



No. 13-173187- -00000-0000

Fecha: 2013-07-22 16:25:40 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios AS



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION

TITULO: INHIBIDORES SELECTIVOS DE LA GLICOSIDASA Y USOS DE LOS
MISMOS.

SOLICITANTE: ALECTOS THERAPEUTICS, INC. / MERCK SHARP & DOHME
CORP.

DIRECCIÓN: 8999 Nelson Way Burnaby, British Columbia V5A 4B5, Canadá
/ 126 East Lincoln Avenue, Rahway, New Jersey 07065-0907. Estados Unidos
de América.

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 22 de Julio de 2013

P2013/000119



No. 13-173187- -00000-0000

Fecha: 2013-07-22 16:25:40 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 45

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD

PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2013/000119

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)Nombre: ALECTOS THERAPEUTICS, INC. /
MERCK SHARP & DOHME CORP.

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA.

Lugar de Constitución: VER PAGINA ADJUNTA

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá,
Colombia

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799

E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79.782.747Bta

TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA.

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA.

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/CA2011/001397 Fecha Diciembre 21, 2011

Publicación Internacional No. WO 2012/083435 A1 Fecha Junio 28, 2012

6

Título (54) INHIBIDORES SELECTIVOS DE LA GLICOSIDASA Y USOS DE LOS
MISMOS.

Clasificación Internacional (51) C07H 9/06; A61K 31/7056, C07D 513/04; C12Q 1/34.

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

US

CN

US

(32) Fecha

Diciembre 23, 2010

Mayo 24, 2011

Julio 14, 2011

(31) Número de Solicitud

61/426,773

PCT/CN2011/074569

61/507,684

9

Comprobante de pago No. 13-

Fecha

10

ANEXOS☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☐

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

☒

Poderes, si fuere el caso.

☐

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.

☐

Declaraciones. Declaración bajo la Regla 4.17 (ii) del PCT.

☒

Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒

Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒

Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☐

Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.

☐

De ser el caso, copia del contrato de acceso.

☐

De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.

☐

De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.

☐

Arte final 12 x 12.

☐

De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.

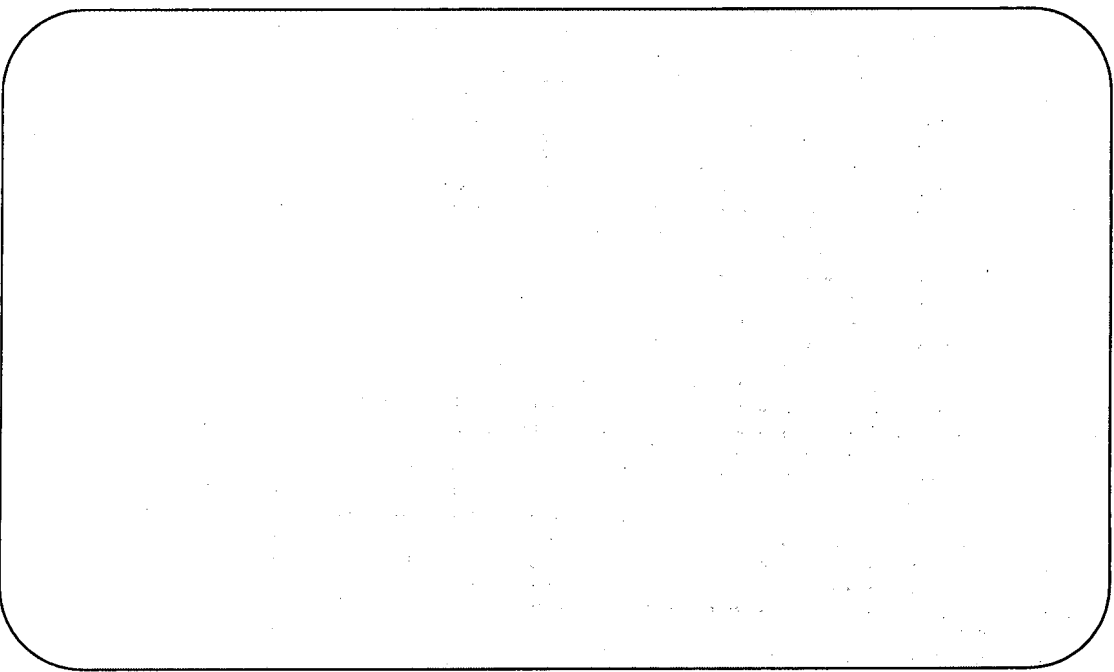
☐

De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

☒

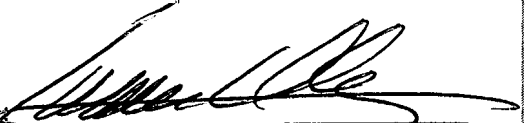
Otros. Búsqueda Internacional

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:

12

Solicitó la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTEFIRMA: C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

SOLICITANTES

PCT/CA2011/001397

ALECTOS THERAPEUTICS, INC.

8999 Nelson Way
Burnaby, British Columbia V5A 4B5
Canadá

MERCK SHARP & DOHME CORP.

126 East Lincoln Avenue
Rahway, New Jersey 07065
Estados Unidos de América.

LISTA DE INVENTORES

PCT/CA2011/001397

KAUL, Ramesh

8999 Nelson Way
Burnaby, British Columbia V5A 4B5
Canadá
Nacionalidad: Canadiense

MCEACHERN, Ernest J.

8999 Nelson Way
Burnaby, British Columbia V5A 4B5
Canadá
Nacionalidad: Canadiense

MU, Changwei

No. 18, South Xihuan Road, BDA
Beijing 100176
China
Nacionalidad: China

4

SELNICK, Harold G.

770 Sumneytown Pike
West Point, Pennsylvania 19486
Estados Unidos de América
Nacionalidad: Estadounidense

VOCADLO, David J.

8999 Nelson Way
Burnaby, British Columbia V5A 4B5
Canadá
Nacionalidad: Canadiense

WANG, Yaode

No. 18, South Xihuan Road, BDA
Beijing 100176
China
Nacionalidad: China

WEI, Zhongyong

No. 18, South Xihuan Road, BDA
Beijing 100176
China
Nacionalidad: Canadiense

ZHOU, Yuanxi

8999 Nelson Way
Burnaby, British Columbia V5A 4B5
Canadá
Nacionalidad: Canadiense

ZHU, Yongbao

8999 Nelson Way
Burnaby, British Columbia V5A 4B5
Canadá
Nacionalidad: Canadiense

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 13 - 0067430
		Bogotá D.C., Julio 08 de 2013 - 16:25:10

RECIBIDO DE : OLARTE MOURE & ASOCIADOS					NI 830.122.870	
*** Soporte del Pago ***						
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO	
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	559230431	08/07/2013	5.050.000.00	

*** Conceptos Pagados ***				
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	114 PTC CAP-II EXAMEN DE PATENTIBILIDAD DE INVERSION	505.000.00	505.000.00
				\$505.000.00
=====				

SON: **QUINIENTOS CINCO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable:  _____
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-173187- -00000-0000
Fecha: 2013-07-22 16:25:40 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 



No. 13-173187- -00000-0000

Fecha: 2013-07-22 16:25:40

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 4/5

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE U

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☐	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☒	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☒	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐



2552

ESCRITURA PUBLICA NÚMERO: (2552) -----
DOS MIL QUINIENTOS CINCUENTA Y DOS -----

FECHA DE OTORGAMIENTO: VEINTINUEVE (29) -----
DE MARZO DE DOS MIL DOCE (2012) -----

NOTARIA TREINTA Y OCHO (38) DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ D.C.-----

CODIGO NOTARIAL 1100100038.-----

SUPERINTENDENCIA DE NOTARIADO Y REGISTRO.-----

FORMULARIO DE CALIFICACION.-----

CLASE DE ACTO: PROTOCOLIZACION DE DOCUMENTOS.-----

PERSONAS QUE INTERVIENEN: CARLOS REINALDO OLARTE, identificado con la cédula de ciudadanía número 79.782.747 expedida en Bogotá, en representación de la sociedad ALECTOS THERAPEUTICS INC.-----

En la ciudad de Bogotá, Distrito Capital, Departamento de Cundinamarca, República de Colombia, a los VEINTINUEVE (29) días del mes de MARZO --- de Dos mil doce (2.012), ante mí MONICA ZULMA BAUTISTA NAVARRO -----

NOTARIO TREINTA Y OCHO (38 E) DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C.-----

Comparecieron: CARLOS REINALDO OLARTE, mayor de edad, con domicilio y residencia en la ciudad de Bogotá, identificado con la cédula de ciudadanía número 79.782.747 expedida en Bogotá, quien obra en nombre y representación de la sociedad ALECTOS THERAPEUTICS INC., en su calidad de Apoderado General y quien manifestó su propósito de celebrar el acto que define las estipulaciones siguientes:-----

PRIMERA.- Que presentan para su Protocolización los siguientes documentos:-----

1. PODER GENERAL CONFERIDO POR ALECTOS THERAPEUTICS INC, A EL SEÑOR CARLOS R. OLARTE y/o JUAN GUILLERMO MOURE, DE FECHA PRIMERO (1º) DE FEBRERO DE DOS MIL DOCE (2.012), DEBIDAMENTE LEGALIZADO POR EL NOTARIO PUBLICO DE LA CIUDAD DE TORONTO EN LA PROVINCIA DE ONTARIO, Y CON SU RESPECTIVA TRADUCCION DE FECHA PRIMERO (1º) DE FEBRERO DE DOS MIL DOCE (2.012)-----
2. CERTIFICACION NOTARIAL DE FECHA QUINCE (15) DE FEBRERO DE DOS MIL DOCE (2.012) EXPEDIDA POR EL NOTARIO PUBLICO GORDON JOHN-----

ZIMMERMAN, NOTARIO PUBLICO DE LA PROVINCIA DE ONTARIO,-----

SEGUNDA.- Que de conformidad con lo expuesto y atendiendo a las prescripciones del artículo 47 del Decreto 960 de 1970, los documentos mencionados, contenidos en Ocho (08) Folios Útiles, quedan legalmente protocolizados ante el Notario Treinta y Ocho (38) del Círculo Bogotá, de manera que desde ahora quedan bajo su custodia y guarda para que surtan los efectos legales a que haya lugar y los interesados puedan consultarlos y obtener las copias que de él solicite.-----

HASTA AQUÍ EL CONTENIDO DE LA MINUTA

ADVERTENCIA PARA TODOS LOS COMPARECIENTES QUE EXTIENDAN Y OTORGUEN INSTRUMENTOS, SEGÚN ART. 34 C.N., LEY 190 DE 1995, LEY 333 DE 1996 Y LEY 365 DE 1997. Los comparecientes bajo la gravedad del juramento manifiestan clara y expresamente que todos los dineros, bienes muebles e inmuebles contenidos en este instrumento fueron adquiridos por medios y actividades lícitas. Así como el dinero con el que se efectúa el pago de los gastos notariales.-----

SE ADVIRTIÓ al(a los) otorgante(s) de esta escritura de la **obligación que tiene(n) de leer la totalidad de su texto**, a fin de verificar la exactitud de todos los datos en ella consignados con el fin de aclarar, modificar o corregir lo que le(s) pareciere; la firma de la misma demuestra su aprobación total del texto.-----

Se advierte igualmente la necesidad de diligenciar los espacios en blanco correspondientes a la información personal y de trabajos consignados en el espacio destinado para la firma de los suscriptores del instrumento público, con el objeto de confrontar la información solicitada con el contenido de la escritura previo a la autorización de la misma.-----

En consecuencia, la notaria no asume ninguna responsabilidad por error o inexactitudes establecidas con posterioridad a la firma del(los) otorgante(s) y del notario.-----

En tal caso, de la existencia de estos, deben ser corregidos mediante el otorgamiento de una nueva escritura, suscrita por el(los) que intervino(eron) en la inicial y sufragada por el(ellos) mismo(s). (Artículo 35 decreto ley 960 de 1.970).--

OTORGAMIENTO Y AUTORIZACIÓN: Leído el presente instrumento por el otorgante y advertido de su registro dentro del término de ley, estuvo de acuerdo



Pág. No 3

2552



con él lo aceptó en la forma como está redactado y en testimonio de que le da su asentimiento y aprobación lo firma por ante mí y conmigo el notario que de todo lo expuesto doy fe y por ello lo autorizo. **CONSTANCIA: EL PRESENTE INSTRUMENTO SE EXTIENDE EN LAS SIGUIENTES HOJAS DE PAPEL NOTARIAL No.*******

7700182569502- 569519- - - - -

RETENCIÓN EN LA FUENTE. ARTÍCULOS 20 y 64 LEY 0075 de 1986.

.....\$ EXENTO - - - - -

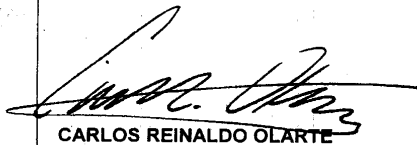
DERECHOS NOTARIALES \$45.320 - - - - -

SUPERINTENDENCIA \$4.250 - - - - -

FONDO NACIONAL DEL NOTARIADO \$4.250 - - - - -

IVA \$15.200 - - - - -

DECRETO 1681 DE SEPTIEMBRE 16 DE 1.996 y modificado por el DECRETO 3432 DEL 19 DE SEPTIEMBRE DE 2011 y RESOLUCIÓN 11439 DE DICIEMBRE 29 DE 2.011. - - - - -





CARLOS REINALDO OLARTE

C.C. No. 79.782.747

Quien obra en Nombre y Representación de **ALECTOS THERAPEUTICS INC**

DIRECCIÓN OFICINA: CRA 5 N°34-03

TELEFONO OFICINA: 601-7700

CELULAR: 315 7901625.

EL (LA) NOTARIO(A) TREINTA Y OCHO (38 E)
DEL CIRCULO DE BOGOTA, D.C.

MONICA ZULMA BAUTISTA NAVARRO.
SCBF



WAN-STRAHLEN

MA
M.I.M.

2552

Este documento público es una traducción al español de un documento en idioma inglés
presentado ante mí.

ROBERTO M. OLARTE GARCÍA
Traductor e Intérprete Oficial
Ministerio de Justicia
Licencia 0041/1996

ROBERTO M. OLARTE GARCÍA
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0041
Minjusticia 1996

ONTARIO

MINISTERIO DE GOBIERNO

POR MEDIO DEL PRESENTE, CERTIFICO LO SIGUIENTE:

GORDON JOHN ZIMMERMAN

de la Provincia de Ontario, cuyo nombre está suscrito en el instrumento adjunto, era en el momento de suscribir este instrumento NOTARIO PÚBLICO para la Provincia de Ontario, Canadá, debidamente comisionado y debidamente autorizado según las leyes de Ontario para tomar juramentos y declaraciones y para certificar escrituras y otros instrumentos escritos para su posterior registro en dicha Provincia.

CERTIFICO ADICIONALMENTE QUE he comparado la firma de dicho NOTARIO PÚBLICO suscrita en el instrumento adjunto con la firma de dicho NOTARIO PÚBLICO la cual reposa en este despacho y sinceramente creo que la firma es genuina; y QUE he comparado la impresión del sello de dicho NOTARIO PÚBLICO que aparece en el instrumento adjunto con el sello que reposa en este despacho y creo sinceramente que la impresión del sello es genuino.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL me suscribo y coloco el sello del Ministerio de Gobierno de la Provincia de Ontario en la ciudad de Toronto en dicha provincia este quince de febrero de 2012, D.C.

(Firma ilegible)

MINISTRO DE GOBIERNO



2552

CERTIFICADO NOTARIAL

CANADÁ

PROVINCIA DE ONTARIO

Yo, **GORDON JOHN ZIMMERMAN**, Notario Público para la Provincia de Ontario mediante Autoridad Real debidamente nombrado y con domicilio en la Ciudad de Toronto, en la Provincia de Ontario, por medio de la presente certifico que los documentos adjuntos son una fiel copia del documento que parece ser:

Poder de Alectos Therapeutics Inc. a nombre de Carlos R. Olarte y/o Juan Guillermo Moure, de manera conjunta o por separado, con fecha 1 de febrero de 2012.

Dicha copia fue comparada por mí con el documento original, según solicitud, y me suscribo y coloco el sello de mi despacho, y se expide (la presente) para los fines que el interesado estime convenientes.

En la ciudad de Toronto este día 15 de febrero de 2012.

(firma ilegible)

GORDON JOHN ZIMMERMAN

Notario Público para la Provincia de Ontario


ROBERTO M. OLARTE GARCÍA
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0041
Minjusticia 1996

2552

Poder General

Los suscritos,

ALECTOS THERAPEUTICS INC.

(EL RESTO DEL TEXTO EN ESPAÑOL)

Firma: (ilegible)

Nombre: Ernest McEachern

Fecha: 1 de febrero de 2012

Ciudad, País: Vancouver, Columbia Británica, Canadá

ROBERTO M. OLARTE GARCÍA
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0041
Minjusticia 1996



CERTIFICACIÓN NOTARIAL

2552

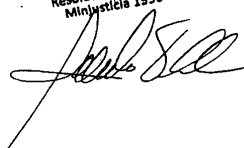
En esta fecha, 1 de febrero de 2012

(EL RESTO DEL TEXTO EN ESPAÑOL)

NOTARIO PÚBLICO (Firma): (ilegible)

Veronika Florianova
Abogado & Notario
YALETOWN LAW CORPORATION
112-1118 Homer Street
Vancouver, BC V6B 6L5
Tel. 604.558.4488

(sello ilegible)


ROBERTO M. OLARTE GARCIA
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0041
Minjusticia 1996




Ontario

MINISTRY OF GOVERNMENT SERVICES

2552

I HEREBY CERTIFY AS FOLLOWS:

GORDON JOHN ZIMMERMAN

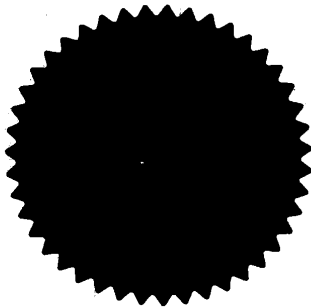
of the Province of Ontario, whose name is subscribed to the attached Instrument, was, at the time of subscribing thereto, a **NOTARY PUBLIC** in and for the Province of Ontario, Canada, duly commissioned and duly authorized by the laws thereof to administer oaths, to take affidavits and to certify the proof of deeds and other instruments in writing to be recorded within the said Province.

I FURTHER CERTIFY THAT I have compared the signature of the said **NOTARY PUBLIC** subscribed to the attached Instrument with the specimen signature of the said **NOTARY PUBLIC** filed in this office and verily believe the said signature to be genuine; and THAT I have compared the impression of the Seal of the said **NOTARY PUBLIC** appearing on the attached Instrument with the specimen of the Seal filed in this office and verily believe the impression of the Seal to be genuine.

IN TESTIMONY WHEREOF I have hereunto set
my Hand and affixed the Seal of the
Ministry of Government Services of the
Province of Ontario at the City of
Toronto in the said Province this
fifteenth day of February, A.D. 2012.

Christina Netto

for the MINISTER OF GOVERNMENT SERVICES



RECEIVED
MINISTRY OF GOVERNMENT SERVICES
FEB 15 2012

CANADA
- MINISTRE OF ONTARIO



REPUBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA

 CONSULADO
GENERAL EN
TORONTO

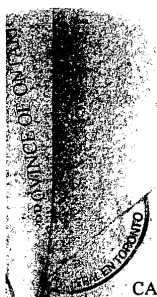
Nº..... 327

Se legaliza la firma que antecede de:
Señor(a) CHRISTINA NETTO... ORIGINAL
DEL GOBIERNO DE LA PROVINCIA DE
ONTARIO, CANADA.

Sin prejuzgar acerca de ningún otro
extremo de fondo ni de forma.

En Toronto, de... FEBRERO... de 2012

 *Marta Pardo de Mariquez*
Consul General de
Primera



NOTARIAL CERTIFICATE

CANADA)
)
PROVINCE OF ONTARIO)

I, **GORDON JOHN ZIMMERMAN**, a Notary Public in and for the Province of Ontario by Royal Authority duly appointed residing in the City of Toronto, in the Province of Ontario, do hereby certify that the paper writings annexed hereto is a true copy of the document purporting to be:

Power of Attorney on behalf of Alectos Therapeutics Inc.
to Carlos R. Olarte and/or Juan Guillermo Moure, jointly
or severally dated February 1, 2012

The said copy having been compared by me with the original document, an act whereof being request, I have granted under my notarial form and seal of office, to serve and avail as occasion shall or may require.

DATED at Toronto, this 15th day of February, 2012

GORDON JOHN ZIMMERMAN
Notary Public in and for the Province of
Ontario





OLARTEMOURE
OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

General Power of Attorney

Poder General

2552

The undersigned,

Los suscritos,

domiciled in

ALECTOS THERAPEUTICS INC.
domiciliados en

8999 Nelson Way, Burnaby, British Columbia V5A 4B5, California.

hereby appoint to **Carlos R. Olarte and/or Juan Guillermo Moure** legal representatives with faculties to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents in Patents for Inventions, Utility Models, Layout-Designs (topographies) of Integrated Circuits, Industrial Designs, Trademarks, Advertising Slogans, Trade Names, Commercial Emblems, Geographical Indications, Protection of Trade Secrets, Obtainer's Certificates, Copyrights, Registration of Domain Names, Health Registrations, or any other intellectual property right in Republic of Colombia, Republic of Costa Rica, Republic of Ecuador, Republic of El Salvador, Republic of Guatemala, Republic of Honduras, Republic of Nicaragua, Republic of Panama, Republic of Peru, Bolivarian Republic of Venezuela, to initiate before said authorities all the necessary actions to accomplish said purposes and to intervene in all instances, grades and procedural levels; to file and prosecute applications, declarations, complaints, to claim, counterclaim, answer claims and counterclaims; to make amendments; oppositions and all types of objections and writings of any nature; cancellations and administrative injunction proceedings; to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive documents and monies; act as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to request preliminary injunctions of any nature, settle, make arrangements, to submit to arbitrators, to desist from claims or procedures, to accept claims, to collect, to ratify legal proceedings subscribed before the appointment and/or presentation of this Power, substitute or delegate the legal representation and other acts prescribed by law, in short, with all such further powers as may be required; to comply with all other requirements and, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests.

nombramos por el presente a **Carlos R. Olarte y/o Juan Guillermo Moure** nuestros representantes legales con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales en Patentes de Invención, Modelos de Utilidad, Esquemas de Trazados de Circuitos Integrados, Diseños Industriales, Marcas, Lemas Comerciales, Nombres Comerciales, Enseñas Comerciales, Denominaciones de Origen, Protección de Secretos Empresariales, Certificados de Obtentor, Derechos de Autor, Registro de Nombres de Dominio, Registros Sanitarios, o cualquier otro bien de propiedad intelectual en la, República de Colombia, República de Costa Rica, República de Ecuador, República de El Salvador, República de Guatemala, República de Honduras, República de Nicaragua, República de Panamá, República de Perú, República Bolivariana de Venezuela, ya sean administrativas, judiciales o de policía, para iniciar ante dichas autoridades todas las acciones necesarias para cumplir con el objeto indicado e intervenir en todas las instancias, grados o etapas procesales; elevar y tramitar solicitudes, declaraciones y reclamos; para demandar, reconvenir, contestar demandas y reconvencciones; formular enmiendas, oposiciones y todo tipo de impugnaciones y escritos de cualquier naturaleza; instaurar cancelaciones y amparos administrativos; abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar cualquier otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores; intervenir como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo solicitar medidas cautelares de cualquier naturaleza, conciliar, transar, someter a árbitros, desistirse de la pretensión y/o el procedimiento, allanarse a la pretensión, percibir, ratificar los actos jurídicos procesales suscritos con anterioridad al otorgamiento y/o presentación del presente poder, sustituir o delegar la representación procesal y los demás actos que exprese la ley, con todas las demás facultades que resulten necesarias; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses.

Signature/Firma: *[Signature]*

Signature/Firma:

Name/Nombre: **Ernest McEachern**

Name/Nombre:

Date/Fecha: **Feb. 1, 2012**

Date/Fecha:

City/Country/Ciudad,País: **Vancouver, B.C., Canada.**

City/Country/Ciudad,País:

OLARTEMOURE
OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.



2552

MODEL OF NOTARIAL CERTIFICATION

Notarial Certification

Certificación Notarial

On this date, February 1, 2012

En esta fecha,

The undersigned Notary Public certifies:

el Notario Público suscrito certifica:

1. That Ernest John McEachern

1. Que

of legal age and domiciled in Vancouver, BC

mayor de edad y domiciliado

signed the foregoing document.

suscribió el documento que antecede.

2. That the grantor has executed the foregoing document as
of **ALECTOS THERAPEUTICS INC.**

2. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de

3. That **ALECTOS THERAPEUTICS INC.**

4. Que

having its principal place of business located in
8999 Nelson Way, Burnaby, British Columbia V5A 4B5, California.

con sede principal ubicada en

is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the General Power is granted are within the scope of its corporate purposes.

está legalmente constituida, que tiene existencia legal vigente y que los propósitos para los cuales se otorga el poder se encuentra dentro de los que comprenden su objeto social.

4. That the grantor has the authority to execute the General Power and that his/her representation is legal.

4. Que el otorgante tiene la representación para suscribir el poder, y que ésta es legítima.

5. The foundation for my certifications contained in points 2, 3 and 4 was the exhibition of the following authentic document(s):

5. El fundamento de mis certificaciones contenidas en los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición de los (del) siguiente(s) documento(s) auténtico(s):

NOTARY PUBLIC (Signature):

Veronika Florianova
Barrister & Solicitor
Yaletown Law Corporation
112-1118 Homer Street
Vancouver, BC V6B 6L5
Tel: 604.558.4488



TERCERA (3) COPIA (FOTOCOPIA) DE LA ESCRITURA
No. 2552 DE FECHA VEINTINUEVE (29) DEL MES DE MARZO
DE DOS MIL DOCE (2012) TOMADA DE SU ORIGINAL CONFORME
AL ART. 41 DEL DECRETO 2148 DE 1983, QUE SE EXPIDE EN BOGOTÁ, D.C.,
A TREINTA (30) DEL MES DE MARZO
DE DOS MIL DOCE (2012), EN OCHO (08) FOLIOS
UTILES CON DESTINO A: EL INTERESADO

RODOLFO REY BERMUDEZ
NOTARIO TREINTA Y OCHO (38)





República de Colombia

Pag. No 1



Aa005420114

ESCRITURA PÚBLICA NÚMERO:

(3244) TRES MIL DOSCIENTOS CUARENTA Y CUATRO.-----

FECHA DE OTORGAMIENTO:

(22) VEINTIDOS DE ABRIL DE DOS MIL TRECE (2013).-----

NOTARIA TREINTA Y OCHO (38) DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ D.C. -----

SUPERINTENDENCIA DE NOTARIADO Y REGISTRO.-----

CÓDIGO NOTARIAL 1100100038.-----

FORMULARIO DE CALIFICACIÓN.-----

CLASE DE ACTO: PROTOCOLIZACIÓN DE DOCUMENTOS.-----

PERSONAS QUE INTERVIENEN:-----

PERSONAS QUE INTERVIENEN: CARLOS REINALDO OLARTE, identificado con la cédula de ciudadanía número 79.782.747 expedida en Bogotá, en representación de la sociedad **MERCK SHARP & DOHME CORP.**-----

En la ciudad de Bogotá, Distrito Capital, Departamento de Cundinamarca, República de Colombia, a los VEINTIDOS (22) días del mes de ABRIL.-----

de Dos mil trece (2.013), ante mí **MONICA ZULMA BAUTISTA NAVARRO.**-----

NOTARIO TREINTA Y OCHO (38 E) DEL CIRCULO DE BOGOTA D.C.-----

Comparecieron: **CARLOS REINALDO OLARTE**, mayor de edad, con domicilio y residencia en la ciudad de Bogotá, identificado con la cédula de ciudadanía número 79.782.747 expedida en Bogotá, quien obra en nombre y representación de la sociedad **MERCK SHARP & DOHME CORP.**, en su calidad de Apoderado General y quien manifestó su propósito de celebrar el acto que define las estipulaciones siguientes:-----

PRIMERA.- Que presentan para su Protocolización los siguientes documentos:-----

1. PODER GENERAL CONFERIDO POR **MERCK SHARP & DOHME CORP**, A EL SEÑOR CARLOS R. OLARTE y/o JUAN GUILLERMO MOURE, DE FECHA VEINTE (20) DE MARZO DE DOS MIL TRECE (2.013); DEBIDAMENTE LEGALIZADO POR EL NOTARIO PUBLICO DE LA CIUDAD DE NEW YORK, Y CON SU RESPECTIVA TRADUCCION DE FECHA VEINTE (20) DE MARZO DE DOS MIL TRECE (2.013). SU RESPECTIVO APOSTILLE CON FECHA 26 DE MARZO DE 2013. CON SU TRADUCCIÓN DE LA MISMA FECHA. -----
2. CERTIFICACION NOTARIAL DE FECHA VEINTISEIS (26) DE MARZO DE DOS



República de Colombia

Papel notarial para uso exclusivo de copias de escrituras públicas, certificaciones y documentos del archivo notarial



Ca019002423

RODOLFO REV. BERMUDEZ
38

181040RECORDARY9

01/04/2013

Cadenas S.A. Nit. 900935340
Cadenas S.A. Nit. 900935340

MIL TRECE (2.013) EXPEDIDA POR EL NOTARIO PUBLICO SCOTT J. LEBSON,
NOTARIO PUBLICO DEL ESTADO DE NUEVA YORK, -----

SEGUNDA.- Que de conformidad con lo expuesto y atendiendo a las prescripciones del artículo 47 del Decreto 960 de 1970, los documentos mencionados, contenidos en Seis (06) Folios Útiles, quedan legalmente protocolizados ante el Notario Treinta y Ocho (38) del Circulo Bogotá, de manera que desde ahora quedan bajo su custodia y guarda para que surtan los efectos legales a que haya lugar y los interesados puedan consultarlos y obtener las copias que de él solicite. -----

----- **HASTA AQUÍ EL CONTENIDO DE LA MINUTA** -----

SE ADVIRTIÓ al (a los) otorgante (s) de esta escritura de la **obligación que tiene (n) de leer la totalidad de su texto**, a fin de verificar la exactitud de todos los datos en ella consignados con el fin de aclarar, modificar o corregir lo que le(s) pareciere; la firma de la misma demuestra su aprobación total del texto. -----

Se advierte igualmente la necesidad de diligenciar los espacios en blanco correspondientes a la información personal y de trabajos consignados en el espacio destinado para la firma de los suscriptores del instrumento publico, con el objeto de confrontar la información solicitada con el contenido de la escritura previo a la autorización de la misma. -----

En consecuencia, la notaria no asume ninguna responsabilidad por error o inexactitudes establecidas con posterioridad a la firma del (los) otorgante (s) y del notario. -----

En tal caso, de la existencia de estos, deben ser corregidos mediante el otorgamiento de una nueva escritura, suscrita por el (los) que intervino (eron) en la inicial y sufragada por el (ellos) mismo (s). (Artículo 35 decreto ley 960 de 1.970). -

OTORGAMIENTO Y AUTORIZACIÓN. LEÍDO EL PRESENTE INSTRUMENTO POR EL OTORGANTE Y ADVERTIDO DE SU REGISTRO DENTRO DEL TÉRMINO DE LEY, ESTUVO DE ACUERDO CON ÉL LO ACEPTÓ EN LA FORMA COMO ESTÁ REDACTADO Y EN TESTIMONIO DE QUE LE DA SU ASENTIMIENTO Y APROBACIÓN LO FIRMA POR ANTE MÍ Y CONMIGO EL NOTARIO QUE DE TODO LO EXPUESTO DOY FE Y POR ELLO LO AUTORIZO.

