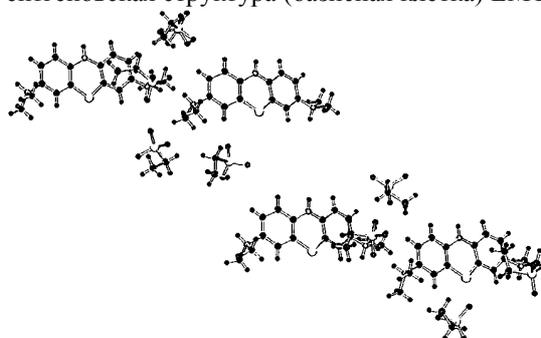


Фиг. 15c



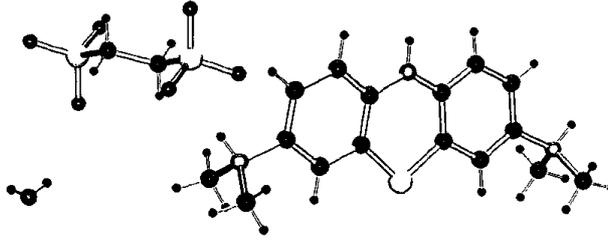
Фиг. 16

Рентгеновская структура (базисная клетка) LMTE



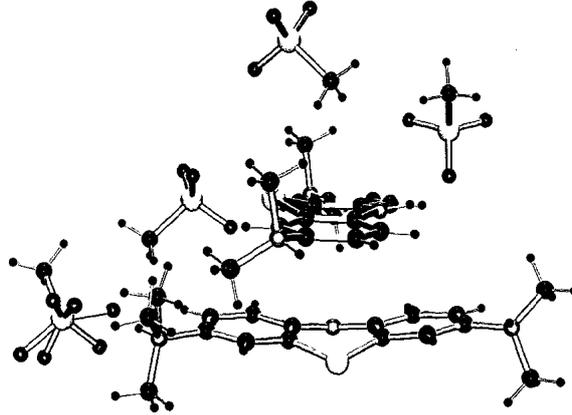
Фиг. 17a

Рентгеновская структура (базисная клетка) LMT.EDSA

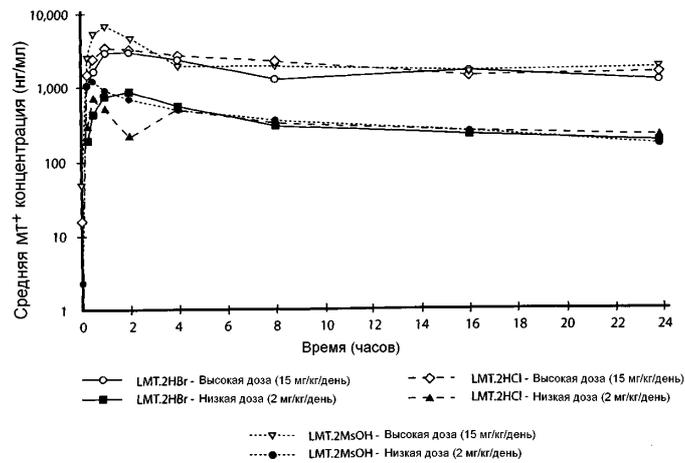


Фиг. 17b

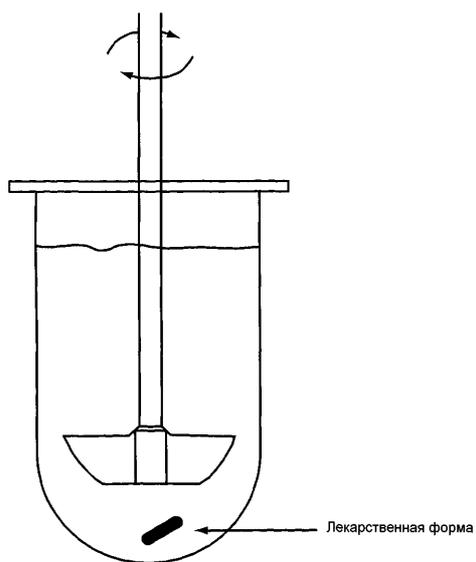
Рентгеновская структура (базисная клетка) LMTM



Фиг. 17с



Фиг. 18



Фиг. 19