**ESTA ESCRITURA FUE ELABORADA EN LAS HOJAS DE PAPEL NOTARIAL
NÚMEROS: Aa 005420114, Aa 001691395.** -----

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

324



República de Colombia

Papel notarial para uso exclusivo de copias de escrituras públicas, certificados y documentos del archivo notarial

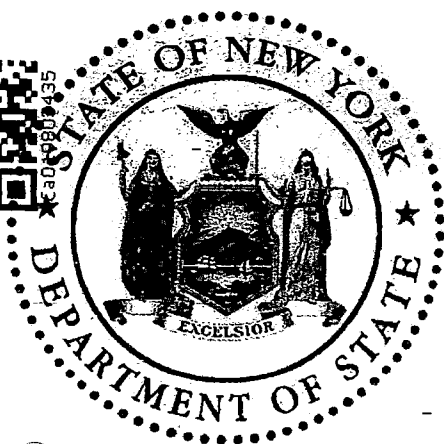
1. Country: **United States of America**
This public document
2. has been signed by **Norman Goodman**
3. acting in the capacity of **County Clerk**
4. bears the seal/stamp of the county of **New York**

Certified

5. At New York, New York
6. the 26th day of March 2013
7. by Special Deputy Secretary of State, State of New York
8. No. NYC-130077C
9. Seal/Stamp
10. Signature

Sandra J. Tallman

Sandra J. Tallman
Special Deputy Secretary of State

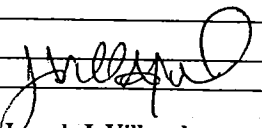


OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOCIADOS LTDA.

Carlos R. Olarte
Juan G. Moure

Alexander Aguado
Carlos A. Parra
Juan Felipe Acosta
Andrés Rincón
Mónica Guevara
Andrés Alvarado
Ella Ponce
Liliana Galindo
María Clara Calderón
Mauricio Ávila
Laura Escobar
Jaime Dangond
Gina Cáceres
Isabella Herrera
Zaava Ravid
Medellín
María Clara Múnera

The undersigned,	Los suscritos,
MERCK SHARP & DOHME CORP.	
domiciled in	domiciliados en
126 East Lincoln Avenue, Rahway, New Jersey 07065-0907, United States of America	
hereby appoint to Carlos R. Olarte and/or Juan Guillermo Moure legal representatives with faculties to receive notifications and to <u>appoint judicial or extrajudicial agents</u> in Patents for Inventions, Utility Models, Layout-Designs (topographies) of Integrated Circuits, Industrial Designs, Trademarks, Advertising Slogans, Trade Names, Commercial Emblems, Geographical Indications, Protection of Trade Secrets, Obtainer's Certificates, Copyrights, Registration of Domain Names, Health Registrations, or any other intellectual property right in Republic of Colombia, Republic of Costa Rica, Republic of Ecuador, Republic of El Salvador, Republic of Guatemala, Republic of Honduras, Republic of Nicaragua, Republic of Panama, Republic of Peru, Bolivarian Republic of Venezuela, to initiate before said authorities all the necessary actions to accomplish said purposes and to intervene in all instances, grades and procedural levels; to file and prosecute applications, declarations, complaints, to claim, counterclaim, answer claims and counterclaims; to make amendments; oppositions and all types of objections and writings of any nature; cancellations and administrative injunction proceedings; to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive documents and monies; act as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to request preliminary injunctions of any nature, settle, make arrangements, to submit to arbitrators, to desist from claims or procedures, to accept claims, to collect, to ratify legal proceedings subscribed before the appointment and/or presentation of this Power, substitute or delegate the legal representation and other acts prescribed by law, in short, with all such further powers as may be required; to comply with all other requirements and, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests.	nombramos por el presente a Carlos R. Olarte y/o Juan Guillermo Moure nuestros representantes legales con facultades para recibir notificaciones y <u>nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales</u> en Patentes de Invención, Modelos de Utilidad, Esquemas de Trazados de Circuitos Integrados, Diseños Industriales, Marcas, Lemas Comerciales, Nombres Comerciales, Enseñas Comerciales, Denominaciones de Origen, Protección de Secretos Empresariales, Certificados de Obtentor, Derechos de Autor, Registro de Nombres de Dominio, Registros Sanitarios, o cualquier otro bien de propiedad intelectual en la, República de Colombia, República de Costa Rica, República de Ecuador, República de El Salvador, República de Guatemala, República de Honduras, República de Nicaragua, República de Panamá, República de Perú, República Bolivariana de Venezuela, ya sean administrativas, judiciales o de policía, para iniciar ante dichas autoridades todas las acciones necesarias para cumplir con el objeto indicado e intervenir en todas las instancias, grados o etapas procesales; elevar y tramitar solicitudes, declaraciones y reclamos, para demandar, reconvenir, contestar demandas y reconveniones; formular enmiendas, oposiciones y todo tipo de impugnaciones y escritos de cualquier naturaleza; instaurar cancelaciones y amparos administrativos; abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar cualquier otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores; intervenir como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo solicitar medidas cautelares de cualquier naturaleza, conciliar, transar, someter a árbitros, desistirse de la pretensión y/o el procedimiento, allanarse a la pretensión, percibir, ratificar los actos jurídicos procesales suscritos con anterioridad al otorgamiento y/o presentación del presente poder, sustituir o delegar la representación procesal y los demás actos que exprese la ley, con todas las demás facultades que resulten necesarias; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de nuestros intereses.
Signature/Firma: 	Signature/Firma:
Name/Nombre: Joseph J. Villapol	Name/Nombre:
Date/Fecha: 20 Marzo 2013	Date/Fecha: DD/MM/YYYY
City/Country/Ciudad,País: New York, New York, United States of America	City/Country/Ciudad,País:

[See over for Notarial Acknowledgment]

CORPORATE ACKNOWLEDGMENT

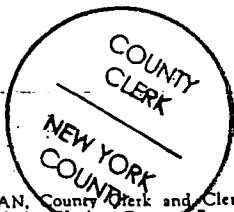


UNITED STATES OF AMERICA]
 STATE OF NEW YORK]
 COUNTY OF NEW YORK] SS:

República de Colombia

Notario Público de Colombia

On this 20th day of March, 2013, before me personally appeared Joseph J. Villapol, to me known, who, being by me duly sworn, did depose and say that he is the Authorized Signatory of the corporation described in the foregoing instrument; that he executed said instrument on behalf of the said corporation; that he is authorized to execute an instrument of this nature by order of the Board of Directors of the corporation.



[Handwritten Signature]

990197 Form 1

I, NORMAN GOODMAN, County Clerk and Clerk of the Supreme Court of the State of New York, and for the County of New York, a Court of Record, having by law a seal, DO HEREBY CERTIFY pursuant to the Executive Law of the State of New York, that

Scott J. Looson

the name subscribed to the annexed affidavit, deposition, certificate of acknowledgment or proof, was at the time taking the same a NOTARY PUBLIC in and for the State of New York duly commissioned, sworn and qualified to act as such; that pursuant to law, a commission or a certificate of his official character, with his autograph signature has been filed in my office; that at the time of taking such proof, acknowledgment or oath, he was duly authorized to take the same; that I am well acquainted with the handwriting of such NOTARY PUBLIC or have compared the signature on the annexed instrument with his autograph signature deposited in my office, and I believe that such signature is genuine.

IN WITNESS WHEREOF, I have hereunto set my hand affixed my official seal this



MAR 26 2013

[Handwritten Signature]
 County Clerk and Clerk of the Supreme Court, New York County

RODOLFO REY BERMUDEZ
 Notario 38 (E) del Estado de Bogotá
 38

RECONOCIMIENTO CORPORATIVO

ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA

ESTADO DE NUEVA YORK

CONDADO DE NUEVA YORK

Hoy, 20 de marzo de 2013, compareció ante mí **Joseph J. Villapol**, conocido por mí, mediante juramento, declaró ser la **Firma Autorizada** de la sociedad descrita en el anterior instrumento; que firmó dicho instrumento en nombre de dicha sociedad; que se encuentra autorizado para firmar un instrumento de esta naturaleza por orden de la Junta Directiva de la sociedad.

Sello:

Secretario del Tribunal del Condado – Condado de Nueva York

Estado de Nueva York
Condado de Nueva York

990197

Yo, NORMAN GOODMAN, Secretario del Tribunal del Condado y Secretario de la Corte Suprema del Estado de Nueva York, para el Condado de Nueva York, un tribunal de registro, por ley posee sello,
POR MEDIO DE LA PRESENTE CERTIFICO según la Ley Ejecutiva del Estado de Nueva York que

Scott J. Lebson

cuyo nombre está suscrito en la declaración extrajuicio adjunta, era en el momento de tomar dicha declaración NOTARIO PÚBLICO para el Estado de Nueva York debidamente comisionado, juramentado y calificado para actuar como tal; que según la ley, una comisión o certificado de su carácter oficial con su rúbrica reposa en archivo en mi oficina; que en el momento de tomar reconocimiento o juramento, estaba debidamente autorizado para hacerlo, que estoy bastante familiarizado con la ortografía de dicho NOTARIO PÚBLICO o he comparado la firma sobre el instrumento anexo con su rúbrica que reposa en mi despacho, y creo que dicha rúbrica es genuina.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, me suscribo y coloco el sello oficial
a los 26 días de marzo de 2013

tasa cancelada \$3.00

(firma ilegible)

Secretario del Tribunal del Condado y Secretario de la Corte Suprema del Estado de Nueva York, para el Condado de Nueva York

3244

PODER

Los suscritos,

MERCK SHARP & DOHME CORP.

domiciliados en

126 East Lincoln Avenue, Rahway, New Jersey 07065-0907,
Estados Unidos de América

(RESTO EN ESPAÑOL)

Firma: ilegible

Nombre: **Joseph J. Villapol**

Fecha: 20 de marzo de 2013

Ciudad, País: Nueva York, Estado de Nueva York, Estados Unidos de América



República de Colombia

Papel notarial para uso exclusivo de copias de escrituras públicas, certificados y documentos del archivo notarial

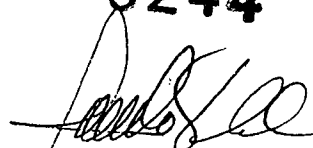


33019603433

ROBERTO M. OLARTE GARCÍA
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0041
Minjusticia 1996

RODOLFO REY BERMUDEZ
38

3244



Este documento público es una traducción al español de un documento en idioma inglés presentado ante mí.

ROBERTO M. OLARTE GARCÍA
Traductor e Intérprete Oficial
Ministerio de Justicia
Licencia 0041/1996

ROBERTO M. OLARTE GARCÍA
Traductor e Intérprete Oficial
Resolución No. 0041
Minjusticia 1996

APOSTILLA

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. País : **Estados Unidos de América**

Este documento público

2. ha sido firmado por **Norman Goodman**
3. actuando en calidad de **Secretario del Tribunal del Condado**
4. lleva el sello/timbre del condado de **Nueva York**

Certifica

5. en Nueva York, Nueva York
6. el 26 de marzo de 2013
7. por el Secretario de Estado encargado especial, Estado de Nueva York
8. No. NYC-130077C
9. Sello/Timbre: **ESTADO DE NUEVA YORK – DEPARTAMENTO DE ESTADO**
10. Firma: (ilegible)
Sandra J. Tallman
Secretario de Estado encargado



República de Colombia

Pag. No 3

3244



Aa001691305

FOLIO ANTERIOR

Aa001691304

ESCRITURA PÚBLICA NÚMERO:

(3244) TRES MIL DOSCIENTOS CUARENTA Y CUATRO

FECHA DE OTORGAMIENTO: OCHO

(22) VEINTIDOS DE ABRIL DE DOS MIL TRECE (2013)

NOTARIA TREINTA Y OCHO (38) DEL CÍRCULO DE BOGOTA D.C.

RETENCIÓN EN LA FUENTE. ARTÍCULOS 20 y 64 LEY 0075 de 1986. \$ EXENTO

DERECHOS NOTARIALES

\$ 46.400

SUPERINTENDENCIA

\$ 4.400

FONDO NACIONAL DEL NOTARIADO

\$ 4.400

IVA

\$ 17.632

DECRETO 1681 DEL 16 DE SEPTIEMBRE DE 1996, modificado por el DECRETO 3432 de Septiembre 19 de 2011, nuevamente modificado por el DECRETO 0188 DEL 12 DE FEBRERO DE 2013 y RESOLUCION 9146 DEL 01 DE OCTUBRE DE 2012.

CARLOS REINALDO OLARTE

C.C. No. 79.782.747 de Bogotá

Quien obra en Nombre y Representación de MERCK SHARP & DOHME CORP

DIRECCIÓN OFICINA: Carrera 5ª No. 34-03

TELÉFONO OFICINA: 6017700

CELULAR:

EL NOTARIO TREINTA Y OCHO (38^E)
DEL CÍRCULO DE BOGOTA D.C.

MONICA ALMA BAUTISTA NAVARRO

L.Mery

RODOLFO REY BERMUDEZ
Notario 38 (E del Círculo de Bogotá)

10045KCGK93A559

83-10-2012

Cadenasa, N.º 99993340
Cadenasa S.A. N.º 99993340

República de Colombia

Hoja notarial para uso exclusivo de copias de escrituras públicas, certificados y documentos del archivo notarial



Cad19803432

MIJM



PRIMERA (1A) COPIA (FOTOCOPIA) DE LA ESCRITURA

No. 3244 DE FECHA VEINTIDOS (22) DEL MES DE ABRIL

DE DOS MIL TRECE (2013) TOMADA DE SU ORIGINAL CONFORME

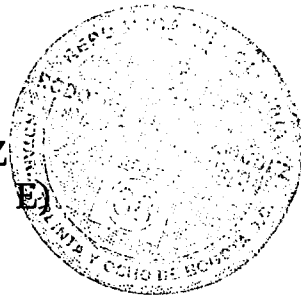
AL ART. 41 DEL DECRETO 2148 DE 1983. QUE SE EXPIDE EN BOGOTÁ D.C.

A (LOS) VEINTISIETE (27) (DIAS) DEL MES ABRIL DE

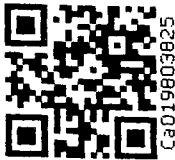
DOS MIL TRECE (2013) EN SEIS (6) FOLIOS

ÚTILES CON DESTINO A: EL INTERESADO.

RODOLFO REY BERMUDEZ
NOTARIO TREINTA Y OCHO (38 E)



RODOLFO REY BERMUDEZ
NOTARIO TREINTA Y OCHO (38 E) del Lincoln de Bogotá



Ca019803825



(43) International Publication Date
28 June 2012 (28.06.2012)

(10) International Publication Number
WO 2012/083435 A1

(51) International Patent Classification:

C07H 9/06 (2006.01) *C07D 513/04* (2006.01)
A61K 31/7056 (2006.01) *C12Q 1/34* (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/CA2011/001397

(22) International Filing Date:

21 December 2011 (21.12.2011)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/426,773 23 December 2010 (23.12.2010) US
PCT/CN2011/074569 24 May 2011 (24.05.2011) CN
61/507,684 14 July 2011 (14.07.2011) US

(71) Applicants (*for all designated States except US*): **ALECTOS THERAPEUTICS, INC.** [CA/CA]; 8999 Nelson Way, Burnaby, British Columbia V5A 4B5 (CA). **MERCK SHARP & DOHME CORP.** [US/US]; 126 East Lincoln Avenue, Rahway, New Jersey 07065 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (*for US only*): **KAUL, Ramesh** [CA/CA]; 8999 Nelson Way, Burnaby, British Columbia V5A 4B5 (CA). **MCEACHERN, Ernest J.** [CA/CA]; 8999 Nelson Way, Burnaby, British Columbia V5A 4B5 (CA). **MU, Changwei** [CN/CN]; No. 18, South Xihuan Road, BDA, Beijing 100176 (CN). **SELNICK, Harold G.** [US/US]; 770 Summeytown Pike, West Point, Pennsylvania 19486 (US). **VOCADLO, David J.** [CA/CA]; 8999 Nelson Way, Burnaby, British Columbia V5A 4B5 (CA). **WANG, Yaode** [CN/CN]; No. 18, South Xihuan Road, BDA, Beijing 100176 (CN). **WEI, Zhongyong** [CA/CN];

No. 18, South Xihuan Road, BDA, Beijing 100176 (CN). **ZHOU, Yuanxi** [CA/CA]; 8999 Nelson Way, Burnaby, British Columbia V5A 4B5 (CA). **ZHU, Yongbao** [CA/CA]; 8999 Nelson Way, Burnaby, British Columbia V5A 4B5 (CA).

(74) Agents: **CHATTERJEE, Alakananda** et al.; 1200 Waterfront Centre, 200 Burrard Street, P.O. Box 48600, Vancouver, British Columbia V7X 1T2 (CA).

(81) Designated States (*unless otherwise indicated, for every kind of national protection available*): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (*unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

(54) Title: SELECTIVE GLYCOSIDASE INHIBITORS AND USES THEREOF

(57) Abstract: The invention provides compounds with enhanced permeability for selectively inhibiting glycosidases, prodrugs of the compounds, and pharmaceutical compositions including the compounds or prodrugs of the compounds. The invention also provides methods of treating diseases and disorders related to deficiency or overexpression of O-GlcNAcase, accumulation or deficiency of O-GlcNAc.



WO 2012/083435 A1

SELECTIVE GLYCOSIDASE INHIBITORS AND USES THEREOF

FIELD OF THE INVENTION

[0001] This application relates to compounds which selectively inhibit glycosidases and uses thereof.

BACKGROUND OF THE INVENTION

[0002] A wide range of cellular proteins, both nuclear and cytoplasmic, are post-translationally modified by the addition of the monosaccharide 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranoside (β -N-acetylglucosamine) which is attached via an O-glycosidic linkage.¹ This modification is generally referred to as O-linked N-acetylglucosamine or O-GlcNAc. The enzyme responsible for post-translationally linking β -N-acetylglucosamine (GlcNAc) to specific serine and threonine residues of numerous nucleocytoplasmic proteins is O-GlcNAc transferase (OGT).²⁻⁵ A second enzyme, known as glycoprotein 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosidase (O-GlcNAcase)^{6,7} removes this post-translational modification to liberate proteins making the O-GlcNAc-modification a dynamic cycle occurring several times during the lifetime of a protein.⁸

[0003] O-GlcNAc-modified proteins regulate a wide range of vital cellular functions including, for example, transcription,⁹⁻¹² proteasomal degradation,¹³ and cellular signaling.¹⁴ O-GlcNAc is also found on many structural proteins.¹⁵⁻¹⁷ For example, it has been found on a number of cytoskeletal proteins, including neurofilament proteins,^{18,19} synapsins,^{6,20} synapsin-specific clathrin assembly protein AP-3,⁷ and ankyrinG.¹⁴ O-GlcNAc modification has been found to be abundant in the brain.^{21,22} It has also been found on proteins clearly implicated in the etiology of several diseases including Alzheimer's disease (AD) and cancer.

[0004] For example, it is well established that AD and a number of related tauopathies including Downs' syndrome, Pick's disease, Niemann-Pick Type C disease, and amyotrophic lateral sclerosis (ALS) are characterized, in part, by the development of neurofibrillary tangles (NFTs). These NFTs are aggregates of paired helical filaments (PHFs) and are composed of an abnormal form of the cytoskeletal protein "tau". Normally tau stabilizes a key cellular network of microtubules that is essential for distributing proteins and nutrients within neurons. In AD patients, however, tau becomes hyperphosphorylated, disrupting its

normal functions, forming PHFs and ultimately aggregating to form NFTs. Six isoforms of tau are found in the human brain. In AD patients, all six isoforms of tau are found in NFTs, and all are markedly hyperphosphorylated.^{23,24} Tau in healthy brain tissue bears only 2 or 3 phosphate groups, whereas those found in the brains of AD patients bear, on average, 8 phosphate groups.^{25,26} A clear parallel between NFT levels in the brains of AD patients and the severity of dementia strongly supports a key role for tau dysfunction in AD.^{27,28} The precise causes of this hyperphosphorylation of tau remain elusive. Accordingly, considerable effort has been dedicated toward: a) elucidating the molecular physiological basis of tau hyperphosphorylation;²⁹ and b) identifying strategies that could limit tau hyperphosphorylation in the hope that these might halt, or even reverse, the progression of Alzheimer's disease.³⁰⁻³³ Thus far, several lines of evidence suggest that up-regulation of a number of kinases may be involved in hyperphosphorylation of tau,^{21,34,35} although very recently, an alternative basis for this hyperphosphorylation has been advanced.²¹

[0005] In particular, it has emerged that phosphate levels of tau are regulated by the levels of O-GlcNAc on tau. The presence of O-GlcNAc on tau has stimulated studies that correlate O-GlcNAc levels with tau phosphorylation levels. The interest in this field stems from the observation that O-GlcNAc modification has been found to occur on many proteins at amino acid residues that are also known to be phosphorylated.³⁶⁻³⁸ Consistent with this observation, it has been found that increases in phosphorylation levels result in decreased O-GlcNAc levels and conversely, increased O-GlcNAc levels correlate with decreased phosphorylation levels.³⁹ This reciprocal relationship between O-GlcNAc and phosphorylation has been termed the "Yin-Yang hypothesis"⁴⁰ and has gained strong biochemical support by the discovery that the enzyme OGT⁴ forms a functional complex with phosphatases that act to remove phosphate groups from proteins.⁴¹ Like phosphorylation, O-GlcNAc is a dynamic modification that can be removed and reinstalled several times during the lifespan of a protein. Suggestively, the gene encoding O-GlcNAcase has been mapped to a chromosomal locus that is linked to AD.^{7,42} Hyperphosphorylated tau in human AD brains has markedly lower levels of O-GlcNAc than are found in healthy human brains.²¹ It has been shown that O-GlcNAc levels of soluble tau protein from human brains affected with AD are markedly lower than those from healthy brain.²¹ Furthermore, PHF from diseased brain was suggested to lack completely any O-GlcNAc modification whatsoever.²¹ The molecular basis of this hypoglycosylation of tau is not known, although it may stem from increased activity of kinases and/or dysfunction of one of the enzymes involved in processing O-GlcNAc.

Supporting this latter view, in both PC-12 neuronal cells and in brain tissue sections from mice, a nonselective N-acetylglucosaminidase inhibitor was used to increase tau O-GlcNAc levels, whereupon it was observed that phosphorylation levels decreased.²¹ The implication of these collective results is that by maintaining healthy O-GlcNAc levels in AD patients, such as by inhibiting the action of O-GlcNAcase, one should be able to block hyperphosphorylation of tau and all of the associated effects of tau hyperphosphorylation, including the formation of NFTs and downstream effects. However, because the proper functioning of the β -hexosaminidases is critical, any potential therapeutic intervention for the treatment of AD that blocks the action of O-GlcNAcase would have to avoid the concomitant inhibition of both hexosaminidases A and B.

[0006] Neurons do not store glucose and therefore the brain relies on glucose supplied by blood to maintain its essential metabolic functions. Notably, it has been shown that within brain, glucose uptake and metabolism decreases with aging.⁴³ Within the brains of AD patients marked decreases in glucose utilization occur and are thought to be a potential cause of neurodegeneration.⁴⁴ The basis for this decreased glucose supply in AD brain⁴⁵⁻⁴⁷ is thought to stem from any of decreased glucose transport,^{48,49} impaired insulin signaling,^{50,51} and decreased blood flow.⁵²

[0007] In light of this impaired glucose metabolism, it is worth noting that of all glucose entering into cells, 2-5% is shunted into the hexosamine biosynthetic pathway, thereby regulating cellular concentrations of the end product of this pathway, uridine diphosphate-N-acetylglucosamine (UDP-GlcNAc).⁵³ UDP-GlcNAc is a substrate of the nucleocytoplasmic enzyme O-GlcNAc transferase (OGT),²⁻⁵ which acts to post-translationally add GlcNAc to specific serine and threonine residues of numerous nucleocytoplasmic proteins. OGT recognizes many of its substrates^{54,55} and binding partners^{41,56} through its tetratricopeptide repeat (TPR) domains.^{57,58} As described above, O-GlcNAcase^{6,7} removes this post-translational modification to liberate proteins making the O-GlcNAc-modification a dynamic cycle occurring several times during the lifetime of a protein.⁸ O-GlcNAc has been found in several proteins on known phosphorylation sites,^{10,37,38,59} including tau and neurofilaments.⁶⁰ Additionally, OGT shows unusual kinetic behaviour making it exquisitely sensitive to intracellular UDP-GlcNAc substrate concentrations and therefore glucose supply.⁴¹

[0008] Consistent with the known properties of the hexosamine biosynthetic pathway, the enzymatic properties of OGT, and the reciprocal relationship between O-GlcNAc and phosphorylation, it has been shown that decreased glucose availability in brain leads to tau

hyperphosphorylation.⁴⁴ Therefore the gradual impairment of glucose transport and metabolism, whatever its causes, leads to decreased O-GlcNAc and hyperphosphorylation of tau (and other proteins). Accordingly, the inhibition of O-GlcNAcase should compensate for the age related impairment of glucose metabolism within the brains of health individuals as well as patients suffering from AD or related neurodegenerative diseases.

[0009] These results suggest that a malfunction in the mechanisms regulating tau O-GlcNAc levels may be vitally important in the formation of NFTs and associated neurodegeneration. Good support for blocking tau hyperphosphorylation as a therapeutically useful intervention⁶¹ comes from recent studies showing that when transgenic mice harbouring human tau are treated with kinase inhibitors, they do not develop typical motor defects³³ and, in another case,³² show decreased levels of insoluble tau. These studies provide a clear link between lowering tau phosphorylation levels and alleviating AD-like behavioural symptoms in a murine model of this disease. Indeed, pharmacological modulation of tau hyperphosphorylation is widely recognized as a valid therapeutic strategy for treating AD and other neurodegenerative disorders.⁶²

[0010] Small-molecule O-GlcNAcase inhibitors, to limit tau hyperphosphorylation, have been considered for treatment of AD and related tauopathies.⁶³ Specifically, the O-GlcNAcase inhibitor thiamet-G has been implicated in the reduction of tau phosphorylation in cultured PC-12 cells at pathologically relevant sites.⁶³ Moreover, oral administration of thiamet-G to healthy Sprague-Dawley rats has been implicated in reduced phosphorylation of tau at Thr231, Ser396 and Ser422 in both rat cortex and hippocampus.⁶³

[0011] There is also a large body of evidence indicating that increased levels of O-GlcNAc protein modification provides protection against pathogenic effects of stress in cardiac tissue, including stress caused by ischemia, hemorrhage, hypervolemic shock, and calcium paradox. For example, activation of the hexosamine biosynthetic pathway (HBP) by administration of glucosamine has been demonstrated to exert a protective effect in animals models of ischemia/reperfusion,⁶⁴⁻⁷⁰ trauma hemorrhage,⁷¹⁻⁷³ hypervolemic shock,⁷⁴ and calcium paradox.^{64,75} Moreover, strong evidence indicates that these cardioprotective effects are mediated by elevated levels of protein O-GlcNAc modification.^{64,65,67,70,72,75-78} There is also evidence that the O-GlcNAc modification plays a role in a variety of neurodegenerative diseases, including Parkinson's disease and Huntington's disease.⁷⁹

[0012] Humans have three genes encoding enzymes that cleave terminal β -N-acetylglucosamine residues from glycoconjugates. The first of these encodes O-GlcNAcase. O-GlcNAcase is a member of family 84 of glycoside hydrolases that includes enzymes from organisms as diverse as prokaryotic pathogens to humans (for the family classification of glycoside hydrolases see Coutinho, P.M. & Henrissat, B. (1999) Carbohydrate-Active Enzymes server at URL: <http://afmb.cnrs-mrs.fr/CAZY/>.^{27,28} O-GlcNAcase acts to hydrolyse O-GlcNAc off of serine and threonine residues of post-translationally modified proteins.^{1,6,7,80,81} Consistent with the presence of O-GlcNAc on many intracellular proteins, the enzyme O-GlcNAcase appears to have a role in the etiology of several diseases including type II diabetes,^{14,82} AD,^{16,21,83} and cancer.^{22,84} Although O-GlcNAcase was likely isolated earlier on,^{18,19} about 20 years elapsed before its biochemical role in acting to cleave O-GlcNAc from serine and threonine residues of proteins was understood.⁶ More recently O-GlcNAcase has been cloned,⁷ partially characterized,²⁰ and suggested to have additional activity as a histone acetyltransferase.²⁰ However, little was known about the catalytic mechanism of this enzyme.

[0013] The other two genes, HEXA and HEXB, encode enzymes catalyzing the hydrolytic cleavage of terminal β -N-acetylglucosamine residues from glycoconjugates. The gene products of HEXA and HEXB predominantly yield two dimeric isozymes, hexosaminidase A and hexosaminidase B, respectively. Hexosaminidase A ($\alpha\beta$), a heterodimeric isozyme, is composed of an α - and a β -subunit. Hexosaminidase B ($\beta\beta$), a homodimeric isozyme, is composed of two β -subunits. The two subunits, α - and β -, bear a high level of sequence identity. Both of these enzymes are classified as members of family 20 of glycoside hydrolases and are normally localized within lysosomes. The proper functioning of these lysosomal β -hexosaminidases is critical for human development, a fact that is underscored by the tragic genetic illnesses, Tay-Sach's and Sandhoff diseases which stem from a dysfunction in, respectively, hexosaminidase A and hexosaminidase B.⁸⁵ These enzymatic deficiencies cause an accumulation of glycolipids and glycoconjugates in the lysosomes resulting in neurological impairment and deformation. The deleterious effects of accumulation of gangliosides at the organismal level are still being uncovered.⁸⁶

[0014] As a result of the biological importance of these β -N-acetylglucosaminidases, small molecule inhibitors of glycosidases⁸⁷⁻⁹⁰ have received a great deal of attention,⁹¹ both as tools for elucidating the role of these enzymes in biological processes and in developing potential therapeutic applications. The control of glycosidase function using small molecules

offers several advantages over genetic knockout studies including the ability to rapidly vary doses or to entirely withdraw treatment.

[0015] However, a major challenge in developing inhibitors for blocking the function of mammalian glycosidases, including O-GlcNAcase, is the large number of functionally related enzymes present in tissues of higher eukaryotes. Accordingly, the use of non-selective inhibitors in studying the cellular and organismal physiological role of one particular enzyme is complicated because complex phenotypes arise from the concomitant inhibition of such functionally related enzymes. In the case of β -N-acetylglucosaminidases, many compounds that act to block O-GlcNAcase function are non-specific and act potently to inhibit the lysosomal β -hexosaminidases.

[0016] A few of the better characterized inhibitors of β -N-acetyl-glucosaminidases which have been used in studies of O-GlcNAc post-translational modification within both cells and tissues are streptozotocin (STZ), 2'-methyl- α -D-glucopyrano-[2,1-*d*]- Δ 2'-thiazoline (NAG-thiazoline) and O-(2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranosylidene)amino N-phenylcarbamate (PUGNAc).^{14,92-95}

[0017] STZ has long been used as a diabetogenic compound because it has a particularly detrimental effect on β -islet cells.⁹⁶ STZ exerts its cytotoxic effects through both the alkylation of cellular DNA^{96,97} as well as the generation of radical species including nitric oxide.⁹⁸ The resulting DNA strand breakage promotes the activation of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP)⁹⁹ with the net effect of depleting cellular NAD⁺ levels and, ultimately, leading to cell death.^{100,101} Other investigators have proposed instead that STZ toxicity is a consequence of the irreversible inhibition of O-GlcNAcase, which is highly expressed within β -islet cells.^{92,102} This hypothesis has, however, been brought into question by two independent research groups.^{103,104} Because cellular O-GlcNAc levels on proteins increase in response to many forms of cellular stress¹⁰⁵ it seems possible that STZ results in increased O-GlcNAc-modification levels on proteins by inducing cellular stress rather than through any specific and direct action on O-GlcNAcase. Indeed, Hanover and coworkers have shown that STZ functions as a poor and somewhat selective inhibitor of O-GlcNAcase¹⁰⁶ and although it has been proposed by others that STZ acts to irreversibly inhibit O-GlcNAcase,¹⁰⁷ there has been no clear demonstration of this mode of action. More recently, it has been shown that STZ does not irreversibly inhibit O-GlcNAcase.¹⁰⁸

[0018] NAG-thiazoline has been found to be a potent inhibitor of family 20 hexosaminidases,^{90,109} and more recently, the family 84 O-GlcNAcases.¹⁰⁸ Despite its potency, a downside to using NAG-thiazoline in a complex biological context is that it lacks selectivity and therefore perturbs multiple cellular processes.

5 [0019] PUGNAc is another compound that suffers from the same problem of lack of selectivity, yet has enjoyed use as an inhibitor of both human O-GlcNAcase^{6,110} and the family 20 human β -hexosaminidases.¹¹¹ This molecule, developed by Vasella and coworkers, was found to be a potent competitive inhibitor of the β -N-acetyl-glucosaminidases from *Canavalia ensiformis*, *Mucor rouxii*, and the β -hexosaminidase from bovine kidney.⁸⁸ It has
10 been demonstrated that administration of PUGNAc in a rat model of trauma hemorrhage decreases circulating levels of the pro-inflammatory cytokines TNF- α and IL-6.¹¹² It has also been shown that administration of PUGNAc in a cell-based model of lymphocyte activation decreases production of the cytokine IL-2.¹¹³ Subsequent studies have indicated that PUGNAc can be used in an animal model to reduce myocardial infarct size after left coronary
15 artery occlusions.¹¹⁴ Of particular significance is the fact that elevation of O-GlcNAc levels by administration of PUGNAc, an inhibitor of O-GlcNAcase, in a rat model of trauma hemorrhage improves cardiac function.^{112,115} In addition, elevation of O-GlcNAc levels by treatment with PUGNAc in a cellular model of ischemia/reperfusion injury using neonatal rat ventricular myocytes improved cell viability and reduced necrosis and apoptosis compared to
20 untreated cells.¹¹⁶

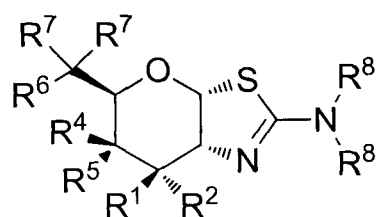
[0020] More recently, it has been suggested that the selective O-GlcNAcase inhibitor NButGT exhibits protective activity in cell-based models of ischemia/reperfusion and cellular stresses, including oxidative stress.¹¹⁷ This study suggests the use of O-GlcNAcase inhibitors to elevate protein O-GlcNAc levels and thereby prevent the pathogenic effects of stress in
25 cardiac tissue.

[0021] International patent applications PCT/CA2006/000300, filed 1 March 2006, published under No. W0 2006/092049 on 8 September 2006; PCT/CA2007/001554, filed 31 August 2007, published under No. WO 2008/025170 on 6 March 2008; PCT/CA2009/001087, filed 31 July 2009, published under No. WO 2010/012106 on 4 February 2010;
30 PCT/CA2009/001088, filed 31 July 2009, published under WO 2010/012107 on 4 February 2010; and PCT/CA2009/001302, filed 16 September 2009, published under WO 2010/037207 on 8 April 2010, describe selective inhibitors of O-GlcNAcase.

SUMMARY OF THE INVENTION

[0022] The invention provides, in part, compounds for selectively inhibiting glycosidases, prodrugs of the compounds, uses of the compounds and the prodrugs, pharmaceutical compositions including the compounds or prodrugs of the compounds, and methods of
 5 treating diseases and disorders related to deficiency or overexpression of O-GlcNAcase, and/or accumulation or deficiency of O-GlcNAc.

[0023] In one aspect, the invention provides a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:

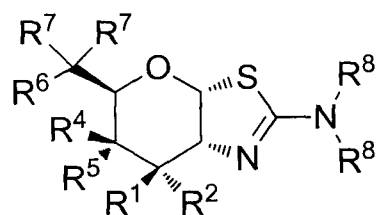


(I)

10

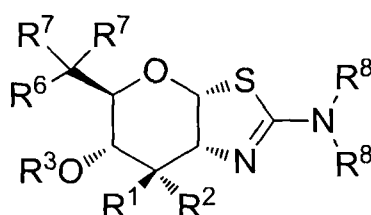
where R^1 and R^2 may be H, or R^1 may be H and R^2 may be F, or R^1 may be F and R^2 may be H, or R^1 may be OR^3 and R^2 may be H; each R^3 may be independently H or C_{1-6} acyl; R^4 may be H and R^5 may be OR^3 , or R^4 may be OR^3 and R^5 may be H; R^6 may be H, F, or OR^3 ; each R^7 may be independently H or F; each R^8 may be independently selected from the
 15 group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, where the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy may be optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or the two R^8 groups may be connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum
 20 number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl; with the proviso that when R^6 is OR^3 , each R^7 is H; and with the proviso that either R^1 or R^6 is other than OR^3 .

[0024] In alternative embodiments, the invention provides a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(I)

- where R^1 and R^2 may be H and R^6 may be H, F or OR^3 ; or R^1 may be H and R^2 may be F and R^6 may be H, F or OR^3 ; or R^1 may be F and R^2 may be H and R^6 may be H, F or OR^3 ; or R^1 may be OR^3 and R^2 may be H and R^6 may be H or F; each R^3 may be independently H or C_{1-6} acyl; R^4 may be H and R^5 may be OR^3 ; or R^4 may be OR^3 and R^5 may be H; each R^7 may be independently H or F; each R^8 may be independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, where the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy may be optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or the two R^8 groups may be connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl; with the proviso that when R^6 is OR^3 , each R^7 is H.
- [0025] In alternative embodiments, the invention provides a compound of Formula (Ia) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:

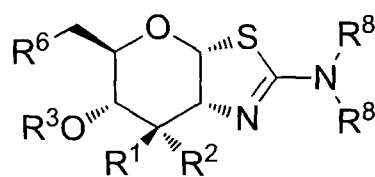


(Ia)

- where R^1 and R^2 may be H and R^6 may be F; or R^1 may be H and R^2 may be F and R^6 may be H, F or OR^3 ; or R^1 may be F and R^2 may be H and R^6 may be H, F or OR^3 ; or R^1 may be OR^3 and R^2 may be H and R^6 may be F; each R^3 may be independently H or C_{1-6} acyl; each R^7 may be independently H or F; each R^8 may be independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, where the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy may be optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or the two R^8

groups may be connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl; with the proviso that when R^6 is OR^3 , each R^7 is H.

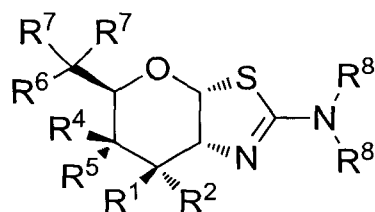
- 5 [0026] In alternative embodiments, the invention provides a compound of Formula (Ib) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(Ib)

- where R^1 and R^2 may be H and R^6 may be H or OR^3 ; or R^1 may be OR^3 and R^2 may be H and R^6 may be H; each R^3 may be independently H or C_{1-6} acyl; each R^8 may be independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, where the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy may be optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or the two R^8 groups may be connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl..

[0027] In alternative embodiments, the invention provides a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(I)

- where R^1 may be H, F or OR^3 ; R^2 may be H or F; each R^3 may be independently H or C_{1-6} acyl; R^4 may be H; R^5 may be OR^3 ; R^6 may be H, F, or OR^3 ; each R^7 may be independently H or F; each R^8 may be independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, where the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl,

C₃₋₆ alkynyl, or C₁₋₆ alkoxy may be optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or the two R⁸ groups may be connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of

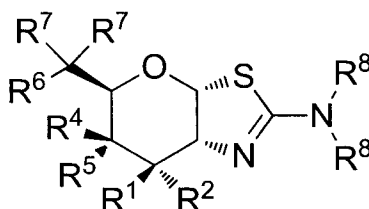
- 5 substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl; with the proviso that when R¹ is OR³, R² is H; and with the proviso that when R⁶ is OR³, each R⁷ is H; and with the proviso that either R¹ or R⁶ is other than OR³; and with the proviso that either R¹ or R² is other than F.

[0028] In alternative embodiments, the compound may be a prodrug; the compound may selectively inhibit an O-glycoprotein 2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranosidase (O-GlcNAcase); the compound may selectively bind an O-GlcNAcase (e.g., a mammalian O-GlcNAcase); the compound may selectively inhibit the cleavage of a 2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranoside (O-GlcNAc); the compound may not substantially inhibit a mammalian β-hexosaminidase.

[0029] In alternative embodiments, a compound according to Formula (Ia) or Formula (Ib)
15 may have enhanced permeability.

[0030] In alternative aspects, the invention provides a pharmaceutical composition including a compound according to the invention, in combination with a pharmaceutically acceptable carrier.

[0031] In alternative aspects, the invention provides methods of selectively inhibiting an O-GlcNAcase, or of inhibiting an O-GlcNAcase in a subject in need thereof, or of increasing the
20 level of O-GlcNAc, or of treating a neurodegenerative disease, a tauopathy, cancer or stress, in a subject in need thereof, by administering to the subject an effective amount of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(I)

where R¹ and R² may be H, or R¹ may be H and R² may be F, or R¹ may be F and R² may be H, or R¹ may be OR³ and R² may be H; each R³ may be independently H or C₁₋₆ acyl; R⁴ may be H and R⁵ may be OR³, or R⁴ may be OR³ and R⁵ may be H; R⁶ may be H, F, or

OR³; each R⁷ may be independently H or F; each R⁸ may be independently selected from the group consisting of: H, C₁₋₆ alkyl, C₃₋₆ alkenyl, C₃₋₆ alkynyl, and C₁₋₆ alkoxy, where the C₁₋₆ alkyl, C₃₋₆ alkenyl, C₃₋₆ alkynyl, or C₁₋₆ alkoxy may be optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or the two

5 R⁸ groups may be connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl; with the proviso that when R⁶ is OR³, each R⁷ is H; and with the proviso that either R¹ or R⁶ is other than OR³. The condition may be Alzheimer's disease, Amyotrophic lateral sclerosis (ALS), Amyotrophic

10 lateral sclerosis with cognitive impairment (ALSci), Argyrophilic grain dementia, Bluit disease, Corticobasal degeneration (CBD), Dementia pugilistica, Diffuse neurofibrillary tangles with calcification, Down's syndrome, Familial British dementia, Familial Danish dementia, Frontotemporal dementia with parkinsonism linked to chromosome 17 (FTDP-17), Gerstmann-Straussler-Scheinker disease, Guadeloupean parkinsonism, Hallevorden-Spatz

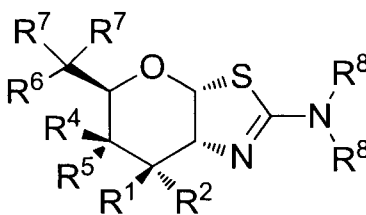
15 disease (neurodegeneration with brain iron accumulation type 1), Multiple system atrophy, Myotonic dystrophy, Niemann-Pick disease (type C), Pallido-ponto-nigral degeneration, Parkinsonism-dementia complex of Guam, Pick's disease (PiD), Post-encephalitic parkinsonism (PEP), Prion diseases (including Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD), Variant Creutzfeldt-Jakob Disease (vCJD), Fatal Familial Insomnia, and Kuru), Progressive

20 supercortical gliosis, Progressive supranuclear palsy (PSP), Richardson's syndrome, Subacute sclerosing panencephalitis, Tangle-only dementia, Huntington's disease, Parkinson's disease, Schizophrenia, Mild Cognitive Impairment (MCI), Neuropathy (including peripheral neuropathy, autonomic neuropathy, neuritis, and diabetic neuropathy), or Glaucoma. The stress may be a cardiac disorder, e.g., ischemia; hemorrhage; hypovolemic

25 shock; myocardial infarction; an interventional cardiology procedure; cardiac bypass surgery; fibrinolytic therapy; angioplasty; or stent placement.

[0032] In alternative aspects, the invention provides a method of treating an O-GlcNAcase-mediated condition that excludes a neurodegenerative disease, a tauopathy, cancer or stress, in a subject in need thereof, by administering to the subject an effective amount of a

30 compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(I)

where R^1 and R^2 may be H, or R^1 may be H and R^2 may be F, or R^1 may be F and R^2 may be H, or R^1 may be OR^3 and R^2 may be H; each R^3 may be independently H or C_{1-6} acyl;

5 R^4 may be H and R^5 may be OR^3 , or R^4 may be OR^3 and R^5 may be H; R^6 may be H, F, or OR^3 ; each R^7 may be independently H or F; each R^8 may be independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, where the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy may be optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or the two

10 R^8 groups may be connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl; with the proviso that when R^6 is OR^3 , each R^7 is H; and with the proviso that either R^1 or R^6 is other than OR^3 . In some

15 embodiments, the condition may be inflammatory or allergic diseases such as asthma, allergic rhinitis, hypersensitivity lung diseases, hypersensitivity pneumonitis, eosinophilic pneumonias, delayed-type hypersensitivity, atherosclerosis, interstitial lung disease (ILD) (e.g., idiopathic pulmonary fibrosis, or ILD associated with rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, ankylosing spondylitis, systemic sclerosis, Sjogren's syndrome, polymyositis or dermatomyositis); systemic anaphylaxis or hypersensitivity responses, drug

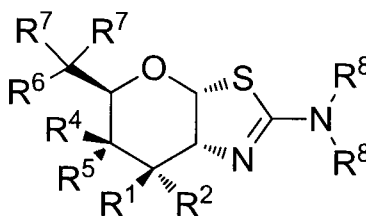
20 allergies, insect sting allergies; autoimmune diseases, such as rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, multiple sclerosis, Guillain-Barré syndrome, systemic lupus erythematosus, myasthenia gravis, glomerulonephritis, autoimmune thyroiditis, graft rejection, including allograft rejection or graft-versus-host disease; inflammatory bowel diseases, such as Crohn's disease and ulcerative colitis; spondyloarthropathies; scleroderma; psoriasis (including T-cell

25 mediated psoriasis) and inflammatory dermatoses such as dermatitis, eczema, atopic dermatitis, allergic contact dermatitis, urticaria; vasculitis (e.g., necrotizing, cutaneous, and hypersensitivity vasculitis); eosinophilic myositis, and eosinophilic fasciitis; graft rejection, in particular but not limited to solid organ transplants, such as heart, lung, liver, kidney, and

pancreas transplants (e.g. kidney and lung allografts); epilepsy; pain; fibromyalgia; stroke, e.g., neuroprotection following a stroke.

[0033] In alternative embodiments, R^1 and R^2 may be H, or R^1 may be H and R^2 may be F, or R^1 may be F and R^2 may be H, or R^1 may be OR^3 and R^2 may be H; each R^3 may be independently H or C_{1-6} acyl; R^4 may be H and R^5 may be OR^3 , or R^4 may be OR^3 and R^5 may be H; R^6 may be H, F, or OR^3 ; each R^7 may be independently H or F; each R^8 may be independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, where the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy may be optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or the two R^8 groups may be connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl; with the proviso that when R^6 is OR^3 , each R^7 is H; and with the proviso that either R^1 or R^6 is other than OR^3 . The administering may increase the level of O-GlcNAc in the subject. The subject may be a human.

[0034] In alternative aspects, the invention provides use of a compound of an effective amount of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:

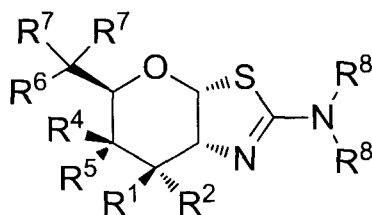


(I)

where R^1 and R^2 may be H, or R^1 may be H and R^2 may be F, or R^1 may be F and R^2 may be H, or R^1 may be OR^3 and R^2 may be H; each R^3 may be independently H or C_{1-6} acyl; R^4 may be H and R^5 may be OR^3 , or R^4 may be OR^3 and R^5 may be H; R^6 may be H, F, or OR^3 ; each R^7 may be independently H or F; each R^8 may be independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, where the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy may be optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or the two R^8 groups may be connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl; with the proviso that when

R^6 is OR^3 , each R^7 is H; and with the proviso that either R^1 or R^6 is other than OR^3 , in the preparation of a medicament. The medicament may be for selectively inhibiting an O-GlcNAcase, for increasing the level of O-GlcNAc, for treating a condition modulated by an O-GlcNAcase, for treating a neurodegenerative disease, a tauopathy, a cancer, or stress.

- 5 [0035] In alternative aspects, the invention provides a method for screening for a selective inhibitor of an O-GlcNAcase, by a) contacting a first sample with a test compound; b) contacting a second sample with a compound of Formula (I)



(I)

- 10 where R^1 and R^2 may be H, or R^1 may be H and R^2 may be F, or R^1 may be F and R^2 may be H, or R^1 may be OR^3 and R^2 may be H; each R^3 may be independently H or C_{1-6} acyl; R^4 may be H and R^5 may be OR^3 , or R^4 may be OR^3 and R^5 may be H; R^6 may be H, F, or OR^3 ; each R^7 may be independently H or F; each R^8 may be independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, where the C_{1-6}
- 15 alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy may be optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or the two R^8 groups may be connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl; with the proviso that when
- 20 R^6 is OR^3 , each R^7 is H; and with the proviso that either R^1 or R^6 is other than OR^3 ; c) determining the level of inhibition of the O-GlcNAcase in the first and second samples, where the test compound is a selective inhibitor of a O-GlcNAcase if the test compound exhibits the same or greater inhibition of the O-GlcNAcase when compared to the compound of Formula (I).
- 25 [0036] This summary of the invention does not necessarily describe all features of the invention.

DETAILED DESCRIPTION

[0037] The invention provides, in part, novel compounds that are capable of inhibiting an O-glycoprotein 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosidase (O-GlcNAcase). In some embodiments, the O-GlcNAcase is a mammalian O-GlcNAcase, such as a rat, mouse or human O-GlcNAcase.

[0038] In some embodiments, one or more of the compounds according to the invention exhibit enhanced permeability. Permeability can be assessed using a variety of standard experimental techniques, including without limitation in situ perfusion, ex vivo tissue diffusion, in vitro cell monolayers (e.g. Caco-2 cells, MDCK cells, LLC-PK1 cells), and artificial cell membranes (e.g. PAMPA assay); suitable techniques for measuring effective permeability (P_{eff}) or apparent permeability (P_{app}) are reviewed for example by Volpe in *The AAPS Journal*, **2010**, *12*(4), 670-678. In some embodiments, one or more of the compounds according to the invention show enhanced permeability when tested in one or more of these assays for determining P_{eff} or P_{app} . In some embodiments, a compound that exhibits enhanced permeability exhibits greater oral absorption. In some embodiments, a compound that exhibits enhanced permeability exhibits greater brain penetrance when administered in vivo. In some embodiments, a compound that exhibits enhanced permeability achieves higher brain concentrations when administered in vivo. In some embodiments, a compound that exhibits enhanced permeability exhibits a higher brain/plasma concentration ratio when administered in vivo. In some embodiments, “enhanced permeability” means an increase in measured P_{eff} or P_{app} by any value between 10% and 100%, or of any integer value between 10% and 100%, for example, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, or over 100%, or an increase by 1-fold, 2-fold, or 3-fold, or more, as compared to a suitable reference compound disclosed in for example WO 2006/092049 or WO 2008/025170. A suitable reference compound may be, for example, (3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(hydroxymethyl)-2-propyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol, or (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(ethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol, or (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol. In some embodiments, “enhanced permeability” means a measurable P_{app} value (i.e. a value greater than zero) in the assay described below for determination of P_{app} in LLC-PK1 cells. In some embodiments, “enhanced permeability” means a P_{app} value greater than 2×10^{-6} cm/s in the assay described below for determination of P_{app} in LLC-PK1 cells. In some embodiments, “enhanced permeability” means a P_{app}

value greater than 1×10^{-6} cm/s in the assay described below for determination of P_{app} in LLC-PK1 cells. In alternative embodiments, “enhanced permeability” means a P_{app} value in the range 2×10^{-6} cm/s to 30×10^{-6} cm/s in the assay described below for determination of P_{app} in LLC-PK1 cells.

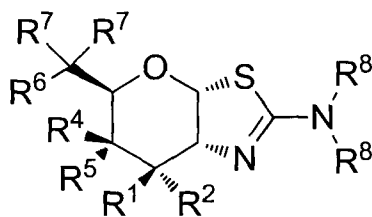
- 5 [0039] In some embodiments, a compound according to the invention exhibits superior selectivity in inhibiting an O-GlcNAcase. In some embodiments, one or more of the compounds according to the invention are more selective for an O-GlcNAcase over a β -hexosaminidase. In some embodiments, one or more of the compounds selectively inhibit the activity of a mammalian O-GlcNAcase over a mammalian β -hexosaminidase. In some
- 10 embodiments, a selective inhibitor of an O-GlcNAcase does not substantially inhibit a β -hexosaminidase. In some embodiments, the β -hexosaminidase is a mammalian β -hexosaminidase, such as a rat, mouse or human β -hexosaminidase. A compound that “selectively” inhibits an O-GlcNAcase is a compound that inhibits the activity or biological function of an O-GlcNAcase, but does not substantially inhibit the activity or biological
- 15 function of a β -hexosaminidase. For example, in some embodiments, a selective inhibitor of an O-GlcNAcase selectively inhibits the cleavage of 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranoside (O-GlcNAc) from polypeptides. In some embodiments, a selective inhibitor of an O-GlcNAcase selectively binds to an O-GlcNAcase. In some embodiments, a selective inhibitor of an O-GlcNAcase inhibits hyperphosphorylation of a tau protein and/or inhibits
- 20 formations of NFTs. By “inhibits,” “inhibition” or “inhibiting” means a decrease by any value between 10% and 90%, or of any integer value between 30% and 60%, or over 100%, or a decrease by 1-fold, 2-fold, 5-fold, 10-fold or more. It is to be understood that the inhibiting does not require full inhibition. In some embodiments, a selective inhibitor of an O-GlcNAcase elevates or enhances O-GlcNAc levels e.g., O-GlcNAc-modified polypeptide
- 25 or protein levels, in cells, tissues, or organs (e.g., in brain, muscle, or heart (cardiac) tissue) and in animals. By “elevating” or “enhancing” is meant an increase by any value between 10% and 90%, or of any integer value between 30% and 60%, or over 100%, or an increase by 1-fold, 2-fold, 5-fold, 10-fold, 15-fold, 25-fold, 50-fold, 100-fold or more. In some
- 30 embodiments, a selective inhibitor of an O-GlcNAcase exhibits a selectivity ratio, as described herein, in the range 10 to 100000, or in the range 100 to 100000, or in the range 1000 to 100000, or at least 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 6000, 7000, 10,000, 25,000, 50,000, 75,000, or any value within or about the described range.

[0040] One or more of the compounds of the present invention elevate O-GlcNAc levels on O-GlcNAc-modified polypeptides or proteins *in vivo* specifically via interaction with an O-GlcNAcase enzyme, and are effective in treating conditions which require or respond to inhibition of O-GlcNAcase activity.

5 [0041] In some embodiments, one or more of the compounds of the present invention are useful as agents that produce a decrease in tau phosphorylation and NFT formation. In some embodiments, one or more of the compounds are therefore useful to treat Alzheimer's disease and related tauopathies. In some embodiments, one or more of the compounds are thus
10 capable of treating Alzheimer's disease and related tauopathies by lowering tau phosphorylation and reducing NFT formation as a result of increasing tau O-GlcNAc levels. In some embodiments, one or more of the compounds produce an increase in levels of O-GlcNAc modification on O-GlcNAc-modified polypeptides or proteins, and are therefore useful for treatment of disorders responsive to such increases in O-GlcNAc modification; these disorders include without limitation neurodegenerative, inflammatory, cardiovascular,
15 and immunoregulatory diseases. In some embodiments, a compound is also useful as a result of other biological activities related to their ability to inhibit the activity of glycosidase enzymes. In alternative embodiments, one or more of the compounds of the invention are valuable tools in studying the physiological role of O-GlcNAc at the cellular and organismal level.

20 [0042] In alternative embodiments, the invention provides methods of enhancing or elevating levels of protein O-GlcNAc modification in animal subjects, such as, veterinary and human subjects. In alternative embodiments, the invention provides methods of selectively inhibiting an O-GlcNAcase enzyme in animal subjects, such as, veterinary and human subjects. In alternative embodiments, the invention provides methods of inhibiting
25 phosphorylation of tau polypeptides, or inhibiting formation of NFTs, in animal subjects, such as, veterinary and human subjects.

[0043] In specific embodiments, the invention provides compounds described generally by Formula (I) and the salts, prodrugs, and enantiomeric forms thereof:



(I)

[0044] As set forth in Formula (I): R^1 and R^2 may be H, or R^1 may be H and R^2 may be F, or R^1 may be F and R^2 may be H, or R^1 may be OR^3 and R^2 may be H; each R^3 may be
 5 independently H or C_{1-6} acyl; R^4 may be H and R^5 may be OR^3 , or R^4 may be OR^3 and R^5 may be H; R^6 may be H, F, or OR^3 ; each R^7 may be independently H or F; each R^8 may be independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, where the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy may be
 10 optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or the two R^8 groups may be connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl; with the proviso that when R^6 is OR^3 , each R^7 is H; and with the proviso that either R^1 or R^6 is other than OR^3 .

15 [0045] In some embodiments, R^1 as set forth in Formula (I) may be H, F, OH, or $OC(O)R^9$, where R^9 may be H, C_{1-6} alkyl, or C_{3-6} cycloalkyl. In some embodiments, R^1 may be H, F or OH.

[0046] In some embodiments, R^2 as set forth in Formula (I) may be H or F.

20 [0047] In some embodiments, R^3 as set forth in Formula (I) may be H or $C(O)R^9$, where R^9 may be H, C_{1-6} alkyl, or C_{3-6} cycloalkyl. In some embodiments, R^3 may be H.

[0048] In some embodiments, R^4 as set forth in Formula (I) may be H, OH, or $OC(O)R^9$, where R^9 may be H, C_{1-6} alkyl, or C_{3-6} cycloalkyl. In some embodiments, R^4 may be H or OH.

25 [0049] In some embodiments, R^5 as set forth in Formula (I) may be H, OH, or $OC(O)R^9$, where R^9 may be H, C_{1-6} alkyl, or C_{3-6} cycloalkyl. In some embodiments, R^5 may be H or OH.

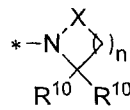
[0050] In some embodiments, R^6 as set forth in Formula (I) may be H, F, OH, or $OC(O)R^9$, where R^9 may be H, C_{1-6} alkyl, or C_{3-6} cycloalkyl. In some embodiments, R^6 may be H, F, or OH.

5 [0051] In some embodiments, each R^7 as set forth in Formula (I) may be independently H or F.

[0052] In some embodiments, each R^8 as set forth in Formula (I) may be independently H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy, where the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy may be optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl. In some embodiments, each R^8 may
10 be independently H, CH_3 , CH_2CH_3 , $(CH_2)_2CH_3$, $CH_2CH=CH_2$, or $CH_2C\equiv CH$.

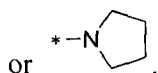
[0053] In some embodiments, the two R^8 groups as set forth in Formula (I) may be connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl.

15 [0054] In some embodiments, NR^8_2 as set forth in Formula (I), may be optionally substituted



R^{10} R^{10} , where X may be CR^{10}_2 , NR^{10} , O, C=O, $O(C=O)$, $(C=O)O$, $NR^{10}(C=O)$, or $(C=O)NR^{10}$; where each R^{10} may be independently H or C_{1-4} alkyl; and n may be an integer between 0 and 3. In some embodiments, NR^8_2 may be optionally substituted 1-aziridinyl, 1-azetidiny, 1-pyrrolidinyl, 1-piperidinyl, morpholin-4-yl, 1-piperizinyl, azetidin-2-one-1-yl,

20 pyrrolidin-2-one-1-yl, or piperid-2-one-1-yl. In some embodiments, NR^8_2 may be



[0055] In specific embodiments of the invention, compounds according to Formula (I) include the compounds described in Table 1.

Table 1

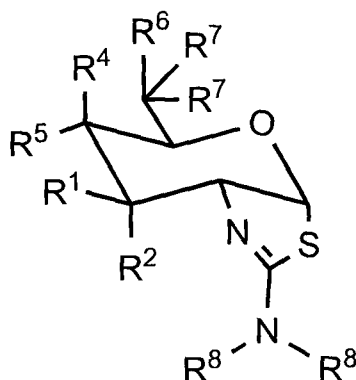
Example	Name	Structure
1	(3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(ethylamino)-5-methyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
2	(3aR,5R,6S,7aR)-2-(ethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
3	(3aR,5R,6S,7aR)-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
4	(3aR,5R,6S,7aR)-2-(dimethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
5	(3aR,5R,6S,7aR)-2-amino-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
6	(3aR,5R,6S,7aR)-5-(hydroxymethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
7	(3aR,5R,6R,7R,7aR)-2-(ethylamino)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
8	(3aR,5R,6R,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
9	(3aR,5R,6R,7R,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
10	(3aR,5R,6R,7R,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
11	(3aR,5R,6R,7S,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
12	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(ethylamino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	

Example	Name	Structure
13	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
14	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(allylamino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
15	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-amino-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
16	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(azetidin-1-yl)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
17	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(fluoromethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
18	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(fluoromethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
19	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(ethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
20	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
21	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(allylamino)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
22	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-amino-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
23	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(prop-2-yn-1-ylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	

Example	Name	Structure
24	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(azetidin-1-yl)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
25	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
26	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
27	(3aR,5S,6S,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
28	(3aR,5S,6S,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
29	(3aR,5S,6R,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(ethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
30	(3aR,5R,6S,7R,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
31	(3aR,5S,6R,7R,7aR)-7-fluoro-5-(fluoromethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
32	(3aR,5S,6R,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-7-fluoro-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
33	(3aR,5S,6R,7S,7aR)-5-(difluoromethyl)-7-fluoro-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	

Example	Name	Structure
34	(3aR,5R,6R,7S,7aR)-2-(ethylamino)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
35	(3aR,5R,6R,7S,7aR)-2-(dimethylamino)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
36	(3aR,5R,6R,7S,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
37	(3aR,5R,6R,7S,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(isobutylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
38	(3aR,5S,6R,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-7-fluoro-2-(((E)-3-fluoro-2-methylallyl)amino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
39	(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(fluoromethyl)-2-((4-hydroxybut-2-yn-1-yl)amino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol	
40	(3aR,5S,6S,7aR)-2-((2,2-difluoroethoxy)(methyl)amino)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
41	(3aR,5S,6R,7S,7aR)-7-fluoro-2-(3-fluoroazetidin-1-yl)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	
42	(3aR,5R,6S,7S,7aR)-2-(3,3-difluoroazetidin-1-yl)-7-fluoro-5-methyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol	

[0056] As will be appreciated by a person skilled in the art, Formula (I) above may also be represented alternatively as follows:



[0057] As used herein the singular forms “a”, “and”, and “the” include plural referents unless the context clearly dictates otherwise. For example, “a compound” refers to one or more of such compounds, while “the enzyme” includes a particular enzyme as well as other family members and equivalents thereof as known to those skilled in the art.

[0058] Throughout this application, it is contemplated that the term “compound” or “compounds” refers to the compounds discussed herein and includes precursors and derivatives of the compounds, including acyl-protected derivatives, and pharmaceutically acceptable salts of the compounds, precursors, and derivatives. The invention also includes prodrugs of the compounds, pharmaceutical compositions including the compounds and a pharmaceutically acceptable carrier, and pharmaceutical compositions including prodrugs of the compounds and a pharmaceutically acceptable carrier.

[0059] The compounds of the present invention may contain one or more asymmetric centers and can thus occur as racemates and racemic mixtures, single enantiomers, diastereomeric mixtures and individual diastereomers. Additional asymmetric centers may be present depending upon the nature of the various substituents on the molecule. Each such asymmetric center will independently produce two optical isomers and it is intended that all of the possible optical isomers and diastereomers in mixtures and as pure or partially purified compounds are included within the ambit of this invention. Any formulas, structures or names of compounds described in this specification that do not specify a particular stereochemistry are meant to encompass any and all existing isomers as described above and mixtures thereof in any proportion. When stereochemistry is specified, the invention is meant to encompass that particular isomer in pure form or as part of a mixture with other isomers in any proportion.

[0060] Certain groups may be optionally substituted as described herein. Suitable substituents include: H, alkyl (C₁₋₆), alkenyl (C₂₋₆), or alkynyl (C₂₋₆) each of which may

optionally contain one or more heteroatoms selected from O, S, P, N, F, Cl, Br, I, or B, and each of which may be further substituted, for example, by =O; or optionally substituted forms of acyl, alkyl-, alkenyl-, or alkynyl- and forms thereof which contain heteroatoms in the alkyl, alkenyl, or alkynyl moieties. Other suitable substituents include =O, =NR, halo, CN, CF₃, CHF₂, NO₂, OR, SR, NR₂, N₃, COOR, and CONR₂, where R is H or alkyl, cycloalkyl, alkenyl, or alkynyl. Where the substituted atom is C, the substituents may include, in addition to the substituents listed above, halo, OOCR, NROCR, where R is H or a substituent set forth above.

[0061] For example, in the above Formula (I), each C₁₋₆ acyl, C₁₋₆ alkyl, C₃₋₆ alkenyl, C₃₋₆ alkynyl, or C₁₋₆ alkoxy group may be independently optionally substituted with one or more substituents. In some embodiments, each C₁₋₆ acyl, C₁₋₆ alkyl, C₃₋₆ alkenyl, C₃₋₆ alkynyl, or C₁₋₆ alkoxy group in Formula (I) may be substituted with one or more inorganic substituents; phosphoryl; halo; =O; =NR⁹; OR; C₁₋₆ alkyl or C₂₋₆ alkenyl optionally containing one or more P, N, O, S, N, F, Cl, Br, I, or B, and optionally substituted with halo; CN; optionally substituted carbonyl; NR⁹₂; C=NR⁹; an optionally substituted carbocyclic or heterocyclic ring, where R⁹ may be H, C₁₋₆ alkyl, or C₃₋₆ cycloalkyl. In alternative embodiments, each C₁₋₆ acyl, C₁₋₆ alkyl, C₃₋₆ alkenyl, C₃₋₆ alkynyl, or C₁₋₆ alkoxy group may be optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl. In alternative embodiments, each optionally substituted C₁₋₆ acyl, C₁₋₆ alkyl, C₃₋₆ alkenyl, C₃₋₆ alkynyl, and C₁₋₆ alkoxy group in Formula (I) may independently include one or more heteroatoms selected from P, O, S, N, F, Cl, Br, I, or B.

[0062] "Alkyl" refers to a straight or branched hydrocarbon chain group consisting solely of carbon and hydrogen atoms, containing no unsaturation and including, for example, from one to ten carbon atoms, such as 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 10 carbon atoms, and which is attached to the rest of the molecule by a single bond. Unless stated otherwise specifically in the specification, the alkyl group may be optionally substituted by one or more substituents as described herein. Unless stated otherwise specifically herein, it is understood that the substitution can occur on any carbon of the alkyl group.

[0063] "Alkenyl" refers to a straight or branched hydrocarbon chain group consisting solely of carbon and hydrogen atoms, containing at least one double bond and including, for example, from two to ten carbon atoms, such as 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 10 carbon atoms, and which is attached to the rest of the molecule by a single bond or a double bond. Unless stated otherwise specifically in the specification, the alkenyl group may be optionally substituted by

one or more substituents as described herein. Unless stated otherwise specifically herein, it is understood that the substitution can occur on any carbon of the alkenyl group.

[0064] “Alkynyl” refers to a straight or branched hydrocarbon chain group consisting solely of carbon and hydrogen atoms, containing at least one triple bond and including, for example, from two to ten carbon atoms. Unless stated otherwise specifically in the specification, the alkenyl group may be optionally substituted by one or more substituents as described herein.

[0065] “Aryl” refers to a phenyl group, an aromatic ring including 6 carbon atoms. Unless stated otherwise specifically herein, the term “aryl” is meant to include aryl groups optionally substituted by one or more substituents as described herein.

[0066] “Heteroaryl” refers to a single aromatic ring group containing one or more heteroatoms in the ring, for example N, O, S, including for example, 5-6 members, such as 5 or 6 members. Examples of heteroaryl groups include furan, thiophene, pyrrole, oxazole, thiazole, imidazole, pyrazole, isoxazole, isothiazole, 1,2,3-oxadiazole, 1,2,3-triazole, 1,2,4-triazole, 1,3,4-thiadiazole, tetrazole, pyridine, pyridazine, pyrimidine, pyrazine, 1,3,5-triazine, imidazole. Unless stated otherwise specifically herein, the term “heteroaryl” is meant to include heteroaryl groups optionally substituted by one or more substituents as described herein.

[0067] “Acyl” refers to a group of the formula $-C(O)R_a$, where R_a is a C_{1-10} alkyl or C_{3-15} cycloalkyl group as described herein. The alkyl or cycloalkyl group(s) may be optionally substituted as described herein.

[0068] “Alkoxy” refers to a group of the formula $-OR_b$, where R_b is a C_{1-10} alkyl group as described herein. The alkyl group(s) may be optionally substituted as described herein.

[0069] “Cycloalkyl” refers to a stable monovalent monocyclic, bicyclic or tricyclic hydrocarbon group consisting solely of carbon and hydrogen atoms, having for example from 3 to 15 carbon atoms, and which is saturated and attached to the rest of the molecule by a single bond. Unless otherwise stated specifically herein, the term “cycloalkyl” is meant to include cycloalkyl groups which are optionally substituted as described herein.

[0070] “Halo” refers to bromo, chloro, fluoro, iodo, etc. In some embodiments, suitable halogens include fluorine or chlorine.

[0071] In some embodiments, two R^8 groups as set forth in Formula (I) may be connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring. In these

- embodiments, “ring” refers to a stable nitrogen-containing monocyclic group having 3 to 6 members that may be saturated or monounsaturated. In alternative embodiments, the ring may include C, H and N atoms. In other embodiments, the ring may include heteroatoms, for example O and S. Examples of a ring in these embodiments include 1-aziridinyl, 1-azetidiny
- 5 azetidiny, 1-pyrrolidinyl, 2,5-dihydro-1H-pyrrol-1-yl, 1-piperidinyl, 1,2,3,6-tetrahydropyridin-1-yl, morpholin-4-yl, thiomorpholin-4-yl, 1-piperizinyl, azetidin-2-one-1-yl, pyrrolidin-2-one-1-yl, piperid-2-one-1-yl, 1,2-oxazetidin-2-yl, isoxazolidin-2-yl, and 1,2-oxazinan-2-yl. The ring in these embodiments may be optionally substituted as described herein.
- 10 [0072] “Optional” or “optionally” means that the subsequently described event of circumstances may or may not occur, and that the description includes instances where said event or circumstance occurs one or more times and instances in which it does not. For example, “optionally substituted alkyl” means that the alkyl group may or may not be substituted and that the description includes both substituted alkyl groups and alkyl groups
- 15 having no substitution, and that said alkyl groups may be substituted one or more times. Examples of optionally substituted alkyl groups include, without limitation, methyl, ethyl, propyl, etc. and including cycloalkyls such as cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, etc.; examples of optionally substituted alkenyl groups include allyl, crotyl, 2-pentenyl, 3-hexenyl, 2-cyclopentenyl, 2-cyclohexenyl, 2-cyclopentenylmethyl,
- 20 2-cyclohexenylmethyl, etc. In some embodiments, optionally substituted alkyl and alkenyl groups include C₁₋₆ alkyls or alkenyls.

Therapeutic Indications

- [0073] The invention provides methods of treating conditions that are modulated, directly or
- 25 indirectly, by an O-GlcNAcase enzyme or by O-GlcNAc-modified protein levels, for example, a condition that is benefited by inhibition of an O-GlcNAcase enzyme or by an elevation of O-GlcNAc-modified protein levels. Such conditions include, without limitation, Glaucoma, Schizophrenia, tauopathies, such as Alzheimer’s disease, neurodegenerative diseases, cardiovascular diseases, diseases associated with inflammation, diseases associated
- 30 with immunosuppression and cancers. One or more of the compounds of the invention are also useful in the treatment of diseases or disorders related to deficiency or over-expression of O-GlcNAcase or accumulation or depletion of O-GlcNAc, or any disease or disorder

responsive to glycosidase inhibition therapy. Such diseases and disorders include, but are not limited to, Glaucoma, Schizophrenia, neurodegenerative disorders, such as Alzheimer's disease (AD), or cancer. Such diseases and disorders may also include diseases or disorders related to the accumulation or deficiency in the enzyme OGT. Also included is a method of
5 protecting or treating target cells expressing proteins that are modified by O-GlcNAc residues, the dysregulation of which modification results in disease or pathology. The term "treating" as used herein includes treatment, prevention, and amelioration.

[0074] In alternative embodiments, the invention provides methods of enhancing or elevating levels of protein O-GlcNAc modification in animal subjects, such as, veterinary and human
10 subjects. This elevation of O-GlcNAc levels can be useful for the prevention or treatment of Alzheimer's disease; prevention or treatment of other neurodegenerative diseases (e.g. Parkinson's disease, Huntington's disease); providing neuroprotective effects; preventing damage to cardiac tissue; and treating diseases associated with inflammation or immunosuppression.

15 [0075] In alternative embodiments, the invention provides methods of selectively inhibiting an O-GlcNAcase enzyme in animal subjects, such as veterinary and human subjects.

[0076] In alternative embodiments, the invention provides methods of inhibiting phosphorylation of tau polypeptides, or inhibiting formation of NFTs, in animal subjects, such as, veterinary and human subjects. Accordingly, a compound of the invention may be
20 used to study and treat AD and other tauopathies.

[0077] In general, the methods of the invention are effected by administering a compound according to the invention to a subject in need thereof, or by contacting a cell or a sample with a compound according to the invention, for example, a pharmaceutical composition comprising a therapeutically effective amount of the compound according to Formula (I).

25 More particularly, they are useful in the treatment of a disorder in which the regulation of O-GlcNAc protein modification is implicated, or any condition as described herein. Disease states of interest include Alzheimer's disease (AD) and related neurodegenerative tauopathies, in which abnormal hyperphosphorylation of the microtubule-associated protein tau is involved in disease pathogenesis. In some embodiments, a compound may be used to block
30 hyperphosphorylation of tau by maintaining elevated levels of O-GlcNAc on tau, thereby providing therapeutic benefit.

[0078] The effectiveness of a compound in treating pathology associated with the accumulation of toxic tau species (for example, Alzheimer's disease and other tauopathies) may be confirmed by testing the ability of a compound to block the formation of toxic tau species in established cellular¹¹⁸⁻¹²⁰ and/or transgenic animal models of disease.^{32,33}

5 [0079] Tauopathies that may be treated with a compound of the invention include: Alzheimer's disease, Amyotrophic lateral sclerosis (ALS), Amyotrophic lateral sclerosis with cognitive impairment (ALSci), Argyrophilic grain dementia, Bluit disease, Corticobasal degeneration (CBD), Dementia pugilistica, Diffuse neurofibrillary tangles with calcification, Down's syndrome, Familial British dementia, Familial Danish dementia, Frontotemporal
10 dementia with parkinsonism linked to chromosome 17 (FTDP-17), Gerstmann-Straussler-Scheinker disease, Guadeloupean parkinsonism, Hallevorden-Spatz disease (neurodegeneration with brain iron accumulation type 1), Multiple system atrophy, Myotonic dystrophy, Niemann-Pick disease (type C), Pallido-ponto-nigral degeneration, Parkinsonism-dementia complex of Guam, Pick's disease (PiD), Post-encephalitic parkinsonism (PEP),
15 Prion diseases (including Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD), Variant Creutzfeldt-Jakob Disease (vCJD), Fatal Familial Insomnia, and Kuru), Progressive supracortical gliosis, Progressive supranuclear palsy (PSP), Richardson's syndrome, Subacute sclerosing panencephalitis, Tangle-only dementia, and Glaucoma.

[0080] One or more of the compounds of this invention are also useful in the treatment of
20 conditions associate with tissue damage or stress, stimulating cells, or promoting differentiation of cells. Accordingly, in some embodiments, a compound of this invention may be used to provide therapeutic benefit in a variety of conditions or medical procedures involving stress in cardiac tissue, including but not limited to: ischemia; hemorrhage; hypovolemic shock; myocardial infarction; an interventional cardiology procedure; cardiac
25 bypass surgery; fibrinolytic therapy; angioplasty; and stent placement.

[0081] The effectiveness of a compound in treating pathology associated with cellular stress (including ischemia, hemorrhage, hypovolemic shock, myocardial infarction, and other cardiovascular disorders) may be confirmed by testing the ability of a compound to prevent cellular damage in established cellular stress assays,^{105,116,117} and to prevent tissue damage
30 and promote functional recovery in animal models of ischemia-reperfusion,^{70,114} and trauma-hemorrhage.^{72,112,115}

[0082] Compounds that selectively inhibit O-GlcNAcase activity may be used for the treatment of diseases that are associated with inflammation, including but not limited to, inflammatory or allergic diseases such as asthma, allergic rhinitis, hypersensitivity lung diseases, hypersensitivity pneumonitis, eosinophilic pneumonias, delayed-type

5 hypersensitivity, atherosclerosis, interstitial lung disease (ILD) (*e.g.*, idiopathic pulmonary fibrosis, or ILD associated with rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, ankylosing spondylitis, systemic sclerosis, Sjogren's syndrome, polymyositis or dermatomyositis); systemic anaphylaxis or hypersensitivity responses, drug allergies, insect

10 stinging allergies; autoimmune diseases, such as rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, multiple sclerosis, Guillain-Barré syndrome, systemic lupus erythematosus, myasthenia gravis, glomerulonephritis, autoimmune thyroiditis, graft rejection, including allograft rejection or graft-versus-host disease; inflammatory bowel diseases, such as Crohn's disease and ulcerative colitis; spondyloarthropathies; scleroderma; psoriasis (including T-cell mediated psoriasis) and inflammatory dermatoses such as dermatitis, eczema, atopic dermatitis, allergic

15 contact dermatitis, urticaria; vasculitis (*e.g.*, necrotizing, cutaneous, and hypersensitivity vasculitis); eosinophilic myositis, eosinophilic fasciitis; and cancers.

[0083] In addition, compounds that affects levels of protein O-GlcNAc modification may be used for the treatment of diseases associated with immunosuppression, such as in individuals undergoing chemotherapy, radiation therapy, enhanced wound healing and burn treatment,

20 therapy for autoimmune disease or other drug therapy (*e.g.*, corticosteroid therapy) or combination of conventional drugs used in the treatment of autoimmune diseases and graft/transplantation rejection, which causes immunosuppression; or immunosuppression due to congenital deficiency in receptor function or other causes.

[0084] One or more of the compounds of the invention may be useful for treatment of

25 neurodegenerative diseases, including Parkinson's disease and Huntington's disease. Other conditions that may be treated are those triggered, affected, or in any other way correlated with levels of O-GlcNAc post-translational protein modification. It is expected that one or more of the compounds of this invention may be useful for the treatment of such conditions and in particular, but not limited to, the following for which a association with O-GlcNAc

30 levels on proteins has been established: graft rejection, in particular but not limited to solid organ transplants, such as heart, lung, liver, kidney, and pancreas transplants (*e.g.* kidney and lung allografts); cancer, in particular but not limited to cancer of the breast, lung, prostate, pancreas, colon, rectum, bladder, kidney, ovary; as well as non-Hodgkin's lymphoma and

melanoma; epilepsy, pain, fibromyalgia, or stroke, e.g., for neuroprotection following a stroke.

Pharmaceutical & Veterinary Compositions, Dosages, And Administration

[0085] Pharmaceutical compositions including compounds according to the invention, or for use according to the invention, are contemplated as being within the scope of the invention. In some embodiments, pharmaceutical compositions including an effective amount of a compound of Formula (I) are provided.

[0086] The compounds of Formula (I) and their pharmaceutically acceptable salts, enantiomers, solvates, and derivatives are useful because they have pharmacological activity in animals, including humans. In some embodiments, one or more of the compounds according to the invention are stable in plasma, when administered to a subject.

[0087] In some embodiments, a compound according to the invention, or for use according to the invention, may be provided in combination with any other active agents or

pharmaceutical compositions where such combined therapy is useful to modulate O-GlcNAcase activity, for example, to treat neurodegenerative, inflammatory, cardiovascular, or immunoregulatory diseases, or any condition described herein. In some embodiments, a compound according to the invention, or for use according to the invention, may be provided in combination with one or more agents useful in the prevention or treatment of Alzheimer's disease. Examples of such agents include, without limitation,

- acetylcholine esterase inhibitors (AChEIs) such as Aricept® (Donepezil), Exelon® (Rivastigmine), Razadyne® (Razadyne ER®, Reminyl®, Nivalin®, Galantamine), Cognex® (Tacrine), Dimebon, Huperzine A, Phenserine, Debio-9902 SR (ZT-1 SR), Zanapezil (TAK0147), ganstigmine, NP7557, etc.;
- NMDA receptor antagonists such as Namenda® (Axura®, Akatinol®, Ebixa®, Memantine), Dimebon, SGS-742, Neramexane, Debio-9902 SR (ZT-1 SR), etc.;
- gamma-secretase inhibitors and/or modulators such as Flurizan™ (Tarenflurbil, MPC-7869, R-flurbiprofen), LY450139, MK 0752, E2101, BMS-289948, BMS-299897, BMS-433796, LY-411575, GSI-136, etc.;
- beta-secretase inhibitors such as ATG-Z1, CTS-21166, etc.;
- alpha-secretase activators, such as NGX267, etc.;

- amyloid- β aggregation and/or fibrillization inhibitors such as AlzhemedTM (3APS, Tramiprosate, 3-amino-1-propanesulfonic acid), AL-108, AL-208, AZD-103, PBT2, Cereact, ONO-2506PO, PPI-558, etc.;
- tau aggregation inhibitors such as methylene blue, etc.;
- 5 • microtubule stabilizers such as AL-108, AL-208, paclitaxel, etc.;
- RAGE inhibitors, such as TTP488, etc.;
- 5-HT_{1a} receptor antagonists, such as Xaliproden, Lecozotan, etc.;
- 5-HT₄ receptor antagonists, such as PRX-03410, etc.;
- kinase inhibitors such as SRN-003-556, amfurindamide, LiCl, AZD1080, NP031112, 10 SAR-502250, etc.;
- humanized monoclonal anti-A β antibodies such as Bapineuzumab (AAB-001), LY2062430, RN1219, ACU-5A5, etc.;
- amyloid vaccines such as AN-1792, ACC-001, etc.;
- neuroprotective agents such as Cerebrolysin, AL-108, AL-208, Huperzine A, etc.;
- 15 • L-type calcium channel antagonists such as MEM-1003, etc.;
- nicotinic receptor antagonists, such as AZD3480, GTS-21, etc.;
- nicotinic receptor agonists, such as MEM 3454, Nefiracetam, etc.;
- peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma agonists such as Avandia® (Rosglitazone), etc.;
- 20 • phosphodiesterase IV (PDE4) inhibitors, such as MK-0952, etc.;
- hormone replacement therapy such as estrogen (Premarin), etc.;
- monoamine oxidase (MAO) inhibitors such as NS2330, Rasagiline (Azilect®), TVP-1012, etc.;
- AMPA receptor modulators such as Ampalex (CX 516), etc.;
- 25 • nerve growth factors or NGF potentiators, such as CERE-110 (AAV-NGF), T-588, T-817MA, etc.;
- agents that prevent the release of luteinizing hormone (LH) by the pituitary gland, such as leuprolide (VP-4896), etc.;
- GABA receptor modulators such as AC-3933, NGD 97-1, CP-457920, etc.;
- 30 • benzodiazepine receptor inverse agonists such as SB-737552 (S-8510), AC-3933, etc.;
- noradrenaline-releasing agents such as T-588, T-817MA, etc.

[0088] It is to be understood that combination of compounds according to the invention, or for use according to the invention, with Alzheimer's agents is not limited to the examples described herein, but includes combination with any agent useful for the treatment of Alzheimer's disease. Combination of compounds according to the invention, or for use
5 according to the invention, and other Alzheimer's agents may be administered separately or in conjunction. The administration of one agent may be prior to, concurrent to, or subsequent to the administration of other agent(s).

[0089] In alternative embodiments, a compound may be supplied as a "prodrug" or protected forms, which release the compound after administration to a subject. For example, a
10 compound may carry a protective group which is split off by hydrolysis in body fluids, *e.g.*, in the bloodstream, thus releasing the active compound or is oxidized or reduced in body fluids to release the compound. Accordingly, a "prodrug" is meant to indicate a compound that may be converted under physiological conditions or by solvolysis to a biologically active compound of the invention. Thus, the term "prodrug" refers to a metabolic precursor of a
15 compound of the invention that is pharmaceutically acceptable. A prodrug may be inactive when administered to a subject in need thereof, but is converted *in vivo* to an active compound of the invention. Prodrugs are typically rapidly transformed *in vivo* to yield the parent compound of the invention, for example, by hydrolysis in blood. The prodrug compound often offers advantages of solubility, tissue compatibility or delayed release in a subject.

[0090] The term "prodrug" is also meant to include any covalently bonded carriers which
20 release the active compound of the invention *in vivo* when such prodrug is administered to a subject. Prodrugs of a compound of the invention may be prepared by modifying functional groups present in the compound of the invention in such a way that the modifications are cleaved, either in routine manipulation or *in vivo*, to the parent compound of the invention.
25 Prodrugs include compounds of the invention where a hydroxy, amino or mercapto group is bonded to any group that, when the prodrug of the compound of the invention is administered to a mammalian subject, cleaves to form a free hydroxy, free amino or free mercapto group, respectively. Examples of prodrugs include, but are not limited to, acetate, formate and benzoate derivatives of alcohol and acetamide, formamide, and benzamide derivatives of
30 amine functional groups in one or more of the compounds of the invention and the like.

[0091] A discussion of prodrugs may be found in "Smith and Williams' Introduction to the Principles of Drug Design," H.J. Smith, Wright, Second Edition, London (1988); Bundgard, H., *Design of Prodrugs* (1985), pp. 7-9, 21-24 (Elsevier, Amsterdam); The Practice of

Medicinal Chemistry, Camille G. Wermuth et al., Ch 31, (Academic Press, 1996); A Textbook of Drug Design and Development, P. Krogsgaard-Larson and H. Bundgaard, eds. Ch 5, pgs 113 191 (Harwood Academic Publishers, 1991); Higuchi, T., *et al.*, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," A.C.S. Symposium Series, Vol. 14; or in Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, all of which are incorporated in full by reference herein.

[0092] Suitable prodrug forms of one or more of the compounds of the invention include embodiments in which one or more R^3 as set forth in Formula (I) is (CO)R, where R is optionally substituted alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, or heteroaryl. In these cases the ester groups may be hydrolyzed in vivo (e.g. in bodily fluids), releasing the active compounds in which each R^3 is H. Preferred prodrug embodiments of the invention include compounds of Formula (I) where one or more R^3 is C(O)CH₃.

[0093] Compounds according to the invention, or for use according to the invention, can be provided alone or in combination with other compounds in the presence of a liposome, an adjuvant, or any pharmaceutically acceptable carrier, diluent or excipient, in a form suitable for administration to a subject such as a mammal, for example, humans, cattle, sheep, etc. If desired, treatment with a compound according to the invention may be combined with more traditional and existing therapies for the therapeutic indications described herein.

Compounds according to the invention may be provided chronically or intermittently. "Chronic" administration refers to administration of the compound(s) in a continuous mode as opposed to an acute mode, so as to maintain the initial therapeutic effect (activity) for an extended period of time. "Intermittent" administration is treatment that is not consecutively done without interruption, but rather is cyclic in nature. The terms "administration," "administrable," or "administering" as used herein should be understood to mean providing a compound of the invention to the subject in need of treatment.

[0094] "Pharmaceutically acceptable carrier, diluent or excipient" includes without limitation any adjuvant, carrier, excipient, glidant, sweetening agent, diluent, preservative, dye/colorant, flavor enhancer, surfactant, wetting agent, dispersing agent, suspending agent, stabilizer, isotonic agent, solvent, or emulsifier that has been approved, for example, by the United States Food and Drug Administration or other governmental agency as being acceptable for use in humans or domestic animals.

[0095] A compound of the present invention may be administered in the form of a pharmaceutically acceptable salt. In such cases, pharmaceutical compositions in accordance with this invention may comprise a salt of such a compound, preferably a physiologically acceptable salt, which are known in the art. In some embodiments, the term

5 "pharmaceutically acceptable salt" as used herein means an active ingredient comprising compounds of Formula I used in the form of a salt thereof, particularly where the salt form confers on the active ingredient improved pharmacokinetic properties as compared to the free form of the active ingredient or other previously disclosed salt form.

[0096] A "pharmaceutically acceptable salt" includes both acid and base addition salts. A
10 "pharmaceutically acceptable acid addition salt" refers to those salts which retain the biological effectiveness and properties of the free bases, which are not biologically or otherwise undesirable, and which are formed with inorganic acids such as hydrochloric acid, hydrobromic acid, sulfuric acid, nitric acid, phosphoric acid and the like, and organic acids such as acetic acid, trifluoroacetic acid, propionic acid, glycolic acid, pyruvic acid, oxalic
15 acid, maleic acid, malonic acid, succinic acid, fumaric acid, tartaric acid, citric acid, benzoic acid, cinnamic acid, mandelic acid, methanesulfonic acid, ethanesulfonic acid, p-toluenesulfonic acid, salicylic acid, and the like.

[0097] A "pharmaceutically acceptable base addition salt" refers to those salts which retain the biological effectiveness and properties of the free acids, which are not biologically or
20 otherwise undesirable. These salts are prepared from addition of an inorganic base or an organic base to the free acid. Salts derived from inorganic bases include, but are not limited to, the sodium, potassium, lithium, ammonium, calcium, magnesium, iron, zinc, copper, manganese, aluminum salts and the like. Preferred inorganic salts are the ammonium, sodium, potassium, calcium, and magnesium salts. Salts derived from organic bases include,
25 but are not limited to, salts of primary, secondary, and tertiary amines, substituted amines including naturally occurring substituted amines, cyclic amines and basic ion exchange resins, such as isopropylamine, trimethylamine, diethylamine, triethylamine, tripropylamine, ethanolamine, 2-dimethylaminoethanol, 2-diethylaminoethanol, dicyclohexylamine, lysine, arginine, histidine, caffeine, procaine, hydrabamine, choline, betaine, ethylenediamine,
30 glucosamine, methylglucamine, theobromine, purines, piperazine, piperidine, N-ethylpiperidine, polyamine resins and the like. Particularly preferred organic bases are isopropylamine, diethylamine, ethanolamine, trimethylamine, dicyclohexylamine, choline and caffeine.

[0098] Thus, the term “pharmaceutically acceptable salt” encompasses all acceptable salts including but not limited to acetate, lactobionate, benzenesulfonate, laurate, benzoate, malate, bicarbonate, maleate, bisulfate, mandelate, bitartrate, mesylate, borate, methylbromide, bromide, methylnitrite, calcium edetate, methylsulfate, camsylate, mucate, carbonate, napsylate, chloride, nitrate, clavulanate, N-methylglucamine, citrate, ammonium salt, dihydrochloride, oleate, edetate, oxalate, edisylate, pamoate (embonate), estolate, palmitate, esylate, pantothenate, fumarate, phosphate/diphosphate, gluceptate, polygalacturonate, gluconate, salicylate, glutame, stearate, glycollylarsanilate, sulfate, hexylresorcinate, subacetate, hydradamine, succinate, hydrobromide, tannate, hydrochloride, tartrate, hydroxynaphthoate, teoclate, iodide, tosylate, isothionate, triethiodide, lactate, panoate, valerate, and the like.

[0099] Pharmaceutically acceptable salts of a compound of the present invention can be used as a dosage for modifying solubility or hydrolysis characteristics, or can be used in sustained release or prodrug formulations. Also, pharmaceutically acceptable salts of a compound of this invention may include those formed from cations such as sodium, potassium, aluminum, calcium, lithium, magnesium, zinc, and from bases such as ammonia, ethylenediamine, N-methyl-glutamine, lysine, arginine, ornithine, choline, N,N'-dibenzylethylene-diamine, chloroprocaine, diethanolamine, procaine, N-benzylphenethyl-amine, diethylamine, piperazine, tris(hydroxymethyl)aminomethane, and tetramethylammonium hydroxide.

[00100] Pharmaceutical formulations will typically include one or more carriers acceptable for the mode of administration of the preparation, be it by injection, inhalation, topical administration, lavage, or other modes suitable for the selected treatment. Suitable carriers are those known in the art for use in such modes of administration.

[00101] Suitable pharmaceutical compositions may be formulated by means known in the art and their mode of administration and dose determined by the skilled practitioner. For parenteral administration, a compound may be dissolved in sterile water or saline or a pharmaceutically acceptable vehicle used for administration of non-water soluble compounds such as those used for vitamin K. For enteral administration, the compound may be administered in a tablet, capsule or dissolved in liquid form. The table or capsule may be enteric coated, or in a formulation for sustained release. Many suitable formulations are known, including, polymeric or protein microparticles encapsulating a compound to be released, ointments, gels, hydrogels, or solutions which can be used topically or locally to administer a compound. A sustained release patch or implant may be employed to provide

release over a prolonged period of time. Many techniques known to skilled practitioners are described in *Remington: the Science & Practice of Pharmacy* by Alfonso Gennaro, 20th ed., Williams & Wilkins, (2000). Formulations for parenteral administration may, for example, contain excipients, polyalkylene glycols such as polyethylene glycol, oils of vegetable origin, or hydrogenated naphthalenes. Biocompatible, biodegradable lactide polymer, lactide/glycolide copolymer, or polyoxyethylene-polyoxypropylene copolymers may be used to control the release of a compound. Other potentially useful parenteral delivery systems for modulatory compounds include ethylene-vinyl acetate copolymer particles, osmotic pumps, implantable infusion systems, and liposomes. Formulations for inhalation may contain excipients, for example, lactose, or may be aqueous solutions containing, for example, polyoxyethylene-9-lauryl ether, glycocholate and deoxycholate, or may be oily solutions for administration in the form of nasal drops, or as a gel.

[00102] A compound or a pharmaceutical composition according to the present invention may be administered by oral or non-oral, e.g., intramuscular, intraperitoneal, intravenous, intracisternal injection or infusion, subcutaneous injection, transdermal or transmucosal routes. In some embodiments, a compound or pharmaceutical composition in accordance with this invention or for use in this invention may be administered by means of a medical device or appliance such as an implant, graft, prosthesis, stent, etc. Implants may be devised which are intended to contain and release such compounds or compositions. An example would be an implant made of a polymeric material adapted to release the compound over a period of time. A compound may be administered alone or as a mixture with a pharmaceutically acceptable carrier e.g., as solid formulations such as tablets, capsules, granules, powders, etc.; liquid formulations such as syrups, injections, etc.; injections, drops, suppositories, pessaries. In some embodiments, compounds or pharmaceutical compositions in accordance with this invention or for use in this invention may be administered by inhalation spray, nasal, vaginal, rectal, sublingual, or topical routes and may be formulated, alone or together, in suitable dosage unit formulations containing conventional non-toxic pharmaceutically acceptable carriers, adjuvants and vehicles appropriate for each route of administration.

[00103] A compound of the invention may be used to treat animals, including mice, rats, horses, cattle, sheep, dogs, cats, and monkeys. However, a compound of the invention can also be used in other organisms, such as avian species (e.g., chickens). One or more of the compounds of the invention may also be effective for use in humans. The term "subject" or

alternatively referred to herein as “patient” is intended to be referred to an animal, preferably a mammal, most preferably a human, who has been the object of treatment, observation or experiment. However, one or more of the compounds, methods and pharmaceutical compositions of the present invention may be used in the treatment of animals. Accordingly, as used herein, a “subject” may be a human, non-human primate, rat, mouse, cow, horse, pig, sheep, goat, dog, cat, etc. The subject may be suspected of having or at risk for having a condition requiring modulation of O-GlcNAcase activity.

[00104] An “effective amount” of a compound according to the invention includes a therapeutically effective amount or a prophylactically effective amount. A “therapeutically effective amount” refers to an amount effective, at dosages and for periods of time necessary, to achieve the desired therapeutic result, such as inhibition of an O-GlcNAcase, elevation of O-GlcNAc levels, inhibition of tau phosphorylation, or any condition described herein. A therapeutically effective amount of a compound may vary according to factors such as the disease state, age, sex, and weight of the individual, and the ability of the compound to elicit a desired response in the individual. Dosage regimens may be adjusted to provide the optimum therapeutic response. A therapeutically effective amount is also one in which any toxic or detrimental effects of the compound are outweighed by the therapeutically beneficial effects. A “prophylactically effective amount” refers to an amount effective, at dosages and for periods of time necessary, to achieve the desired prophylactic result, such as inhibition of an O-GlcNAcase, elevation of O-GlcNAc levels, inhibition of tau phosphorylation, or any condition described herein. Typically, a prophylactic dose is used in subjects prior to or at an earlier stage of disease, so that a prophylactically effective amount may be less than a therapeutically effective amount. A suitable range for therapeutically or prophylactically effective amounts of a compound may be any integer from 0.1 nM-0.1 M, 0.1 nM-0.05 M, 0.05 nM-15 μ M or 0.01 nM-10 μ M.

[00105] In alternative embodiments, in the treatment or prevention of conditions which require modulation of O-GlcNAcase activity, an appropriate dosage level will generally be about 0.01 to 500 mg per kg subject body weight per day, and can be administered in single or multiple doses. In some embodiments, the dosage level will be about 0.1 to about 250 mg/kg per day. It will be understood that the specific dose level and frequency of dosage for any particular patient may be varied and will depend upon a variety of factors including the activity of the specific compound used, the metabolic stability and length of action of that compound, the age, body weight, general health, sex, diet, mode and time of administration,

rate of excretion, drug combination, the severity of the particular condition, and the patient undergoing therapy.

[00106] It is to be noted that dosage values may vary with the severity of the condition to be alleviated. For any particular subject, specific dosage regimens may be adjusted over time according to the individual need and the professional judgement of the person administering or supervising the administration of the compositions. Dosage ranges set forth herein are exemplary only and do not limit the dosage ranges that may be selected by medical practitioners. The amount of active compound(s) in the composition may vary according to factors such as the disease state, age, sex, and weight of the subject. Dosage regimens may be adjusted to provide the optimum therapeutic response. For example, a single bolus may be administered, several divided doses may be administered over time or the dose may be proportionally reduced or increased as indicated by the exigencies of the therapeutic situation. It may be advantageous to formulate parenteral compositions in dosage unit form for ease of administration and uniformity of dosage. In general, compounds of the invention should be used without causing substantial toxicity, and as described herein, one or more of the compounds exhibit a suitable safety profile for therapeutic use. Toxicity of a compound of the invention can be determined using standard techniques, for example, by testing in cell cultures or experimental animals and determining the therapeutic index, i.e., the ratio between the LD50 (the dose lethal to 50% of the population) and the LD100 (the dose lethal to 100% of the population). In some circumstances however, such as in severe disease conditions, it may be necessary to administer substantial excesses of the compositions.

[00107] In the compounds of generic Formula (I), the atoms may exhibit their natural isotopic abundances, or one or more of the atoms may be artificially enriched in a particular isotope having the same atomic number, but an atomic mass or mass number different from the atomic mass or mass number predominantly found in nature. The present invention is meant to include all suitable isotopic variations of the compounds of generic Formula (I). For example, different isotopic forms of hydrogen (H) include protium (^1H), deuterium (^2H) and tritium (^3H). Protium is the predominant hydrogen isotope found in nature. Enriching for deuterium may afford certain therapeutic advantages, such as increasing *in vivo* half-life or reducing dosage requirements, or may provide a compound useful as a standard for characterization of biological samples. Isotopically-enriched compounds within generic Formula (I) can be prepared without undue experimentation by conventional techniques well

known to those skilled in the art or by processes analogous to those described in the Schemes and Examples herein using appropriate isotopically-enriched reagents and/or intermediates.

Other Uses and Assays

5 [00108] A compound of Formula (I) may be used in screening assays for compounds which modulate the activity of glycosidase enzymes, preferably the O-GlcNAcase enzyme. The ability of a test compound to inhibit O-GlcNAcase-dependent cleavage of O-GlcNAc from a model substrate may be measured using any assays, as described herein or known to one of ordinary skill in the art. For example, a fluorescence or UV-based assay known in the art may
10 be used. A “test compound” is any naturally-occurring or artificially-derived chemical compound. Test compounds may include, without limitation, peptides, polypeptides, synthesised organic molecules, naturally occurring organic molecules, and nucleic acid molecules. A test compound can “compete” with a known compound such as a compound of Formula (I) by, for example, interfering with inhibition of O-GlcNAcase-dependent cleavage
15 of O-GlcNAc or by interfering with any biological response induced by a compound of Formula (I).

[00109] Generally, a test compound can exhibit any value between 10% and 200%, or over 500%, modulation when compared to a compound of Formula (I) or other reference compound. For example, a test compound may exhibit at least any positive or negative
20 integer from 10% to 200% modulation, or at least any positive or negative integer from 30% to 150% modulation, or at least any positive or negative integer from 60% to 100% modulation, or any positive or negative integer over 100% modulation. A compound that is a negative modulator will in general decrease modulation relative to a known compound, while a compound that is a positive modulator will in general increase modulation relative to a
25 known compound.

[00110] In general, test compounds are identified from large libraries of both natural products or synthetic (or semi-synthetic) extracts or chemical libraries according to methods known in the art. Those skilled in the field of drug discovery and development will understand that the precise source of test extracts or compounds is not critical to the
30 method(s) of the invention. Accordingly, virtually any number of chemical extracts or compounds can be screened using the exemplary methods described herein. Examples of such extracts or compounds include, but are not limited to, plant-, fungal-, prokaryotic- or

animal-based extracts, fermentation broths, and synthetic compounds, as well as modification of existing compounds. Numerous methods are also available for generating random or directed synthesis (e.g., semi-synthesis or total synthesis) of any number of chemical compounds, including, but not limited to, saccharide-, lipid-, peptide-, and nucleic acid-based compounds. Synthetic compound libraries are commercially available. Alternatively, libraries of natural compounds in the form of bacterial, fungal, plant, and animal extracts are commercially available from a number of sources, including Biotics (Sussex, UK), Xenova (Slough, UK), Harbor Branch Oceanographic Institute (Ft. Pierce, FL, USA), and PharmaMar, MA, USA. In addition, natural and synthetically produced libraries are produced, if desired, according to methods known in the art, e.g., by standard extraction and fractionation methods. Furthermore, if desired, any library or compound is readily modified using standard chemical, physical, or biochemical methods.

[00111] When a crude extract is found to modulate inhibition of O-GlcNAcase-dependent cleavage of O-GlcNAc, or any biological response induced by a compound of Formula (I), further fractionation of the positive lead extract is necessary to isolate chemical constituents responsible for the observed effect. Thus, the goal of the extraction, fractionation, and purification process is the careful characterization and identification of a chemical entity within the crude extract having O-GlcNAcase- inhibitory activities. The same assays described herein for the detection of activities in mixtures of compounds can be used to purify the active component and to test derivatives thereof. Methods of fractionation and purification of such heterogeneous extracts are known in the art. If desired, compounds shown to be useful agents for treatment are chemically modified according to methods known in the art. Compounds identified as being of therapeutic, prophylactic, diagnostic, or other value may be subsequently analyzed using a suitable animal model, as described herein on known in the art.

[00112] In some embodiments, one or more of the compounds are useful in the development of animal models for studying diseases or disorders related to deficiencies in O-GlcNAcase, over-expression of O-GlcNAcase, accumulation of O-GlcNAc, depletion of O-GlcNAc, and for studying treatment of diseases and disorders related to deficiency or over-expression of O-GlcNAcase, or accumulation or depletion of O-GlcNAc. Such diseases and disorders include neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease, and cancer.

[00113] Various alternative embodiments and examples of the invention are described herein. These embodiments and examples are illustrative and should not be construed as limiting the scope of the invention.

5 EXAMPLES

[00114] The following examples are intended to illustrate embodiments of the invention and are not intended to be construed in a limiting manner.

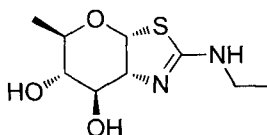
Abbreviations

	ABCN	= 1,1'-azobis(cyclohexane-carbonitrile)
10	AcCl	= acetyl chloride
	AcOH	= acetic acid
	BCl ₃	= boron trichloride
	BnBr	= benzyl bromide
	Boc ₂ O	= di- <i>tert</i> -butyl dicarbonate
15	BzCl	= benzoyl chloride
	DAST	= diethylaminosulfur trifluoride
	DCM	= dichloromethane
	DIPEA	= diisopropylethylamine
	DMAP	= 4-dimethylaminopyridine
20	DMF	= <i>N,N</i> -dimethylformamide
	DMP	= Dess-Martin periodinane
	Et ₃ N	= triethylamine
	Et ₂ O	= diethyl ether
	TBDMSCl	= <i>tert</i> -butyldimethylsilyl chloride
25	TBAF	= tetra- <i>n</i> -butylammonium fluoride
	TFA	= 2,2,2-trifluoroacetic acid
	THF	= tetrahydrofuran

thio-CDI = 1,1'-thiocarbonyl diimidazole

Example 1

(3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(ethylamino)-5-methyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol



5

[00115] To a suspension of (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(ethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol (35.0 g, 141 mmol) in DMF (300 mL) cooled at 15°C, was added DIPEA (6.0 mL), Boc₂O (61.5 g, 282 mmol) and MeOH (6.0 mL). The mixture was stirred at room temperature for 16 h, and then MeOH (50 mL) was added. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure at ~35°C. The residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes 1:1, then MeOH/DCM, 1:5), followed by recrystallization from EtOAc/hexanes, to afford tert-butyl ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6,7-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(ethyl)carbamate as a white solid (31.5 g, 64% yield). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.12 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 4.23-4.22 (m, 1H), 4.17-4.14 (m, 1H), 3.91-3.86 (m, 2H), 3.81-3.77 (m, 3H), 3.59-3.55 (m, 1H), 3.17-3.16 (m, 1H, OH), 1.53 (s, 9H), 1.16 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H).

10

15

[00116] To a solution of the above material (5.0 g, 14.4 mmol) in DMF (25 mL) was added imidazole (1.57g, 23.1 mmol) and TBDMSCl (2.82g, 18.7 mmol). The reaction mixture stirred at room temperature for 30 h was diluted with EtOAc (100 mL). Organics were washed with satd. NH₄Cl, brine, dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated. The residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:1), affording tert-butyl ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-6,7-dihydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(ethyl)carbamate as a white solid (5.08 g, 76%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.12 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 4.25 (t, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.16 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 4.10-4.04 (m, 2H), 3.91-3.85 (m, 3H), 3.65-3.62 (m, 1H), 1.55 (s, 9H), 1.26 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H), 0.89 (s, 9H), 0.08 (s, 6H).

20

25

[00117] To a solution of the above material (1.15 g, 2.5 mmol), tetrabutyl ammonium iodide (0.092 g, 0.25 mmol) in DMF (25 mL) at 0°C was added NaH (60%, 0.3g, 7.5 mmol) followed by *p*-methoxybenzyl chloride (1.02 mL, 7.5 mmol). The reaction mixture was then

30

stirred at room temperature for 6 h, diluted with Et₂O (50 mL) and quenched with water (5 mL). The ether layer was further washed with satd. NH₄Cl, brine, dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated. A mixture of two products, tert-butyl ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-7-((4-methoxybenzyl)oxy)-5-((4-methoxyphenoxy)methyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(ethyl)carbamate and tert-butyl ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-6,7-bis((4-methoxybenzyl)oxy)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(ethyl)carbamate was isolated (1.6 g, 66%) in a 1:2 ratio, respectively, as indicated by ¹H NMR.

[00118] To a solution of the above mixture (1.58 g, 2.26 mmol) in THF (15 mL) was added 1M TBAF solution (4.0 mL, 4 mmol) at 0°C and the mixture was then stirred at room temperature for 2 h. Diluted with EtOAc (50 mL), the organic layer was washed with satd. NH₄Cl, dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated. The crude residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:2), affording tert-butyl ethyl((3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(hydroxymethyl)-6,7-bis((4-methoxybenzyl)oxy)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)carbamate (0.75 g, 56%) as a gummy solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.30 (d, *J* = 8.6, 2H), 7.15 (d, *J* = 8.6, 2H), 6.88-6.80 (m, 4H), 6.01 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 4.64 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H), 4.59 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H), 4.48-4.45 (m, 1H), 4.37-4.34 (ddd, *J* = 6.8, 3.6, 1.28 Hz, 1H), 4.27 (d, *J* = 11.2, 1H), 4.24-4.23 (dd, *J* = 1.8, 1.76 Hz, 1H), 3.87-3.80 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.70-3.65 (m, 1H), 3.59-3.56 (dt, *J* = 9.0, 1.44 Hz, 1H), 3.55-3.49 (m, 1H), 3.41-3.37 (ddd, *J* = 8.5, 5.3, 2.8 Hz, 1H), 1.78 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 1.50 (s, 9H), 1.18 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H).

[00119] To a solution of triphenyl phosphine (0.179g, 0.68 mmol) in dry toluene (5 mL) was added iodine (0.145g, 0.57 mmol), pyridine (0.1 mL, 1.2 mmol) and a solution of the above material (0.210 g, 0.357 mmol) pre-dissolved in toluene (3 mL). The reaction mixture was stirred at 65°C for 3.5 h. Insoluble yellowish material was filtered off and filtrate diluted with EtOAc (50 mL) was washed with 1N HCl (20 mL), satd. NaHCO₃ (20 mL) and brine. EtOAc layer was separated, dried over Na₂SO₄ and concentrated to crude product which was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 3:7), affording tert-butyl ethyl((3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(iodomethyl)-6,7-bis((4-methoxybenzyl)oxy)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)carbamate as a white solid (0.23 g, 92.4%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.33 (d, *J* = 8.4, 2H), 7.18 (d, *J* = 8.4, 2H), 6.89-6.82 (m, 4H), 6.07 (d, *J* = 7 Hz, 1H), 4.67 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.61 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.54-4.51 (m, 1H), 4.36-4.31 (m, 2H), 4.19 (t, *J* = 2.64 Hz, 1H), 3.87 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.83 (d, *J* = 6.9

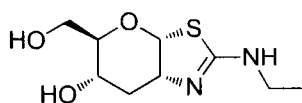
Hz, 1H), 3.77 (s, 6H), 3.50-3.48 (dd, $J = 6.8, 1.3$ Hz, 1H), 3.37-3.34 (m, 1H), 3.23-3.20 (m, 2H), 1.51 (s, 9H), 1.10 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H).

[00120] To a solution of the above material (0.120 g, 0.172 mmol) in ethanol (4 mL) and Et₃N (0.1 mL) was added Pd/C (10% Wt, 0.060 g). The mixture was hydrogenated at 50 psi and at room temperature for 24 h. Catalyst was removed by filtration and solvents were evaporated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluted with 3:7 EtOAc/hexanes to give *tert*-butyl ((3aR,5R,6R,7R,7aR)-6,7-bis((4-methoxybenzyl)oxy)-5-methyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(ethyl)carbamate (0.077 g, 78.4%) as a white solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.31 (d, $J = 6.8$, 2H), 7.17 (d, $J = 6.8$, 2H), 6.87-6.81 (m, 4H), 6.07 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.67 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 4.58 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 4.50 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 4.34 (m, 1H), 4.27 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 4.23-4.17 (m, 1H), 3.87-3.84 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.44-3.39 (m, 1H), 3.30-3.28 (m, 1H), 1.50 (s, 9H), 1.18 (d, $J = 4.9$ Hz, 3H), 1.10 (t, $J = 5.5$ Hz, 3H).

[00121] The above material (0.075 g, 0.131 mmol) was dissolved in 30% TFA/DCM solution (10 mL) and stirred at room temperature for 2.5 h. The reaction mixture was concentrated and co-evaporated with Et₂O (20 mL). To the residue was added 2M NH₃/MeOH solution (3 mL) and concentrated under reduced pressure. The product obtained was purified on silica gel by flash column chromatography eluted with 5% MeOH in DCM and 94:4:2 DCM-MeOH-NH₄OH (28% aqueous) to give (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(ethylamino)-5-methyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as a white solid (0.021 g, 68.7%). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 6.60 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H), 4.08 (t, $J = 7.04$ Hz, 1H), 3.77 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 3.75-3.72 (m, 1H), 3.44-3.38 (ddd, $J = 14.6, 7.28, 2.08$ Hz, 2H), 3.25-3.20 (dd, $J = 7.7, 1.12$ Hz, 1H), 1.33 (d, $J = 6.2$ Hz, 3H), 1.28 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 160.40, 90.08, 75.69, 75.66, 74.21, 66.27, 55.65, 18.91, 14.51; MS, $m/z = 233$ ($M + 1$).

Example 2

(3aR,5R,6S,7aR)-2-(ethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol



[00122] To a solution of *tert*-butyl ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6,7-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(ethyl)carbamate (1.64 g, 4.73 mmol),

DIPEA (1.34 g, 10.4 mmol) and DMAP (0.010 g, 0.082 mmol) in DCM (50 mL), at 0°C, was added BzCl (1.33 g, 9.50 mmol) slowly. After addition the mixture was stirred at room temperature overnight. Satd. aqueous NH₄Cl solution (50 mL) was added, and the organic layer was collected. The aqueous layer was further extracted with DCM (2 × 40 mL). The combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was separated on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:4 to 1:2), affording ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6-(benzoyloxy)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)(ethyl)amino)-7-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-5-yl)methyl benzoate as a white solid (0.67 g, 26%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (d, *J* = 8.1 Hz, 4H), 7.57-7.35 (m, 6H), 6.19 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 5.21 (dd, *J* = 2.8, 9.2 Hz, 1H), 4.56-4.51 (m, 2H), 4.47-4.42 (m, 2H), 4.14-4.10 (m, 1H), 3.99-3.92 (m, 2H), 1.55 (s, 9H), 1.19 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

[00123] A mixture of the above material (0.346 g, 0.623 mmol) and thio-CDI (90% tech, 0.20 g, 1.0 mmol) in anhydrous toluene (10 mL) was stirred at 95°C for 4 h. After cooling the solvent was removed under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 2:3), affording (3aR,5R,6S,7R,7aR)-7-((1H-Imidazole-1-carbonothioyl)oxy)-5-((benzoyloxy)methyl)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)(ethyl)amino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-yl benzoate as a yellow solid (0.343 g, 83%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.76 (s, 1H), 8.08-7.94 (m, 4H), 7.70 (s, 1H), 7.57-7.37 (m, 6H), 7.18 (s, 1H), 6.36 (dd, *J* = 1.9, 3.7 Hz, 1H), 6.17 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 5.54 (td, *J* = 1.2, 9.2 Hz, 1H), 4.70-4.67 (m, 1H), 4.60 (dd, *J* = 3.2, 12.1 Hz, 1H), 4.42 (dd, *J* = 5.1, 12.2 Hz, 1H), 4.11-4.08 (m, 1H), 4.05-3.97 (m, 2H), 1.56 (s, 9H), 1.22 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

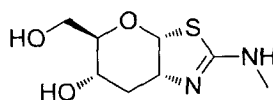
[00124] A mixture of the above material (0.343 g, 0.515 mmol), Bu₃SnH (0.291 g, 1.00 mmol) and ABCN (8.0 mg, 0.033 mmol) in anhydrous toluene (10 mL) was stirred at 90°C for 3 h. After cooling the solvent was removed under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:4), affording ((3aR,5R,6S,7aR)-6-(benzoyloxy)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)(ethyl)amino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-5-yl)methyl benzoate as a white solid (0.141 g, 51%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.03-7.94 (m, 4H), 7.57-7.52 (m, 2H), 7.44-7.35 (m, 4H), 6.07 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 5.44-5.40 (m, 1H), 4.52-4.41 (m, 3H), 4.06-3.96 (m, 3H), 2.70-2.64 (m, 1H), 2.47-2.40 (m, 1H), 1.56 (s, 9H), 1.18 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).

[00125] A mixture of the above material (0.140 g, 0.260 mmol) and K₂CO₃ (0.030 g, 0.22 mmol) in anhydrous MeOH (6 mL) was stirred at room temperature for 3 h. The solvent was removed under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc), affording a white solid. The solid was dissolved in MeOH (3 mL), into which HCl (g) was bubbled for 30 sec. The solution was then stirred at room temperature for 3 h. The solvent was removed, and the residue was neutralized with 1.0 M NH₃ in MeOH and subsequently purified on silica gel by flash column chromatography (1.0 M NH₃ in MeOH/DCM, 1:8), affording (3aR,5R,6S,7aR)-2-(ethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol as an off-white solid (0.044 g, 73%). ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 6.20 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 4.28-4.25 (m, 1H), 3.75 (dd, *J* = 2.6, 14.4 Hz, 1H), 3.73-3.69 (m, 1H), 3.61 (dd, *J* = 6.4, 14.4 Hz, 1H), 3.54-3.51 (m, 1H), 3.30-3.22 (m, 2H), 2.16-2.11 (m, 1H), 2.06-2.00 (m, 1H), 1.18 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ 163.24, 91.35, 77.13, 69.15, 65.79, 63.36, 39.60, 34.75, 14.87; MS, *m/z* = 233 (*M* + 1).

15

Example 3

(3aR,5R,6S,7aR)-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol



[00126] To a suspension of (3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol (1.50 g, 6.40 mmol) and NaHCO₃ (1.01 g, 12.0 mmol) in THF/water (40 mL, 1:3) was added benzyl chloroformate (1.70 g, 10.0 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 4 days. The organic solvent was removed under reduced pressure to result in a precipitate. The precipitated solid was collected by filtration, washed with Et₂O and dried under vacuum, affording benzyl ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6,7-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a white solid (1.72 g, 73%). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7.44-7.32 (m, 5H), 6.13 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 5.27-5.20 (m, 2H), 4.14 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 4.02 (t, *J* = 4.9 Hz, 1H), 3.74 (dd, *J* = 2.4, 12.0 Hz, 1H), 3.63 (dd, *J* = 6.1, 12.0 Hz, 1H), 3.53 (dd, *J* = 4.5, 9.2 Hz, 1H), 3.47-3.43 (m, 1H), 3.39 (s, 3H).

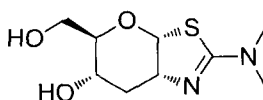
[00127] A mixture of the above material (1.50 g, 4.08 mmol), benzaldehyde dimethyl acetal (3 mL) and *p*-toluenesulfonic acid monohydrate (0.058 g, 0.30 mmol) in DMF (10 mL) was

- stirred at 50°C under a slight vacuum overnight. After cooling the solution was neutralized with solid NaHCO₃, and then concentrated under reduced pressure. The residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/DCM/hexanes, 2:4:1), affording benzyl ((3aR,4aR,8aS,9R,9aR)-9-hydroxy-7-phenyl-3a,4a,5,8a,9,9a-hexahydro-
- 5 [1,3]dioxino[4',5':5,6]pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a white solid (0.91 g, 53%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.49-7.47 (m, 2H), 7.40-7.35 (m, 8H), 6.28 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.78 (s, 1H), 5.29-5.21 (m, 2H), 4.34 (dd, *J* = 5.1, 10.4 Hz, 1H), 4.15-4.06 (m, 2H), 3.89-3.84 (m, 1H), 3.76 (t, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.58 (t, *J* = 9.4, 1H), 3.38 (s, 3H), 2.62 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H).
- 10 [00128] A mixture of the above material (0.700 g, 1.54 mmol) and thio-CDI (90% tech, 0.80 g, 4.04 mmol) in anhydrous DMF (20 mL) was stirred at 90°C overnight. After cooling the solvent was removed under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/DCM, 2:1), affording O-((3aR,4aR,8aS,9R,9aR)-2-(((benzyloxy)carbonyl)(methyl)amino)-7-phenyl-3a,4a,5,8a,9,9a-hexahydro-
- 15 [1,3]dioxino[4',5':5,6]pyrano[3,2-d]thiazol-9-yl) 1H-imidazole-1-carbothioate as a yellow solid (0.71 g, 81%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.36 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.42-7.37 (m, 7H), 7.35-7.32 (m, 3H), 7.03 (s, 1H), 6.28 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.20 (dd, *J* = 7.1, 8.6 Hz, 1H), 5.56 (s, 1H), 5.26 (s, 2H), 4.43 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 4.39 (dd, *J* = 5.1, 10.4 Hz, 1H), 4.19-4.13 (m, 1H), 3.93 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H), 3.79 (t, *J* = 10.4 Hz, 1H), 3.32 (s, 3H).
- 20 [00129] A mixture of the above material (0.560 g, 1.00 mmol), Bu₃SnH (0.87 g, 3.0 mmol) and ABCN (24 mg, 0.10 mmol) in anhydrous THF (20 mL) was stirred at reflux for 3 h. After cooling the solvent was removed under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes/DCM, 1:3:1), affording benzyl methyl((3aR,4aR,8aS,9aR)-7-phenyl-3a,4a,5,8a,9,9a-hexahydro-
- 25 [1,3]dioxino[4',5':5,6]pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)carbamate as a white solid (0.32 g, 73%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.49-7.47 (m, 2H), 7.39-7.33 (m, 8H), 6.21 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 5.56 (s, 1H), 5.29-5.20 (m, 2H), 4.52-4.25 (m, 2H), 4.08-4.02 (m, 1H), 3.72 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H), 3.61-3.54 (m, 1H), 3.33 (s, 3H), 2.41-2.35 (m, 1H), 1.76-1.68 (m, 1H).
- [00130] To a solution of the above material (0.20 g, 0.45 mmol) in anhydrous DCM (10
- 30 mL), cooled at -78°C under N₂, was added boron trichloride in DCM (1.0 M, 2.0 mL, 2.0 mmol). The mixture was stirred for 3 h while the reaction temperature was gradually brought to ~ 0°C. The mixture was then cooled at -78°C again, and MeOH (5 mL) was added carefully. After stirred at room temperature for 30 min the mixture was concentrated under

reduced pressure. The residue was neutralized with 1.0 M NH_3 in MeOH, and subsequently purified on silica gel by flash column chromatography (1.0 M NH_3 in MeOH:DCM, 1:7), affording (3aR,5R,6S,7aR)-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol as an off-white solid (0.070 g, 72%). ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.20 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 4.27-4.23 (m, 1H), 3.74 (dd, $J = 2.5, 12.0$ Hz, 1H), 3.71-3.67 (m, 1H), 3.63 (dd, $J = 6.2, 12.0$ Hz, 1H), 3.54-3.49 (m, 1H), 2.83 (s, 3H), 2.16-2.10 (m, 1H), 2.04-1.97 (m, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 163.99, 91.81, 77.11, 69.31, 65.82, 63.32, 34.93, 30.49; MS, $m/z = 219$ ($M + 1$).

Example 4

10 (3aR,5R,6S,7aR)-5-(hydroxymethyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol



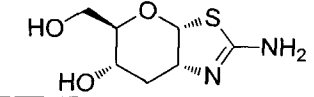
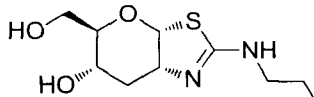
[00131] A suspension of (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol (0.800 g, 3.23 mmol) and anhydrous ZnCl₂ (1.00 g, 7.35 mmol) in benzaldehyde (5 mL) was stirred at room temperature overnight. DCM (50 mL) and satd. aqueous NaHCO₃ (50 mL) was added, and mixture was stirred for 20 min. The solid was filtered off, and the organic layer was collected from the filtrate. The aqueous layer was extracted with DCM (2 × 50 mL), and the combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (1.0 M NH_3 in MeOH/DCM, 3:100), affording (3aR,4aR,8aS,9R,9aR)-2-(dimethylamino)-7-phenyl-3a,4a,5,8a,9,9a-hexahydro-[1,3]dioxino[4',5':5,6]pyrano[3,2-d]thiazol-9-ol as a pale yellow solid (0.76 g, 70%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.51-7.48 (m, 2H), 7.40-7.34 (m, 3H), 6.39 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.58 (s, 1H), 4.31 (dd, $J = 5.1, 10.4$ Hz, 1H), 4.10-4.03 (m, 2H), 3.86 (dd, $J = 8.2, 9.5$ Hz, 1H), 3.76 (t, $J = 10.4$ Hz, 1H), 3.59 (t, $J = 9.5$ Hz, 1H), 3.00 (s, 6H).

[00132] A mixture of the above material (0.67 g, 2.0 mmol) and thio-CDI (90% tech, 1.6 g, 8.0 mmol) in anhydrous DMF (20 mL) was stirred at 95°C overnight. After cooling the solvent was removed under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (MeOH/DCM, 1:100 to 5:100), affording a mixture containing O-((3aR,4aR,8aS,9R,9aR)-2-(dimethylamino)-7-phenyl-3a,4a,5,8a,9,9a-hexahydro-[1,3]dioxino[4',5':5,6]pyrano[3,2-d]thiazol-9-yl) 1H-imidazole-1-carbothioate. This mixture

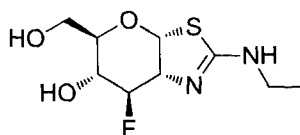
was dissolved in anhydrous THF (30 mL), and Bu₃SnH (1.0 g, 3.4 mmol) and ABCN (0.060 mg, 0.24 mmol) was added, and the mixture was stirred at reflux overnight. The solvent was then removed under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (1.0 M NH₃ in MeOH:DCM, 3:100), affording an pale yellow solid containing (3aR,4aR,8aS,9aR)-N,N-dimethyl-7-phenyl-3a,4a,5,8a,9,9a-hexahydro-[1,3]dioxino[4',5':5,6]pyrano[3,2-d]thiazol-2-amine (0.17 g, impure). The solid was treated with 2% HCl in MeOH (10 mL) at room temperature for 2 h, and then the solvent was removed under reduced pressure. The residue was neutralized with 1.0 M NH₃ in MeOH, and subsequently purified on silica gel by flash column chromatography (1.0 M NH₃ in MeOH:DCM, 1:10), affording pure (3aR,5R,6S,7aR)-5-(hydroxymethyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol as an off-white solid (0.050 g, 11% overall yield). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 6.23 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 4.28-4.24 (m, 1H), 3.74 (dd, *J* = 2.5, 12.0 Hz, 1H), 3.70-3.65 (m, 1H), 3.59 (dd, *J* = 6.2, 12.0 Hz, 1H), 3.53-3.48 (m, 1H), 2.99 (s, 6H), 2.14-2.08 (m, 1H), 2.02-1.95 (m, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 165.60, 92.43, 77.19, 69.67, 65.79, 63.27, 40.15, 34.93; MS, *m/z* = 255 (*M* + 23).

[00133] The following examples were synthesized according to procedures analogous to the schemes and examples outlined above.

Table 2

Example	Structure	Name
5		(3aR,5R,6S,7aR)-2-amino-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol
¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) δ 6.44 (d, <i>J</i> = 6.9 Hz, 1H), 4.56-4.52 (m, 1H), 3.90-3.85 (m, 1H), 3.77 (dd, <i>J</i> = 2.5, 12.1 Hz, 1H), 3.63 (dd, <i>J</i> = 6.4, 12.1 Hz, 1H), 3.54-3.50 (m, 1H), 2.18-2.10 (m, 2H); ¹³ C NMR (100 MHz, CD ₃ OD) δ 172.80, 87.98, 77.53, 63.91, 63.25, 59.96, 32.33; MS, <i>m/z</i> = 205 (<i>M</i> + 1).		
Example	Structure	Name
6		(3aR,5R,6S,7aR)-5-(hydroxymethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol
¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) δ 6.18 (d, <i>J</i> = 6.3 Hz, 1H), 4.26-4.22 (m, 1H), 3.74 (dd, <i>J</i> = 2.1, 11.8 Hz, 1H), 3.71-3.66 (m, 1H), 3.59 (dd, <i>J</i> = 6.3, 11.8 Hz, 1H), 3.54-3.49 (m, 1H), 3.21-3.12 (m, 2H), 2.14-2.08 (m, 1H), 2.04-1.99 (m, 1H), 1.59-1.53 (m, 2H), 0.93 (t, <i>J</i> = 7.3 Hz, 3H); ¹³ C NMR (100 MHz, CD ₃ OD) δ 163.32, 91.40, 77.17, 69.28, 65.94, 63.36, 46.81, 34.81, 23.67, 11.72; MS, <i>m/z</i> = 269 (<i>M</i> + 23).		

Example 7

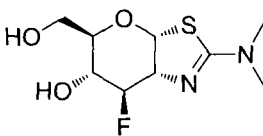
(3aR,5R,6R,7R,7aR)-2-(ethylamino)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol

- 5 [00134] To a solution of ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6-(benzyloxy)-2-((*tert*-butoxycarbonyl)(ethyl)amino)-7-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-5-yl)methyl benzoate (0.49 g, 0.88 mmol) in anhydrous DCM (3 mL), at -40°C under N₂, was added DAST (1.0 g, 6.2 mmol). After addition the mixture was stirred at room temperature overnight. After the reaction mixture was again cooled at -40°C, it was diluted with DCM
- 10 (20 mL), and then quenched by adding satd. aqueous NaHCO₃ dropwise. The organic layer was collected, and the aqueous was extracted with DCM (2 × 15 mL). The combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:5 to 2:7), affording ((3aR,5R,6R,7R,7aR)-6-(benzyloxy)-2-((*tert*-
- 15 butoxycarbonyl)(ethyl)amino)-7-fluoro-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-5-yl)methyl benzoate as a white solid (0.14 g, impure, ~28%).

- [00135] Conversion of the above material to the title compound was accomplished by removal of benzoate and Boc protection groups using K₂CO₃ in MeOH and satd. HCl in MeOH respectively, via procedures as described for Example 2. After purification on silica
- 20 gel by flash column chromatography (1.0 M NH₃ in MeOH/DCM, 1:7), (3aR,5R,6R,7R,7aR)-2-(ethylamino)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol was obtained as an off-white solid (0.051 g, 23% overall). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 6.33 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 4.77 (td, *J* = 5.0, 48.2 Hz, 1H), 4.34-4.27 (m, 1H), 3.81 (dd, *J* = 2.0, 12.0 Hz, 1H), 3.77-3.72 (m, 1H), 3.68 (dd, *J* = 5.7, 12.0 Hz, 1H), 3.63-3.59 (m, 1H), 3.31-3.23 (m, 2H), 1.18 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 163.40, 96.25 (d, *J* = 177.7 Hz), 90.55 (d, *J* = 3.9 Hz), 75.26 (d, *J* = 4.6 Hz), 73.58 (d, *J* = 24.5 Hz), 68.91 (d, *J* = 22.8 Hz), 62.85, 39.54, 14.82; MS, *m/z* = 251 (*M* + 1).
- 25

Example 8

(3aR,5R,6R,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol



5 [00136] To a solution of (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol (5.20 g, 21.0 mmol) and imidazole (12.0 g, 176 mmol) in DMF (60 mL) was added TBDMSCl (15.0 g, 99.5 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 24 h, and then diluted with brine (200 mL). The mixture was extracted with Et₂O ((3 × 100 mL). The combined extract was washed with

10 brine (100 mL) and water (100 mL), and then dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:4 to 1:1), affording (3aR,5R,6R,7R,7aR)-7-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol as a white solid (5.95 g, 60%). ¹H NMR

15 (500 MHz, CDCl₃) δ 6.15 (d, *J* = 5.8 Hz, 1H), 4.34-4.33 (m, 1H), 4.20 (t, *J* = 5.0 Hz, 1H), 3.80-3.72 (m, 2H), 3.48 (s, br., 2H), 3.01 (s, 6H), 0.90 (s, 9H), 0.89 (s, 9H), 0.13 (s, 3H), 0.12 (s, 3H), 0.07 (s, 6H).

[00137] To a solution of the above material (5.95 g, 12.5 mmol) and DMAP (0.12 g, 0.98 mmol) in pyridine (50 mL), at 0°C, was added BzCl (3.00 g, 21.3 mmol) slowly. After

20 addition the mixture was stirred at room temperature for 24 h. Satd. aqueous NaHCO₃ solution (100 mL) was added, and the mixture extracted with EtOAc (3 × 100 mL). The combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:9 to 1:3), affording (3aR,5R,6R,7R,7aR)-7-(((tert-

25 butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-yl benzoate as a clear oil (6.85 g, 94%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.05-8.02 (m, 2H), 7.56-7.52 (m, 1H), 7.43-7.39 (m, 2H), 6.26 (d, *J* = 6.4 Hz, 1H), 5.06-5.03 (m, 1H), 4.40 (dd, *J* = 2.2, 3.8 Hz, 1H), 3.81-3.78 (m, 1H), 3.71-3.70 (m, 2H), 3.03 (s, 6H), 0.88 (s, 9H), 0.85 (s, 9H), 0.17 (s, 3H), 0.13 (s, 3H), 0.02 (s, 3H),

30 0.00 (3H).

[00138] To a solution of the above material (9.30 g, 16.8 mmol) in dry MeOH (100 mL), was bubbled HCl for 2 min, and the mixture was then stirred at room temperature for 2 h. After concentrated under reduced pressure the mixture was treated with satd. aqueous NaHCO₃ solution (150 mL), and then extracted with EtOAc (6 × 80 mL). The combined extract was
5 dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, affording (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-7-hydroxy-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-yl benzoate as a white crystalline solid (5.40 g, 96%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.03-8.01 (m, 2H), 7.58-7.53 (m, 1H), 7.44-7.39 (m, 2H), 6.37 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H), 5.12-5.09 (m, 1H), 4.41-4.37 (m, 2H), 3.94-3.85 (m, 1H), 3.78-
10 3.74 (m, 1H), 3.67 (dd, *J* = 4.9, 12.5 Hz, 1H), 3.00 (s, 6H).

[00139] To a solution of the above material (5.35 g, 15.2 mmol) and DMAP (0.050 g, 0.41 mmol) in pyridine (50 mL), at 0°C, was added BzCl (2.22 g, 15.8 mmol) slowly. After addition the mixture was stirred at room temperature for 4 h. Satd. aqueous NaHCO₃ solution (100 mL) was added, and the mixture was extracted with EtOAc (2 × 50 mL). The
15 combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:1 to 10:1), affording ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6-(benzoyloxy)-2-(dimethylamino)-7-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-5-yl)methyl benzoate as a white solid (4.45 g, 64%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.04-8.00
20 (m, 4H), 7.58-7.51 (m, 2H), 7.44-7.37 (m, 4H), 6.38 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 5.23-5.20 (m, 1H), 4.55 (dd, *J* = 3.2, 12.0 Hz, 1H) 4.48-4.40 (m, 3H), 4.27-4.22 (m, 1H), 3.00 (s, 6H).

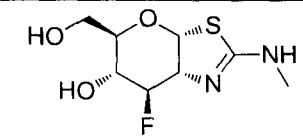
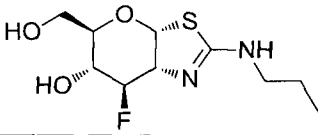
[00140] To a solution of the above material (0.410 g, 0.898 mmol) in anhydrous DCM (6 mL), at -78°C under N₂, was added DAST (0.87 g, 5.4 mmol). After addition the mixture was stirred at room temperature for 16 h. The reaction mixture was then cooled at -78°C,
25 diluted with DCM (20 mL), and quenched by adding satd. aqueous NaHCO₃ (20 mL). The organic layer was collected, and the aqueous was extracted with DCM (2 × 30 mL). The combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:3 to 1:2), affording ((3aR,5R,6R,7R,7aR)-6-(benzoyloxy)-2-(dimethylamino)-7-fluoro-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-5-yl)methyl benzoate as a white solid (0.380 g, 92%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.03-
30 8.00 (m, 4H), 7.58-7.55 (m, 1H), 7.54-7.51 (m, 1H), 7.44-7.41 (m, 2H), 7.39-7.36 (m, 2H), 6.35 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 5.47 (dd, *J* = 7.3, 16.3 Hz, 1H), 5.23 (ddd, *J* = 1.1, 2.8, 35.2 Hz,

1H), 4.70-4.66 (m, 1H), 4.52 (dd, $J = 2.8, 9.6$ Hz), 4.40 (dd, $J = 4.7, 9.6$ Hz, 1H), 4.14-4.10 (m, 1H), 3.05 (s, 6H).

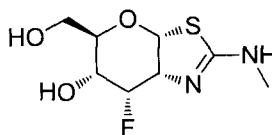
[00141] A mixture of the above material (0.375 g, 0.818 mmol) and K_2CO_3 (0.113 g, 0.818 mmol) in anhydrous MeOH (8 mL) was stirred at room temperature for 2 h. The reaction mixture was neutralized with dry ice, and the solvent was then removed under reduced pressure. The residue was purified on silica gel by flash column chromatography (1.0 M NH_3 in MeOH/DCM, 1:12), affording (3aR,5R,6R,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol as a white solid (0.190 g, 93%). 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.35 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 4.74 (dt, $J = 48.1, 5.0$ Hz, 1H), 4.31 (dt, $J = 13.8, 6.0$ Hz, 1H), 3.79 (dd, $J = 2.0, 12.0$ Hz, 1H), 3.76-3.69 (m, 1H), 3.66 (dd, $J = 5.8, 12.0$ Hz), 3.61-3.57 (m, 1H), 3.01 (s, 6H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 166.25, 96.36 (d, $J = 176.8$ Hz), 91.60 (d, $J = 3.9$ Hz), 75.45 (d, $J = 4.6$ Hz), 73.99 (d, $J = 24.7$ Hz), 68.98 (d, $J = 22.9$ Hz), 62.91, 40.33; MS, (ES, m/z) $[M+H]^+$ 251.1.

[00142] The following examples were synthesized according to procedures analogous to the schemes and examples outlined above.

Table 3

Example	Structure	Name
9		(3aR,5R,6R,7R,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol
1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.33 (d, $J = 6.5$ Hz, 1H), 4.75 (dt, $J = 48.2, 5.1$ Hz, 1H), 4.29 (dt, $J = 13.9, 5.9$ Hz, 1H), 3.81-3.64 (m, 3H), 3.62-3.57 (m, 1H), 2.84 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 164.66, 96.42 (d, $J = 177.8$ Hz), 91.17 (d, $J = 4.0$ Hz), 75.37 (d, $J = 4.6$ Hz), 73.68 (d, $J = 24.5$ Hz), 69.02 (d, $J = 22.8$ Hz), 62.92, 30.53. (ES, m/z) $[M+H]^+$: 237.1.		
10		(3aR,5R,6R,7R,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol
1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.31 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 4.74 (dt, $J = 48.2, 4.9$ Hz, 1H), 4.31-4.24 (m, 1H), 3.81-3.58 (m, 4H), 3.24-3.15 (m, 2H), 1.60-1.53 (m, 2H), 0.94 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 163.93, 96.41 (d, $J = 177.7$ Hz), 90.64 (d, $J = 4.0$ Hz), 75.38 (d, $J = 4.5$ Hz), 73.63 (d, $J = 24.4$ Hz), 69.03 (d, $J = 22.8$ Hz), 62.96, 46.72, 23.66, 11.53. (ES, m/z) $[M+H]^+$: 265.2.		

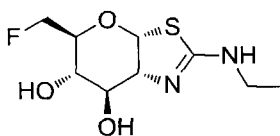
Example 11

(3aR,5R,6R,7S,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol

- 5 [00143] To a solution of tert-butyl ((3aR,5R,6R,7S,7aR)-5-(((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)methyl)-7-fluoro-6-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate (0.200 g, 0.444 mmol) in dry MeOH (6 mL) was bubbled HCl gas for 30 sec. The mixture was stirred at room temperature for 5 h. After the solvent was evaporated under reduced pressure, the residue was neutralized with 1.0 M NH₃ in
- 10 MeOH and purified on silica gel by flash column chromatography (1.0 M NH₃ in MeOH/DCM, 1:8) followed by recrystallization from MeOH/Et₂O, affording (3aR,5R,6R,7S,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol as a white solid (0.093 g, 89%). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 6.62 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 4.89 (td, *J* = 3.5 Hz, 51.0 Hz, 1H), 4.54 (ddd, *J* = 3.5, 6.5, 20.6, 1H),
- 15 3.98-3.94 (m, 1H), 3.90-3.84 (m, 1H), 3.83-3.81 (m, 1H), 3.75 (dd, *J* = 5.4, 12.2 Hz, 1H), 2.99 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 90.63 (d, *J* = 181.3 Hz), 88.53 (d, *J* = 2.3 Hz), 73.60 (d, *J* = 4.3 Hz), 66.02 (d, *J* = 17.3 Hz), 64.80-64.50 (m), 62.44, 31.38; MS, (ES, *m/z*) [M+H]⁺ 237.1.

Example 12

- 20 **(3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(ethylamino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol**



- [00144] Methanesulfonyl chloride (0.038 mL, 0.495 mmol) was added in portions to a stirred solution of tert-butyl ethyl((3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(hydroxymethyl)-6,7-bis((4-methoxybenzyl)oxy)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)carbamate (0.190g, 0.323 mmol) in dry pyridine (5 mL) at -20°C. After 3 h, the reaction mixture was diluted with DCM (20 mL) and the DCM extract was washed with satd. NaHCO₃, brine, dried over
- 25

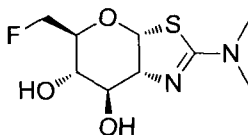
Na₂SO₄ and concentrated. Residual pyridine was removed by co-evaporation with hexanes.

The crude product was purified by silica gel column chromatography (3:7 EtOAc/hexanes) to give ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-((tert-butoxycarbonyl)(ethyl)amino)-6,7-bis((4-methoxybenzyl)oxy)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-5-yl)methyl methanesulfonate (0.215g, 99.6%) as a white solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.32 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.17 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.91-6.83 (m, 4H), 6.01 (d, *J* = 6.88 Hz, 1H), 4.66 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.60 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.52 (d, *J* = 11.1 Hz, 1H), 4.42-4.36 (m, 2H), 4.27-4.23 (m, 3H), 3.96-3.84 (m, 2H), 3.8 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.55 (m, 2H), 2.98 (s, 3H), 1.52 (s, 9H), 1.20 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H).

- [00145] To a solution of the above material (0.520 g, 0.78 mmol) in CH₃CN (6 mL) was added a solution of tetraethylammonium fluoride (0.640 g, 4.28 mmol) in CH₃CN (4 mL) and the mixture was heated to reflux for 2.5 h. After evaporation of the solvent, the residue was purified by silica gel column chromatography (1:1 EtOAc/hexanes) to provide tert-butyl ethyl((3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(fluoromethyl)-6,7-bis((4-methoxybenzyl)oxy)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)carbamate (0.335 g, 72.7%) as a foamy solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.35 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.20 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 6.93-6.86 (m, 4H), 6.08 (d, *J* = 6.88 Hz, 1H), 4.72 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 4.65 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 4.56 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.52-4.51 (m, 1H), 4.41-4.38 (m, 2H), 4.33 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.26 (t, *J* = 2.88 Hz, 1H), 3.93-3.87 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.69-3.66 (m, 1H), 3.61-3.50 (m, 1H), 1.55 (s, 9H), 1.15 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H).

- [00146] The above material (0.115g, 0.195 mmol) dissolved in 30% TFA/DCM at 0° C was stirred for 3h at room temperature. TFA/DCM was then evaporated completely and the resulting residue suspended in 2M NH₃/MeOH (3 mL). Methanolic ammonia solution was again concentrated and crude residue was purified by silica gel column chromatography using 10% MeOH in DCM to give (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(ethylamino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as a light yellowish solid (0.035g, 72.8%). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 6.49 (d, *J* = 6.48 Hz, 1H), 4.66-4.52 (dt, *J* = 47.6, 10.5, 4.3 Hz, 2H), 4.12 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H), 3.90 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.80-3.73 (m, 2H), 3.55 (dd, *J* = 6.3, 3.2 Hz, 1H), 3.4-3.3 (m, 2H), 1.23 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H). ¹³C NMR (100 MHz, MeOD) δ 163.78, 89.63, 83.90 (d, *J*_{C6,F} 171.7Hz, C-6), 76.83 (d, *J*_{C5,F} 17.8Hz, C-5), 75.43, 69.51 (d, *J*_{C4,F} 7.0Hz, C-4), 67.71, 42.13, 14.74. ES/MS: 251.0 [M + 1].

Example 13

(3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol

5 [00147] To a stirred solution of (3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)methyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol (1.19 g, 3.3 mmol) in DMF (18 mL) at 0°C was added NaH (60%, 0.5 g, 13 mmol) in small portions. After 20 min, BnBr (1.17 mL, 9.9 mmol) was added and the reaction mixture was then stirred at room temperature overnight. Reaction was diluted with

10 DCM (100 mL) and DCM extract was washed with satd. NaHCO₃, brine, dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated. The crude product was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:1), affording (3aR,5R,6S,7R,7aR)-6,7-bis(benzyloxy)-5-(((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)methyl)-N,N-dimethyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-amine methanol as a gummy solid (0.805 g, 45%). ¹H NMR

15 (400 MHz, CDCl₃) δ 7.31-7.16 (m, 10H), 6.19 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 4.72 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 4.60 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 4.57 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 4.37-4.32 (m, 2H), 4.06-4.00 (m, 1H), 3.69-3.62 (m, 2H), 3.60-3.52 (m, 2H), 2.89 (s, 6H), 0.80 (s, 9H), 0.04 (s, 6H).

[00148] To a solution of the above material (0.80 g, 1.48 mmol) in THF (6 mL) was added 1M TBAF solution (2.25 mL, 2.25 mmol) at 0°C and the mixture was then stirred at room

20 temperature overnight. Diluted with EtOAc (50 mL), the organic layer was washed with satd. NH₄Cl, dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated. The crude residue was purified on silica gel by flash column chromatography (100% EtOAc), affording ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6,7-bis(benzyloxy)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-5-yl)methanol (0.57g, 90%) as a white solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃), δ 7.38-7.28 (m,

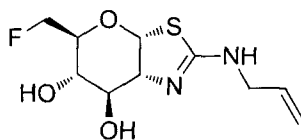
25 10H), 6.29 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 4.79 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H), 4.69 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 4.65 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 4.55-4.53 (m, 1H), 4.43 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 4.24 (m, 1H), 3.77 (d, *J* = 12.1 Hz, 1H), 3.69-3.59 (m, 3H), 3.00 (s, 6H).

[00149] Methanesulfonyl chloride (0.180 mL, 2.32 mmol) was added in portions to a stirred solution of the above material (0.673 g, 1.57 mmol) in dry pyridine (8 mL) at -20°C. After 3h,

30 reaction mixture was diluted with DCM (20 mL) and DCM extract was washed with satd.

- NaHCO₃ (30 mL), brine, dried over Na₂SO₄ and concentrated. Residual pyridine was removed by co-evaporation with hexanes. The crude product was purified by silica gel column chromatography, eluted with 100% EtOAc to give ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6,7-bis(benzyloxy)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-5-yl)methyl
- 5 methanesulfonate (0.610 g, 76.4%) as a white solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 7.32-7.18 (m, 10H), 6.15 (d, *J* = 6.48 Hz, 1H), 4.68 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 4.57 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 4.53 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 4.48-4.45 (dd, *J* = 3.8, 2.0 Hz, 1H), 4.29 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 4.24-4.16 (m, 3H), 3.73-3.69 (m, 1H), 3.53-3.50 (dt, *J* = 8.9, 1.7 Hz, 1H), 2.91 (s, 6H), 2.90 (s, 3H).
- [00150] To a solution of the above material (0.7 g, 1.38 mmol) in CH₃CN (15 mL) was
- 10 added a solution of TBAF (1.13 g, 7.59 mmol) in CH₃CN (5 mL) and the mixture was heated to reflux for 2.5 h. After evaporation of the solvent, the residue was purified by silica gel column chromatography (7:3 EtOAc/hexanes) to provide (3aR,5S,6S,7R,7aR)-6,7-bis(benzyloxy)-5-(fluoromethyl)-N,N-dimethyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-
- 15 d]thiazol-2-amine (0.567 g, 95%) as a foamy solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 7.33-7.18 (m, 10H), 6.20 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 4.72 (d, *J* = 12 Hz, 1H), 4.60 (d, *J* = 12.6 Hz, 1H), 4.57 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 4.46-4.41 (m, 2H), 4.34-4.30 (m, 2H), 4.14 (t, *J* = 3 Hz, 1H), 3.74-3.64 (m, 1H), 3.59-3.55 (m, 1H), 2.91 (s, 6H).
- [00151] To a solution of the above material (0.56 g, 1.3 mmol) in dry DCM (8 mL) at -78 °C was added a solution of BCl₃ (1.0 M in DCM, 6.5 mL, 6.5 mmol) dropwise. The mixture was
- 20 stirred at -78 °C to 0 °C for 3 h. The reaction was then quenched by adding a solution of 1:1 DCM-MeOH (5 mL) at -78 °C. The mixture was slowly warmed to room temperature. Solvents were evaporated under reduced pressure. 1.3M NH₃/MeOH solution (10 mL) was added to the residue and evaporated. This was repeated for one more time. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluted with 90:10 DCM-1.3M NH₃-MeOH
- 25 soln. to give (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as a white solid (0.25 g, 76.7%). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 6.31 (d, *J* = 6.44 Hz, 1H), 4.63-4.50 (dd, *J* = 44.4, 3.4 Hz, 2H), 4.09 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 3.92 (t, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.79- 3.69 (m, 1H), 3.55-3.51 (dd, *J* = 5.4, 4.04 Hz, 1H), 3.01 (s, 6H). ¹³C NMR (100 MHz, MeOD) δ 166.34, 92.58, 84.50 (d, *J*_{C6,F} 171.2 Hz, C-6), 77.09,
- 30 76.56, 76.55, 75.72 (d, *J*_{C5,F} 17.7 Hz, C-5), 70.73 (d, *J*_{C4,F} 7.12 Hz, C-4), 40.97. ES/MS: 251.6 [M + 1].

Example 14

(3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(allylamino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol

5 [00152] A solution of (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(allyl(tert-butoxycarbonyl)amino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate (1.7 g, 3.0 mmol) in DCM (40 mL) was treated with DAST (2.5 g, 15.4 mmol) for 30 min at -78°C. After stirred overnight at room temperature, the reaction was quenched with satd. aqueous NaHCO₃ (30 mL). The organic layer was separated and the aqueous layer was extracted with

10 DCM (3 x 20 mL). The combined organic layer was washed with brine (20 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under vacuum. The residue was purified by a silica gel column with 5%-10% EtOAc in petroleum ether to give (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(allyl(tert-butoxycarbonyl)amino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate as a white solid (580 mg, 32%). (ES, *m/z*): [M+H]⁺ 571.0; ¹H NMR (300

15 MHz, CDCl₃) δ 8.09 (d, *J* = 7.5 Hz, 4H), 7.60 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.45 (t, *J* = 7.8 Hz, 4H), 6.27 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 6.08 (s, 1H), 5.86-5.92 (m, 1H), 5.40 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 5.12 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 4.81-4.89 (dd, *J* = 10.0, 2.8 Hz, 1H), 4.63-4.69 (m, 2H), 4.50-4.54 (m, 2H), 3.82-3.98 (m, 1H), 1.63 (s, 9H).

[00153] A solution of the above material (540 mg, 0.94 mmol) in MeOH (10 mL) was

20 treated with K₂CO₃ (26 mg, 0.18 mmol) for 2 h at room temperature, then neutralized with AcOH. Volatiles were removed to give a residue, which was purified by a silica gel column, eluted with 5% MeOH in DCM to give tert-butyl allyl((3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(fluoromethyl)-6,7-dihydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)carbamate as a white solid (310 mg, 86%). (ES, *m/z*): [M+H]⁺ 363.0; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.10 (d, *J* = 6.9 Hz,

25 1H), 5.85-5.96 (m, 1H), 5.11-5.18 (m, 2H), 4.61 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 4.43-4.58 (m, 3H), 4.13-4.16 (m, 1H), 4.04-4.07 (m, 1H), 3.53-3.63 (m, 2H), 1.53 (s, 9H).

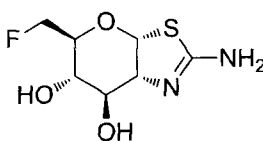
[00154] A solution of the above material (100 mg, 0.27 mmol) in MeOH (6 mL) was bubbled with dry HCl gas at room temperature until saturated. After additional 4 h, volatiles were removed to give a residue, which was re-dissolved into MeOH (5 mL) and neutralized

30 with conc. NH₄OH, concentrated and purified by a silica gel column, eluted with 5%-10%

MeOH in DCM to give (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(allylamino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as white solid (42.7 mg, 58%). (ES, m/z): [M+H]⁺ 263.0; ¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 6.29 (d, J = 6.3 Hz, 1H), 5.85-5.96 (m, 1H), 5.19-5.26 (m, 1H), 5.09-5.14 (m, 1H), 4.63 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 4.47 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 4.07-4.11 (m, 1H), 3.95-3.99 (m, 1H), 3.86-3.89 (m, 2H), 3.68-3.79 (m, 1H), 3.51-3.56 (m, 1H).

Example 15

(3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-amino-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol

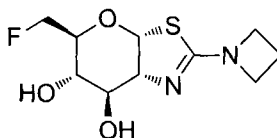


- [00155] To a solution of (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(allyl(tert-butoxycarbonyl)amino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate (500 mg, 0.88 mmol) in 1,4-dioxane (30 mL) was added Pd(PPh₃)₄ (200 mg, 0.17 mmol), HCO₂H (84 mg, 1.76 mmol) and Et₃N (177 mg, 1.76 mmol) at room temperature under N₂ atmosphere. After 20 min at 60°C, additional HCO₂H (404 mg, 8.8 mmol) was added into the reaction mixture. The reaction was stirred for additional 2 h at 60°C, and then quenched by H₂O (40 mL), neutralized by NaHCO₃, extracted with DCM (3 x 50 mL). The combined organic layer was concentrated and purified by a silica gel column, eluted with 10% EtOAc in petroleum ether to give (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate as white syrup (330 mg, 71%).
- (ES, m/z): [M+H]⁺ 531.0; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.30 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 8.06 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.46-7.66 (m, 5H), 6.46 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 5.85 (s, 1H), 5.53 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 4.71-4.79 (m, 2H), 4.62 (t, J = 2.1 Hz, 1H), 3.95-4.03 (m, 1H), 1.57 (s, 9H).
- [00156] A solution of the above material (330 mg, 0.62 mmol) in MeOH (10 mL) was treated with K₂CO₃ (24 mg, 0.17 mmol) for 2 h at room temperature, then neutralized by AcOH. Volatiles were removed to give a residue, which was purified by a silica gel column, eluted with 2%-5% MeOH in DCM to afford tert-butyl (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(fluoromethyl)-6,7-dihydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-ylcarbamate as white solid (170 mg, 85%). (ES, m/z): [M+H]⁺ 323.0; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.22 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 4.67-4.79 (m, 1H), 4.57-4.66 (m, 2H), 3.84-3.96 (m, 2H), 3.70 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 1.52 (s, 9H).

[00157] A solution of the above material (110 mg, 0.34 mmol) in MeOH (5 mL) was bubbled with dry HCl gas until saturated at room temperature. After additional 3 h, volatiles were removed to give a residue, which was neutralized with conc. NH₄OH and purified by a silica gel column, eluted with 10%-20% MeOH in DCM to give (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-amino-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as white solid (15 mg, 20%). (ES, *m/z*): [M+H]⁺ 222.9; ¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 6.31 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 4.63 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 4.47 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 4.07 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 3.93 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 3.66-3.80 (m, 2H), 3.51-3.58 (m, 1H).

Example 16

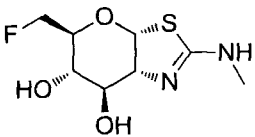
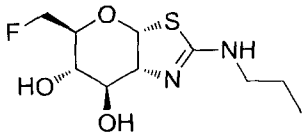
10 (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(azetidin-1-yl)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol



[00158] A solution of (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(azetidin-1-yl)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate (100 mg, 0.2 mmol) in DCM (10 mL) was treated with DAST (137 mg, 0.8 mmol) for 30 min at -78 °C. After stirring overnight at room temperature, the reaction was quenched with satd. aqueous NaHCO₃ (10 mL), extracted with DCM (3 x 10 mL), washed with brine (10 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under vacuum to give the crude product as a white syrup (80 mg), which was dissolved into MeOH (5 mL) and treated with K₂CO₃ (10 mg, 0.07 mmol) for 3 h at room temperature. The reaction mixture was neutralized by AcOH and concentrated. The residue was purified by a silica gel column, eluted with 5%-10% MeOH in DCM to give (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(azetidin-1-yl)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as white solid (10 mg, 17%, two steps). (ES, *m/z*): [M+H]⁺ 263.0; ¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 6.30 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 4.49-4.69 (dd, *J* = 5.7, 3.3 Hz, 1H), 4.11-4.15 (m, 1H), 3.93-4.01 (m, 5H), 3.70-3.82 (m, 1H), 3.59-3.69 (m, 1H), 2.24-2.34 (m, 2H).

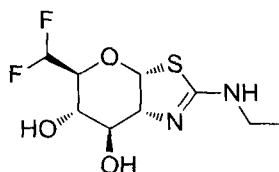
[00159] The following examples were synthesized according to procedures analogous to the schemes and examples outlined above.

Table 4

Example	Structure	Name
17		(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(fluoromethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol
¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) 6.52 (d, <i>J</i> = 6.48 Hz, 1H), 4.66-4.52 (dt, <i>J</i> = 47.6, 10.4, 4.2 Hz, 2H), 4.15 (t, <i>J</i> = 6.5 Hz, 1H), 3.93 (t, <i>J</i> = 6.9 Hz, 1H), 3.87- 3.76 (m, 1H), 3.59-3.55 (dd, <i>J</i> = 6.4, 3.12 Hz, 1H), 2.99 (s, 3H). ¹³ C NMR (100 MHz, MeOD) δ 169.32, 90.48, 84.10 (d, <i>J</i> _{C6,F} 171.5 Hz, C-6), 76.45 (d, <i>J</i> _{C5,F} 17.8 Hz, C-5), 69.86 (d, <i>J</i> _{C4,F} 6.6 Hz, C-4), 55.67, 46.07, 32.11. (ES, <i>m/z</i>): [M+H] ⁺ : 237.6.		
Example	Structure	Name
18		(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(fluoromethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol
¹ H NMR (400 MHz, CD ₃ OD) 6.44 (d, <i>J</i> = 6.44 Hz, 1H), 4.67-4.49 (dt, <i>J</i> = 47.5, 10.4, 4.2 Hz, 2H), 4.11 (t, <i>J</i> = 6.4 Hz, 1H), 3.91 (t, <i>J</i> = 6.1 Hz, 1H), 3.82- 3.72 (m, 1H), 3.52-3.55 (dd, <i>J</i> = 6.0, 3.4 Hz, 1H), 3.27-3.21 (m, 2H), 1.66-1.57 (m, 2H), 0.95 (t, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H). ¹³ C NMR (100 MHz, MeOD) δ 167.82, 90.26, 84.10 (d, <i>J</i> _{C6,F} 171.5 Hz, C-6), 76.34 (d, <i>J</i> _{C5,F} 17.7 Hz, C-5), 75.80, 75.79, 70.05 (d, <i>J</i> _{C4,F} 6.9 Hz, C-4), 55.67, 23.98, 12.38. (ES, <i>m/z</i>): [M+H] ⁺ : 265.4.		

Example 19

(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(ethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol



- [00160] To a solution of tert-butyl ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6,7-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(ethyl)carbamate (5.01g, 14.4 mmol) in DMF (25 mL) was added imidazole (1.57g, 23.1 mmol) and TBDMSCl (2.82g, 21.7 mmol).
- 10 The reaction mixture stirred at room temperature for 30h was diluted with EtOAc (100 mL). Organics were washed with satd. NH₄Cl, brine, dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated. The residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:1), affording tert-butyl ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)methyl)-6,7-dihydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-
- 15 2-yl)(ethyl)carbamate as a white solid (5.08 g, 76%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.12 (d,

$J = 6.7$ Hz, 1H), 4.25 (t, $J = 6.2$ Hz, 1H), 4.16 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H), 4.10-4.04 (m, 2H), 3.91-3.85 (m, 3H), 3.65-3.62 (m, 1H), 1.55 (s, 9H), 1.26 (t, $J = 7$ Hz, 3H), 0.89 (s, 9H), 0.08 (s, 6H).

[00161] To a solution of the above material (1.0 g, 2.2 mmol) in pyridine (20 mL), at 0°C was added DMAP (0.024 g, 0.20 mmol) followed by BzCl (2.0 mL, 17.6 mmol) slowly. The mixture was warmed to room temperature and stirred overnight. The reaction was diluted with EtOAc (50 mL), washed with satd. NaHCO₃ solution and brine. The organic extract was dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residual pyridine was co-evaporated with hexanes and the crude residue was separated on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:5) to give (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-((tert-butoxycarbonyl)(ethyl)amino)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate (1.05 g, 71.3%) as a white solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (m, 2H), 7.99 (m, 2H), 7.61-7.52 (m, 2H), 7.47-7.38 (m, 4H), 6.12 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 5.89 (dd, $J = 1.5, 1.4$ Hz, 1H), 5.39 (m, 1H), 4.46 (ddd, $J = 5.5, 2.9, 0.96$ Hz, 1H), 3.96 (m, 2H), 3.80 (m, 1H), 3.75-3.70 (m, 2H), 1.54 (s, 9H), 1.18 (t, $J = 5.5$ Hz, 3H), 0.83 (s, 9H), 0.01 (s, 3H), 0.03 (s, 3H).

[00162] To a solution of the above material (3.2 g, 4.8 mmol) in dry MeOH (30 mL) was added AcCl (0.07 mL, 1.0 mmol) at 0°C. The reaction mixture was stirred at this temperature for 30 min and then at room temperature overnight. The reaction mixture was diluted with DCM (30 mL) and neutralized with 10% aq. NaHCO₃ solution. DCM layer was further washed with brine, dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated. The crude residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/hexanes, 3:7) to provide (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-((tert-butoxycarbonyl)(ethyl)amino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate (2.4 g, 90%) as a foamy solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.06 (m, 2H), 8.01 (m, 2H), 7.58-7.53 (m, 2H), 7.47-7.39 (m, 4H), 6.14 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 5.93 (dd, $J = 1.9, 1.8$ Hz, 1H), 5.34 (m, 1H), 4.49 (ddd, $J = 6.8, 3.6, 0.96$ Hz, 1H), 4.03-3.92 (m, 2H), 3.80-3.65 (m, 3H), 1.53 (s, 9H), 1.19 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H).

[00163] To a solution of the above material (1.0 g, 1.8 mmol) in dry DCM (25 mL) at 0°C was added dry pyridine (0.30 mL, 3.7 mmol), followed by DMP (1.14 g, 2.69 mmol). The reaction was stirred at 0°C for 10 min and at room temperature for next 1.5 h. The reaction mixture was diluted with 1M Na₂S₂O₃ / satd. NaHCO₃ (30 mL, 1:1) and stirred for 10 min. DCM layer was separated, dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated to yield crude

foamy solid (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-((tert-butoxycarbonyl)(ethyl)amino)-5-formyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate (1.0 g crude). The product was carried forward for the next reaction without any further purification. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.71 (s, 1H), 8.04 (m, 4H), 7.58 (m, 2H), 7.47-7.39 (m, 4H), 6.14 (d, *J* = 6.24 Hz, 1H), 6.01 (dd, *J* = 1.8, 1.3 Hz, 1H), 5.53-5.51 (m, 1H), 4.38 (ddd, *J* = 6.2, 3.2, 1.2 Hz, 1H), 4.27 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 4.0-3.9 (m, 2H), 1.53 (s, 9H), 1.15 (t, *J* = 6.8 Hz, 3H).

[00164] The above material (1.0 g, crude) was taken in DCM (30 mL) and cooled to -78° C. DAST (1 mL, 7.7 mmol) was added dropwise while stirring at -78° C. After the addition, cooling bath was removed and reaction mixture stirred at room temperature overnight. The reaction was diluted with satd. NaHCO₃ solution (15 mL). DCM layer was separated, dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated. The crude residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:4) to provide (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-((tert-butoxycarbonyl)(ethyl)amino)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate (0.413 g, 40%) as a foamy solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (m, 2H), 8.0 (m, 2H), 7.60-7.53 (m, 2H), 7.46-7.39 (m, 4H), 6.13 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.94 (m, 1H), 5.93 (td, *J* = 54.08, 2.9 Hz, 1H), 5.59-5.56 (m, 1H), 4.55-4.52 (ddd, *J* = 7.0, 3.4, 1.3 Hz, 1H), 3.98-3.86 (m, 3H), 1.55 (s, 9H), 1.17 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H).

[00165] To a stirred solution of the above material (0.41 g, 0.71 mmol) in dry MeOH (20 mL) was added K₂CO₃ (0.050 g, 0.36 mmol) at 0° C. The reaction mixture was warmed to room temperature and stirred 1.5 h. AcOH (0.5 mL) was added to the reaction mixture and contents were concentrated. The crude residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:1) to provide tert-butyl ((3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-6,7-dihydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(ethyl)carbamate (0.24 g, 91.6%) as a foamy solid. ¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 6.03 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 5.93 (td, *J* = 54.5, 2.6 Hz, 1H), 4.19 (m, 1H), 4.11 (t, *J* = 4.3 Hz, 1H), 3.96-3.87 (m, 2H), 3.82 (dd, *J* = 4.7, 4.4 Hz, 1H), 3.56-3.47 (m, 1H), 1.53 (s, 9H), 1.16 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H).

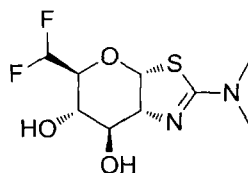
[00166] The above material (0.24 g, 0.65 mmol) was taken in 30% TFA/DCM (10 mL) at 0° C and stirred at this temperature for 1 h and slowly warming to room temperature for next 1 h. The reaction mixture was evaporated to dryness. The residue was neutralized with 2M NH₃/MeOH (5 mL) solution and purified by silica gel column chromatography (DCM/MeOH, 95:5) to provide (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(ethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as a white solid (0.166 g, 95.2%). ¹H

NMR (400 MHz, MeOD) δ 6.41 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 6.00 (td, J = 54.4, 1.9 Hz, 1H), 4.22 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 4.01 (t, J = 4.6 Hz, 1H), 3.76-3.70 (m, 2H), 3.37-3.33 (m, 2H), 1.21 (t, J = 7.2 Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ 167.35, 116.25 (t, $J_{\text{C}_6,\text{F}}$ 242.0 Hz, C-6), 89.10, 75.42 (t, J = 21.0 Hz), 74.74, 71.24, 69.96 (t, J = 4.0 Hz, C-4), 41.61, 15.09. ES/MS: 269.1 [M + 1].

[00167] A sample of the above material (13.0 g, 48.5 mmol, 97% pure by LCMS with UV detection at 220 nm) was dissolved into boiling EtOAc (70 mL) then hexane (about 20 mL) was added dropwise until some solids appeared. The resulting solution was allowed to cool to room temperature. Solids were collected to give (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(ethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol (10.6 g, 98.3% pure by LCMS with UV detection at 220 nm). This material exhibited spectral characteristics identical to those described above for this compound.

Example 20

(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol



[00168] To a solution of (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol (0.944 g, 3.8 mmol) in DMF (5 mL) was added imidazole (0.8 g, 12 mmol) and TBDMSCl (0.75 g, 4.97 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 18 h and concentrated using high vacuum. The crude residue was purified on silica gel by flash column chromatography (DCM/MeOH, 95:5), affording (3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as a white solid (0.76 g, 55.2%). ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 6.31 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 4.06 (t, J = 6.1 Hz, 1H), 3.92-3.88 (m, 2H), 3.81-3.76 (dd, J = 11.4, 5.7 Hz, 1H), 3.62-3.58 (m, 1H), 3.52-3.48 (dd, J = 9.3, 5.5 Hz, 1H), 3.02 (s, 6H), 0.93 (s, 9H), 0.10 (s, 6H).

[00169] To a solution of the above material (0.84 g, 2.31 mmol) in pyridine (10 mL), at 0°C was added DMAP (0.028 g, 0.23 mmol) followed by BzCl (1.6 mL, 13.8 mmol) slowly. The mixture was warmed to room temperature and stirred overnight. The reaction was diluted

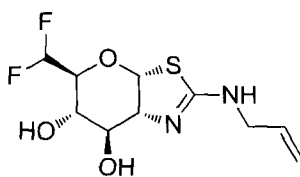
- with EtOAc (50 mL), washed with satd. NaHCO₃ solution and brine. The organic extract was dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated under reduced pressure. The residual pyridine was co-evaporated with hexanes and the crude residue was separated on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 2:3) to give (3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)methyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate (0.9 g, 68.4%) as a foamy white solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.04-8.01 (m, 4H), 7.53-7.47 (m, 2H), 7.40-7.32 (m, 4H), 6.36 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 5.81 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H), 5.35-5.33 (dd, *J* = 7.1, 0.9 Hz, 1H), 4.59 (t, *J* = 4.2 Hz, 1H), 3.92-3.89 (m, 1H), 3.80-3.73 (m, 2H), 3.05 (s, 6H), 0.83 (s, 9H), 0.01 (s, 6H).
- 10 [00170] To a solution of the above material (0.88 g, 1.54 mmol) in dry MeOH (6 mL) was added AcCl (0.054 mL, 0.77 mmol) at 0°C. The reaction mixture was stirred at this temperature for 30 min and then at room temperature overnight. The reaction mixture was diluted with DCM (30 mL) and neutralized with 10% aq. NaHCO₃ solution. DCM layer was further washed with brine, dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated. The crude residue
- 15 was residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:1) to provide (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano-[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate (0.57 g, 81%) as a foamy solid. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.03-8.01 (m, 4H), 7.55-7.49 (m, 2H), 7.41-7.37 (m, 4H), 6.36 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 5.84-5.83 (dd, *J* = 4.3, 3.0 Hz, 1H), 5.32-5.28 (m, 1H), 4.57 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H),
- 20 3.92-3.88 (m, 1H), 3.78-3.75 (dd, *J* = 12.4, 2.5 Hz, 1H), 3.70-3.65 (dd, *J* = 12.4, 5.4 Hz, 1H), 3.03 (s, 6H).
- [00171] To a solution of the above material (0.57 g, 1.25 mmol) in dry DCM (10 mL) at 0° C was added DMP (0.8 g, 1.88 mmol). The reaction was stirred at 0° C for 10 min and at room temperature for next 1.5 h when the starting material was completely consumed. The reaction
- 25 mixture was diluted 1:1 1M Na₂S₂O₃: Satd. NaHCO₃ (30 mL) and stirred for 10 min. DCM layer was separated, dried over anhydrous Na₂SO₄ and concentrated to yield crude foamy solid containing (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-5-formyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate (0.56 g crude). The crude product was carried forward for the next reaction without any further purification.
- 30 [00172] The above material (0.56 g, crude) was taken in DCM (10 mL) and cooled to -78° C. DAST (0.72 mL, 5.5 mmol) was added dropwise while stirring at -78° C. After the addition, cooling bath was removed and reaction mixture stirred at room temperature overnight. The reaction was diluted with satd. NaHCO₃ solution (15 mL). DCM layer was separated, dried

over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated. The crude residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:4) to provide (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate (0.330 g, 55.2% over 2 steps) as a foamy solid. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.06-8.01 (m, 4H), 7.57-7.53 (m, 2H), 7.44-7.39 (m, 4H), 6.38 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 5.99-5.77 (m, 1H), 5.85 (m, 1H), 5.54 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 4.66-4.64 (m, 1H), 4.06-4.01 (m, 1H), 3.06 (s, 6H).

[00173] To a stirred solution of the above material (0.33 g, 0.69 mmol) in dry MeOH (8 mL) was added K_2CO_3 (0.073 g, 0.53 mmol) at 0°C . The reaction mixture was warmed to room temperature and stirred 1.5 h. AcOH (0.5 mL) was added to the reaction mixture and contents were concentrated. The AcOH salt thus obtained was treated with 2M NH_3/MeOH solution (8 mL) and again concentrated. The residue was purified by silica gel column chromatography (DCM/MeOH, 9:1) to provide (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as a foamy solid (0.1 g, 54%). ^1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 6.31 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 5.98 (td, $J = 54.1, 2.0$ Hz, 1H), 4.20 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 4.04 (t, $J = 4.7$ Hz, 1H), 3.78-3.66 (m, 2H), 3.03 (s, 6H). ^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ 166.20, 116.56 (t, $J_{\text{C6,F}} 241.2$ Hz, C-6), 91.41, 77.21, 75.57, 75.04 (t, $J = 21.0$ Hz), 70.68 (t, $J = 3.3$ Hz, C-4), 41.17. ES/MS: 269.1 $[\text{M} + 1]$.

Example 21

(3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(allylamino)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol



[00174] A mixture of prop-2-en-1-amine (9.2 g, 0.16 mol) and (2S,3R,4R,5S,6R)-6-(acetoxymethyl)-3-isothiocyanatotetrahydro-2H-pyran-2,4,5-triyl triacetate (60 g, 0.154 mol) in DCM (300 mL) was stirred for 1 h at room temperature, followed by addition of TFA (88 g, 0.77 mol). The resulting solution was stirred overnight at room temperature, and was quenched with aqueous NaHCO_3 to pH at 8, and extracted with DCM (3 x 300 mL). The combined organic layer was dried over anhydrous Na_2SO_4 , and condensed to give a residue, which was purified by a silica gel column with 1%~2% MeOH in DCM to give

(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(acetoxymethyl)-2-(allylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl diacetate as a yellow liquid (58 g, 84%). (ES, m/z): $[M+H]^+$ 387.0; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6.33 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.84-5.96 (m, 1H), 5.32-5.44 (m, 4H), 4.98-5.04 (m, 1H), 4.37 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 4.28-4.22 (m, 2H), 3.92-3.95 (m, 3H), 2.14 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.11 (s, 3H).

[00175] A solution of the above material (50 g, 0.13 mol) in MeOH (300 mL) was treated with K_2CO_3 (3.6 g, 0.26 mol) overnight at room temperature, and followed by addition of Boc_2O (56 g, 0.26 mol) and Et_3N (19.6 g, 0.19 mol). After additional 2 h, the resulting solution was concentrated to give a residue, which was purified by a silica gel column, eluted with 5% MeOH in DCM to give tert-butyl allyl((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6,7-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)carbamate as an oil (42 g, 90% in two steps). (ES, m/z): $[M+H]^+$ 361.0; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6.14 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 5.84-5.96 (m, 1H), 5.22-5.44 (m, 4H), 4.37-4.38 (m, 1H), 4.22-4.28 (m, 2H), 3.92-3.95 (m, 3H), 1.54 (s, 9H).

[00176] A mixture of TBDMSCl (26 g, 0.17 mmol), DMAP (1.4 g, 0.01 mol), Et_3N (23.5 g, 0.23 mmol) and the above material (42 g, 0.12 mol) in DCM (300 mL) was stirred overnight at 40 °C. The reaction mixture was quenched by satd. aqueous NaHCO_3 (20 mL), and was condensed to give a residue, which was purified by a silica gel column, eluted with 1%~2% MeOH in DCM to give tert-butyl allyl((3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-((tert-butyl dimethylsilyloxy)methyl)-6,7-dihydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)carbamate as a light yellow syrup (48 g, 87%). (ES, m/z): $[M+H]^+$ 474.9; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6.16 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.84-5.93 (m, 1H), 5.22-5.32 (m, 4H), 4.65-4.67 (m, 1H), 4.26-4.31 (m, 1H), 4.20-4.22 (m, 1H), 3.84-3.88 (m, 3H), 1.54 (s, 9H), 0.93 (s, 9H), 0.09 (s, 6H).

[00177] A mixture of BzCl (11.1 g, 79 mmol), DMAP (322 mg, 2.63 mmol), pyridine (20.8 g, 263 mmol) and the above material (12.5 g, 26.3 mmol) in DCM (150 mL) at 0 °C was stirred overnight at room temperature. The reaction mixture was quenched with satd. aqueous NaHCO_3 (200 mL), extracted with DCM (3 x 100 mL), washed with brine (3 x 50 mL), dried over anhydrous MgSO_4 , and condensed to give a residue, which was purified by a silica gel column with 10% EtOAc in petroleum ether to afford (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(allyl(tert-butoxycarbonyl)amino)-5-((tert-butyl-dimethylsilyloxy)methyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate as a white solid (16.5 g, 78%). (ES, m/z): $[M+H]^+$ 683.1; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.05-8.10 (m, 4H), 7.56-7.61 (m, 2H), 7.42-7.47 (m,

4H), 6.27 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 5.99-6.02 (m, 2H), 5.86-5.92 (m, 1H), 5.43-5.46 (m, 1H), 5.10-5.18 (m, 2H), 4.81-4.89 (m, 1H), 4.56-4.62 (m, 2H), 3.76-3.87 (m, 3H), 1.56 (s, 9H), 0.88 (s, 9H), 0.04 (s, 6H).

[00178] A solution of the above material (7.0 g, 10.3 mmol) in MeOH (50 mL) was treated
5 with AcCl (0.5 mL, 0.07 mmol) for 3 h at room temperature. The reaction mixture was
quenched with satd. aqueous NaHCO₃ (10 mL) and water (200 mL), extracted with DCM (3 x
50 mL), dried over anhydrous MgSO₄, and concentrated under vacuum to give a residue,
which was purified by a silica gel column with 10% EtOAc in petroleum ether to give
(3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(allyl(tert-butoxycarbonyl)amino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-
10 tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate as a white syrup (1.7 g, 29%). (ES,
 m/z): $[M+H]^+$ 569.0; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.06-8.09 (m, 4H), 7.60-7.63 (m, 2H),
7.43-7.58 (m, 4H), 6.26 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 6.06-6.27 (m, 2H), 5.37-5.41 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H),
5.11-5.28 (m, 2H), 4.82-4.84 (m, 1H), 4.56-4.62 (m, 2H), 3.71-3.86 (m, 3H), 1.56 (s, 9H).

[00179] A solution of the above material (1.5 g, 2.6 mmol) in DCM (30 mL) was treated
15 with DMP (1.7 g, 4.0 mmol) for 2 h at room temperature. The resulting solution was
quenched with satd. aqueous NaHCO₃ (10 mL) and satd. aqueous Na₂S₂O₃ (10 mL),
extracted with DCM (3 x 50 mL), dried over Na₂SO₄, and concentrated under vacuum to give
a residue, which was purified by a short silica gel column with 30% EtOAc in petroleum to
afford the crude aldehyde (1.3 g), which was dissolved into DCM (20 mL) and treated with
20 DAST (1.5 g, 9.3 mmol) at -78 °C. After stirred overnight at room temperature, the resulting
solution was quenched with satd. aqueous NaHCO₃ (50 mL), extracted with DCM (3 x 50
mL), dried over Na₂SO₄, and concentrated under vacuum to give a residue, which was
purified by a silica gel column with 10% EtOAc in petroleum to give (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-
(allyl(tert-butoxycarbonyl)amino)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-
25 d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate as a white solid (650 mg, 43%). (ES, m/z): $[M+H]^+$ 589.0; ¹H
NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.03-8.13 (m, 4H), 7.56-7.61 (m, 2H), 7.48-7.51 (m, 4H), 6.11-
6.14 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 5.95-6.09 (td, $J = 54.3$ Hz, 2.8 Hz, 1H), 5.19-5.25 (m, 2H), 4.44-
4.45 (m, 2H), 4.31-4.36 (m, 2H), 4.10-4.18 (m, 2H), 1.53 (s, 9H).

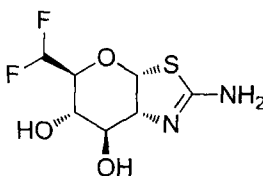
[00180] A solution of the above material (200 mg, 0.34 mmol) in MeOH (15 mL) was
30 treated with K₂CO₃ (10 mg, 0.07 mmol) for 3 h at room temperature. The reaction mixture
was neutralized by acetate acid, and was condensed to give a residue, which was purified by a
silica gel column, eluted with 1%~2% MeOH in DCM to give tert-butyl
allyl((3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-6,7-dihydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-

pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)carbamate as a yellow oil (150 mg, 76%). (ES, m/z): $[M+H]^+$ 381.0; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.13 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 5.95-6.09 (m, 1H), 5.19-5.25 (m, 2H), 4.44-4.45 (m, 2H), 4.31-4.36 (m, 2H), 4.10-4.18 (m, 2H), 1.53 (s, 9H).

[00181] A solution of the above material (150 mg, 0.39 mmol) in DCM (18 mL) was treated with TFA (1.8 mL) overnight at room temperature. The reaction mixture was condensed to give a residue, which was neutralized by NH_4OH (0.5 mL, 25%~28%, w/v) for purification by Prep-HPLC under the following conditions [(Agilent 1200 prep HPLC; Column: Sun Fire Prep C18, 19*50mm 5 μ m; mobile phase: Water with 0.03% NH_4OH and CH_3CN (10% CH_3CN up to 45% in 10 min; Detector: UV 220 nm) to give (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(allylamino)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as a white solid (16.6 mg, 15%). $[M+H]^+$ 281.0; 1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 6.20 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 6.14-6.16 (m, 1H), 5.74-5.78 (t, $J = 2.7$ Hz, 1H), 5.04-5.10 (m, 2H), 4.20-4.24 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 4.04-4.07 (t, $J = 4.2$ Hz, 1H), 3.66-3.86 (m, 4H).

Example 22

15 **3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-amino-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol**



[00182] To a solution of (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(allyl(tert-butoxycarbonyl)amino)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate (900 mg, 1.53 mmol) in 1,4-dioxane (30 mL) was added $Pd(PPh_3)_4$ (347 mg, 0.30 mmol), HCO_2H (384 mg, 8.35 mmol) and Et_3N (846 mg, 8.38 mmol) under N_2 atmosphere at 10 °C. After 20 min at 60 °C, additional HCO_2H (1.4 g, 30.3 mmol) was added. After stirred overnight at 60 °C, the reaction mixture was quenched with satd. aqueous $NaHCO_3$, extracted with DCM (3 x 30 mL), dried by anhydrous $MgSO_4$, and concentrated under reduced pressure to afford a residue, which was purified by a silica gel column, eluted with 10% EtOAc in hexane to give (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate as a white syrup (600 mg, 72%). (ES, m/z): $[M+H]^+$ 549.0; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.07-8.14 (m, 4H), 7.60-7.65 (m, 2H), 7.51-

7.59 (m, 4H), 6.34 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 5.82-6.20 (td, $J = 54.0$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 5.83-5.85 (m, 1H), 5.61-5.64 (m, 1H), 4.59-4.63 (m, 1H), 4.05-4.18 (m, 1H), 1.53 (s, 9H).

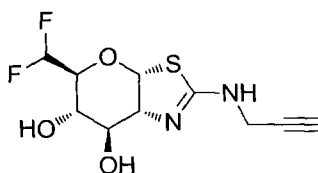
[00183] A solution of the above material (600 mg, 1.1 mmol) in MeOH (50 mL) was treated with K_2CO_3 (45 mg, 0.33 mmol) for 3 h at room temperature. The reaction mixture was neutralized by addition of AcOH, and was condensed to give a residue, which was purified

by a silica gel column eluted with 1% ~ 5% MeOH in DCM to give tert-butyl (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-6,7-dihydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-ylcarbamate as a solid (300 mg, 81%). (ES, m/z): $[M+H]^+$ 341.0; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6.17 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.85-6.21 (td, $J = 51.6$ Hz, 2.7 Hz, 1H), 3.84-4.16 (m, 4H), 1.56 (s, 9H).

[00184] A solution of the above material (135 mg, 0.4 mmol) in DCM (10 mL) was treated with TFA (1 mL) overnight at room temperature. Removal of solvents gave a residue, which was dissolved into MeOH (5 mL) and neutralized by conc. NH_4OH (0.5 mL, 25% ~ 28%, w/v). Concentration and purification by Prep-HPLC under the following conditions [(Agilent 1200): Column, X-Bridge C18; mobile phase, 50mmol/L NH_4HCO_3 in water with 0.05% NH_4OH and CH_3CN (CH_3CN 5% up to 20% in 10min); Detector, 220nm UV] afforded (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-amino-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as a white solid (26.7 mg, 27%). (ES, m/z): $[M+H]^+$ 240.9; 1H NMR (CD_3OD , 300 MHz) δ 6.28 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 5.50-6.14 (td, $J = 54.3$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 4.16-4.20 (m, 1H), 4.02-4.05 (t, $J = 4.5$ Hz, 1H), 3.74-3.80 (m, 1H), 3.63-3.71 (m, 1H).

Example 23

(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(prop-2-ynylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol



[00186] A solution of (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(tert-butoxycarbonylamino)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate (800 mg, 1.46 mmol) and 3-bromoprop-1-yne (538 mg, 4.56 mmol) in DMF (15 mL) was treated with K_2CO_3 (125 mg, 0.91 mmol) overnight at room temperature. The reaction mixture was quenched with satd. aqueous NH_4Cl (30 mL), extracted with DCM (3 x 10 mL), washed with

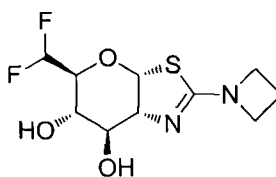
brine (3 x 10 mL), dried over anhydrous MgSO_4 , and condensed to give a residue, which was purified by a silica gel column with 10% EtOAc in petroleum ether to give a mixture containing (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(tert-butoxycarbonyl(prop-2-ynyl)amino)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate as a light yellow solid (210 mg), which was used in the next step without further purification. (ES, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 587.0.

[00187] A solution of above mixture (210 mg, 0.36 mmol) in MeOH (10 mL) was treated with K_2CO_3 (14.8 mg, 0.11 mmol) for 2 h at 25 °C, and followed by neutralization with AcOH. Removal of volatiles afforded a residue, which was purified by a silica gel column with 20% EtOAc in petroleum ether to give a mixture containing tert-butyl (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-6,7-dihydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl(prop-2-ynyl)carbamate (125 mg). (ES, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 379.0.

[00188] A solution of above mixture (50 mg, 0.1 mmol) in THF (10 mL) was treated with MeMgCl (0.3 mL, 1 mmol, 3 M in THF) overnight at 10 °C. The reaction was quenched with satd. aqueous NH_4Cl (1 mL), and was condensed to give a residue, which was dissolved into 10% MeOH in DCM, and filtered through a short silica gel column. Concentration and purification by Prep-HPLC under the following conditions [(Agilent 1200 prep HPLC): Column, Sun Fire Prep C18*50mm 5um; mobile phase, H_2O with CH_3CN (40% CH_3CN up to 60% in 5 min); Detector, UV, 220nm] afforded (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(prop-2-ynylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol (22 mg, faster moving isomer by HPLC). (ES, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 279.0; ^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.37 (broad, 1H), 6.21 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 5.76-6.28 (td, $J = 53.7$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 5.27 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 4.96-4.98 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 4.05-4.09 (m, 1H), 3.85-3.99 (m, 3H), 3.51-3.60 (m, 2H), 3.13 (s, 1H).

Example 24

(3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(azetidin-1-yl)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol



[00190] A mixture of Et_3N (18.7 g, 185 mmol), azetidine hydrochloride (12 g, 129 mmol) and (2S,3R,4R,5S,6R)-6-(acetoxymethyl)-3-isothiocyanatotetrahydro-2H-pyran-2,4,5-triol

triacetate (48 g, 123 mmol) in DCM (500 mL) was stirred for 2 h at room temperature, and followed by addition of TFA (56 g, 493 mmol). The resulting solution was stirred overnight at room temperature, neutralized by NaHCO₃, extracted with DCM (3 x 100 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and condensed to give a residue, which was purified by a silica gel

5 column, eluted with 30% EtOAc in petroleum to give (3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(acetoxymethyl)-2-(azetidin-1-yl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl diacetate as a light yellow syrup (36 g, 75%). (ES, *m/z*): [M+H]⁺: 386.9; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.29 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 5.44-5.47 (m, 1H), 4.95-4.99 (m, 1H), 4.36 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.05-4.18 (m, 6H), 3.86-3.92 (m, 1H), 2.34-2.44 (m, 2H), 2.07-2.14 (m, 9H).

10 [00191] A solution of the above material (36 g, 93 mmol) in MeOH (200 mL) was treated with K₂CO₃ (5.14 g, 37 mmol) for 4 h at room temperature. The resulted solution was filtered through a short silica gel column to afford (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(azetidin-1-yl)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as light yellow syrup (21 g, 87%). (ES, *m/z*): [M+H]⁺: 261.0; ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 6.27 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.94 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 3.85 (t, *J* = 7.5 Hz, 4H), 3.70 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 3.55-3.59

15 (m, 1H), 3.33-3.42 (m, 3H), 2.21-2.51 (m, 2H).

[00192] To a solution of the above material (34 g, 131 mmol), Et₃N (20.2 g, 0.2 mol) and DMAP (0.5 g, 4 mmol) in DCM (200 mL) was added TBDMSCl (21.6 g, 143 mmol). After stirred overnight at 15 °C, the reaction mixture was quenched by addition of satd. aqueous

20 NaHCO₃ (200 mL), extracted with DCM (3 x 100 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and concentrated under vacuum to give a residue, which was purified on a silica gel column with 2% MeOH in DCM to afford (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(azetidin-1-yl)-5-((tert-butyl)dimethylsilyloxy)methyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as a solid (32 g, 65%). (ES, *m/z*): [M+H]⁺: 375.0; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.38 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 4.24 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 4.04-4.09 (m, 5H), 3.85 (d, *J* = 3.6 Hz, 2H), 3.70-3.78 (m, 1H), 3.66-3.69 (m, 1H), 2.33-2.43 (m, 2H), 0.91 (s, 9H), 0.09 (s, 6H).

25

[00193] A solution of the above material (3.0 g, 8.0 mmol) in DMF (40 mL) was treated with NaH (1.5 g, 37.50 mmol) at room temperature for 30 min, and followed by addition of BzCl (3.36 g, 24 mmol). The resulting solution was stirred overnight at 15 °C, quenched with

30 water/ice (100 mL), extracted with DCM (3 x 50 mL), washed with brine (3 x 20 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and condensed to give a residue, which was purified by a silica gel column with 10% EtOAc in petroleum ether to afford (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(azetidin-1-yl)-5-((tert-butyl)dimethylsilyloxy)methyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-

diyl dibenzoate as light yellow oil (1.38 g, 30%). (ES, m/z): $[M+H]^+$: 583.0; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.05-8.09 (m, 4H), 7.54-7.59 (m, 2H), 7.28-7.39 (m, 4H), 6.43 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 5.84-5.96 (m, 1H), 5.37 (dd, $J = 2.1, 1.5$ Hz, 1H), 4.59-4.61 (m, 1H), 4.04-4.09 (m, 5H), 3.78-3.93 (m, 2H), 2.38-2.43 (m, 2H), 0.91 (s, 9H), 0.09 (s, 6H).

- 5 [00194] A solution of the above material (1.3 g, 2.2 mmol) in MeOH (10 mL) was treated with AcCl (1 mL, 0.45 mmol) overnight at 15 °C. The reaction was quenched with satd. aqueous NaHCO_3 (20 mL), extracted with DCM (3 x 40 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated under vacuum to give a residue, which was purified by a silica gel column, eluted with 20% EtOAc in petroleum ether to afford (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(azetidin-1-yl)-
- 10 5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate as a solid (0.42 g, 40%). (ES, m/z): $[M+H]^+$: 469.0; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.04-8.11 (m, 4H), 7.55-7.62 (m, 2H), 7.42-7.48 (m, 4H), 6.48 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.92 (t, $J = 3.6$ Hz, 1H), 5.35 (dd, $J = 8.0, 3.6$ Hz, 1H), 4.63 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.11-4.18 (m, 4H), 3.92-3.96 (m, 1H), 3.80-3.84 (m, 1H), 3.69-3.68 (m, 1H), 2.38-2.48 (m, 2H).
- 15 [00195] A solution of the above material (400 mg, 0.85 mmol) in DCM (20 mL) was treated with DMP (600 mg, 1.41 mmol) at 0 °C for 10 min, and additional 2 h at 25 °C. The resulting solution was quenched with satd. aqueous NaHCO_3 (10 mL) and satd. aqueous $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (10 mL), extracted with DCM (3 x 20 mL), dried over anhydrous Na_2SO_4 , and concentrated under vacuum to afford a residue, which was dissolved into DCM (20 mL) and treated with
- 20 DAST (5 mL, 4.48 mmol) at -78°C. The resulted solution was stirred overnight at 15 °C, and was quenched with satd. aqueous NaHCO_3 (10 mL). The organic layer was separated and the resulted aqueous layer was extracted with DCM (2 x 20 mL). The combined organic layers was dried over anhydrous Na_2SO_4 and concentrated under vacuum. The residue was purified by a silica gel column with 20% EtOAc in petroleum ether to afford (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-
- 25 (azetidin-1-yl)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diyl dibenzoate as light yellow oil (240 mg, 46%). (ES, m/z): $[M+H]^+$: 488.9; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8.03-8.13 (m, 4H), 7.56-7.63 (m, 2H), 7.42-7.49 (m, 4H), 6.48 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.94-5.96 (m, 2H), 5.58 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.07-4.17 (m, 4H), 2.43-2.51 (m, 2H).
- 30 [00196] A solution of the above material (110 mg, 0.23 mmol) in MeOH (10 mL) was treated with K_2CO_3 (20 mg, 0.14 mmol) for 2 h at 25 °C, and then neutralized by AcOH. Removal of volatiles gave a residue, which was purified by a silica gel column with 10% MeOH in DCM to afford (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(azetidin-1-yl)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-

tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as a white solid (24 mg, 22%). (ES, m/z): $[M+H]^+$: 280.9; 1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 6.29 (d, J = 6.3 Hz, 1H), 5.82-6.00 (td, J = 54.0 Hz, 1.8 Hz, 1H), 4.24 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 3.97-4.04 (m, 5H), 3.82-3.87 (m, 1H), 3.69-3.80 (m, 1H), 2.29 (m, 2H).

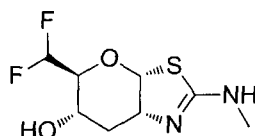
- 5 [00197] The following examples were synthesized according to procedures analogous to the schemes and examples outlined above.

Table 5

Example	Structure	Name
25		(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol
1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 6.45 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 6.01 (td, J = 54.2, 2.2 Hz, 1H), 4.23 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.00 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 3.82-3.73 (m, 2H), 2.95 (s, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ 168.82, 116.17 (t, $J_{C6,F}$ 241.5 Hz, C-6), 89.26, 75.42 (t, J = 21.2 Hz), 74.75, 69.87 (t, J = 3.3 Hz, C-4), 55.64, 32.20. (ES, m/z): $[M+H]^+$: 255.0.		
Example	Structure	Name
26		(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol
1H NMR (400 MHz, MeOD) δ 6.44 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 6.01 (td, J = 54.2, 1.8 Hz, 1H), 4.23 (t, J = 5.9 Hz, 1H), 4.03 (t, J = 4.6 Hz, 1H), 3.79-3.72 (m, 2H), 3.32-3.23 (m, 2H), 1.69-1.60 (m, 2H), 0.98 (t, J = 7.3 Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, MeOD) δ 167.42, 116.25 (t, $J_{C6,F}$ 241.4 Hz, C-6), 89.12, 75.41 (t, J = 21.4 Hz), 74.78, 69.99 (t, J = 3.2 Hz, C-4), 55.64, 48.47, 23.98, 12.36. (ES, m/z): $[M+H]^+$: 283.1.		

Example 27

- 10 (3aR,5S,6S,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol



- [00198] A mixture of ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6-(benzoyloxy)-2-((tert-butoxycarbonyl)(methyl)amino)-7-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-5-yl)methyl benzoate (5.00 g, 9.24 mmol) and thio-CDI (90% tech, 3.40 g, 19.1 mmol) in
- 15

anhydrous DMF (30 mL) was stirred at 95°C for 4 h. After cooling the solvent was removed under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:10 to 2:3), affording (3aR,5R,6S,7R,7aR)-7-((1H-imidazole-1-carbonothioyl)oxy)-5-((benzoyloxy)methyl)-2-((tert-butoxycarbonyl)(methyl)amino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-yl benzoate as a pale yellow solid (5.60 g, 93%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.76 (s, 1H), 8.03-8.01 (m, 2H), 7.97-7.95 (m, 2H), 7.64-7.60 (m, 1H), 7.54-7.50 (m, 1H), 7.45 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.34 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.02 (s, 1H), 6.38-6.37 (m, 1H), 6.15 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 5.56 (td, *J* = 1.2, 9.2 Hz, 1H), 4.70-4.67 (m, 1H), 4.58 (dd, *J* = 3.2, 12.1 Hz, 1H), 4.42 (dd, *J* = 5.1, 12.1 Hz, 1H), 4.08-4.03 (m, 1H), 3.43 (s, 3H), 1.56 (s, 9H).

[00199] A mixture of the above material (5.60 g, 8.59 mmol), Bu₃SnH (5.84 g, 17.0 mmol) and ABCN (0.15 g, 0.60 mmol) in mixed anhydrous toluene/THF (50/50 mL) was stirred at 90°C for 16 h. After cooling the solvent was removed under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:10 to 1:2), affording ((3aR,5R,6S,7aR)-6-(benzoyloxy)-2-((tert-butoxycarbonyl)(methyl)amino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-5-yl)methyl benzoate as a white solid (3.20 g, 70%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.03-7.98 (m, 4H), 7.58-7.49 (m, 2H), 7.44-7.40 (m, 4H), 6.08 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.44-5.40 (m, 1H), 4.49-4.40 (m, 3H), 4.07-4.03 (m, 1H), 3.35 (s, 3H), 2.64-2.59 (m, 1H), 2.44-2.37 (m, 1H), 1.56 (s, 9H).

[00200] Following the procedure described for Example 32, the above material (3.20 g, 6.10 mmol) was benzoyl deprotected using K₂CO₃. After purification on silica gel by flash column chromatography (MeOH/DCM, 1:50 to 1:20), tert-butyl ((3aR,5R,6S,7aR)-6-hydroxy-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate was obtained as a white solid (1.82 g, 94%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.91 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 4.36-4.32 (m, 1H), 3.89-3.85 (m, 1H), 3.81-3.75 (m, 1H), 3.65-3.59 (m, 1H), 3.38-3.34 (m, 1H), 3.33 (s, 3H), 2.48-2.43 (m, 1H), 2.32 (d, *J* = 10.7 Hz, 1H), 2.17-2.11 (m, 1H), 1.84 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H), 1.54 (s, 9H).

[00201] Following the procedure described for Example 32, the above material (1.82 g, 5.74 mmol) was mono-TBDMS protected. After purification on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:10 to 1:2), tert-butyl ((3aR,5R,6S,7aR)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-6-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate was obtained as a colorless sticky oil (2.30 g, 93%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.92 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 4.31-4.28 (m, 1H), 3.92-3.90 (m, 1H), 3.73 (d, *J* =

4.6 Hz, 2H), 3.35-3.31 (m, 1H), 3.33 (s, 3H), 2.41 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 2.41-2.36 (m, 1H), 2.18-2.12 (m, 1H), 1.54 (s, 9H), 0.89 (s, 9H), 0.06 (s, 6H).

[00202] Following the procedure described for Example 32, the above material (2.78 g, 6.45 mmol) was benzyl protected using BnBr. After purification on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:10 to 1:4), tert-butyl ((3aR,5R,6S,7aR)-6-(benzyloxy)-5-
5 (((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate was obtained as a colorless sticky oil (2.7 g, 80%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.36-7.27 (m, 5H), 6.02 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 4.67 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 4.40 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 4.34-4.30 (m, 1H), 3.83-3.78 (m, 1H), 3.77-3.69 (m, 2H), 3.53-3.50 (m,
10 1H), 3.29 (s, 3H), 2.44-2.39 (m, 1H), 2.14-2.08 (m, 1H), 1.52 (s, 9H), 0.88 (s, 9H), 0.04 (s, 6H).

[00203] Following the procedure described for Example 32, the above material (2.70 g, 5.30 mmol) was silyl-deprotected using TBAF. After purification on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:5 to 1:1), tert-butyl ((3aR,5R,6S,7aR)-6-(benzyloxy)-5-
15 (hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate was obtained as a colorless sticky foam (2.0 g, 93%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.37-7.27 (m, 5H), 6.01 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 4.69 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 4.40 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 4.36-4.34 (m, 1H), 3.77-3.72 (m, 2H), 3.62-3.54 (m, 2H), 3.30 (s, 3H), 2.53-2.48 (m, 1H), 2.09-2.02 (m, 1H), 1.71 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H), 1.53 (s, 9H).

[00204] Following the procedure described for Example 32, the above material (0.663 g, 1.62 mmol) was oxidized to the aldehyde using DMP. After purification on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:10 to 2:3), tert-butyl ((3aR,5S,6S,7aR)-6-(benzyloxy)-5-formyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate was obtained as a white foam (0.57 g, 86%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.63 (s, 1H),
20 7.36-7.27 (m, 5H), 6.04 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 4.69 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 4.50 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 4.43-4.39 (m, 1H), 4.07 (d, $J = 6.4$ Hz), 4.02-3.99 (m, 1H), 3.29 (s, 3H), 2.64-2.59 (m, 1H), 2.10-2.03 (m, 1H), 1.53 (s, 9H).

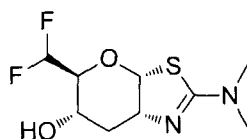
[00205] Following the procedure described for Example 32, the above material (0.550 g, 1.35 mmol) was treated with DAST. After purification on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:10 to 1:3), tert-butyl ((3aR,5S,6S,7aR)-6-(benzyloxy)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate was obtained as a pale yellow sticky oil (0.48 g, 83%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.34-7.27
30

(m, 5H), 6.04 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 5.79 (dt, $J = 2.2, 54.7$ Hz, 1H), 4.67 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 4.43 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 4.43-3.40 (m, 1H), 4.01-3.97 (m, 1H), 3.82-3.73 (m, 1H), 3.27 (s, 3H), 2.59-2.54 (m, 1H), 2.10-2.05 (m, 1H), 1.53 (s, 9H).

[00206] Following the procedure described for Example 32, the above material (0.480 g, 1.12 mmol) was deprotected using BCl_3 . After purification on silica gel by flash column chromatography (1.0 M NH_3 in MeOH/DCM, 1: 12), (3aR,5S,6S,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol was obtained as a pale yellow sticky solid (0.24 g, 87%). ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.17 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 5.91 (dt, $J = 2.6, 54.4$ Hz, 1H), 4.38-4.34 (m, 1H), 4.03-3.98 (m, 1H), 3.64-3.61 (m, 1H), 2.84 (s, 3H), 2.16-2.13 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 163.35, 116.00 (t, $J = 241.0$ Hz), 91.12, 74.97 (t, $J = 42.7$ Hz), 70.00, 64.54 (t, $J = 3.6$ Hz), 34.19, 30.79; MS, $m/z = 239.0$ ($M + 1$).

Example 28

(3aR,5S,6S,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol



[00207] To a solution of (3aR,5R,6R,7R,7aR)-7-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol (4.26 g, 8.95 mmol) in anhydrous DMF (30 mL) was added BnBr (1.68 g, 9.84 mmol) and tetrabutylammonium iodide (0.330 g, 0.895 mmol). At 0°C NaH (60%, 0.430 g, 10.744 mmol) was added in portions and then the reaction was stirred at this temperature for 2 h. The mixture was diluted with water (200 mL), extracted with Et_2O (2×100 mL). The combined extract was washed with brine (100 mL) and dried over anhydrous Na_2SO_4 . The solvent was evaporated under reduced pressure to give a mixture containing ~80% (3aR,5R,6R,7R,7aR)-6-(benzyloxy)-7-((tert-butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-N,N-dimethyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-amine (5.06 g, 100%) which was inseparable on silica gel column. This mixture was directly submitted to next reaction.

[00208] To a solution of the above material (9.89 g, 17.5 mmol) in MeOH (100 mL) at 0°C was added AcCl (6.21 mL, 87.4 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 16

h. Solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was purified on silica gel column, eluted with 2%-5% 2M NH₃ MeOH solution in DCM to give (3aR,5R,6S,7R,7aR)-6-(benzyloxy)-2-(dimethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-7-ol (4.58 g, 78%). MS m/z 339.1 (M+1, 100%).

- 5 [00209] To a solution of the above material (4.58 g, 13.6 mmol) and imidazole (2.76 g, 40.7 mmol) in anhydrous DMF (30 mL) at 0°C was added TBDMSCl (2.45 g, 16.3 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 21 h. The reaction was diluted with water (200 mL), extracted with Et₂O (2 × 100 mL). The combined extracts were washed with brine (100 mL) and dried over anhydrous Na₂SO₄. The solvent was evaporated under reduced pressure.
- 10 The residue was purified on silica gel column, eluted with 1%-3% 2 M NH₃ MeOH solution in DCM to give (3aR,5R,6S,7R,7aR)-6-(benzyloxy)-5-(((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)methyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-7-ol (5.80 g, 95%). MS m/z 453.2 (M+1, 100%); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.27-7.37 (m, 5H), 6.37 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 4.88 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 4.63 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 4.22 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 4.09-4.13
- 15 (m, 1H), 3.80-3.82 (m, 2H), 3.74-3.78 (m, 1H), 3.64 (dd, *J* = 8.7 Hz, 6.4 Hz, 1H), 2.98 (s, 6H), 0.897 (s, 9H), 0.90 (s, 9H), 0.052 (s, 3H), 0.056 (s, 3H).

- [00210] A mixture of the above material (5.80 g, 12.8 mmol) and thio-CDI (90% tech, 4.57 g, 23.1 mmol) in anhydrous DMF (30 mL) was stirred at 90 °C for 2.5 h. After cooling, the mixture was diluted with water (200 mL), extracted with Et₂O (2 × 100 mL). The combined
- 20 extracts were washed with brine (100 mL) and dried over anhydrous Na₂SO₄. The solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was purified on silica gel column, eluted with 30%-100% EtOAc in hexanes to give O-((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6-(benzyloxy)-5-(((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)methyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-7-yl) 1H-imidazole-1-carbothioate (6.51 g, 90%). MS m/z 563.2 (M+1, 100%); ¹H
- 25 NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.30 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.23-7.34 (m, 5H), 7.03 (s, 1H), 6.36 (brs, 1H), 6.31 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 4.91 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.62 (m, 1H), 4.58 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 3.85 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 3.64-3.74 (m, 3H), 3.03 (s, 6H), 0.82 (s, 9H), 0.02 (s, 3H), 0.00 (s, 3H).

- [00211] A mixture of the above material (6.51 g, 11.6 mmol), tributyltin hydride (7.47 g, 25.7 mmol) and ABCN (0.313 g, 1.28 mmol) in anhydrous THF (100 mL) was heated at
- 30 reflux for 17 h. After cooling the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography, eluted with 50%-80% EtOAc in hexanes to give (3aR,5R,6S,7aR)-6-(benzyloxy)-5-(((tert-butyl dimethylsilyl)oxy)methyl)-

N,N-dimethyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-amine as a white solid (4.07 g, 81%). MS m/z 437.2 (M+1, 100%); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.24-7.37 (m, 5H), 6.25 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 4.71 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.42 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.34-4.39 (m, 1H), 3.65-3.80 (m, 4H), 2.99 (s, 6H), 2.25 (brs, 1H), 2.10-2.16 (m, 1H), 0.89 (s, 9H), 0.05 (s, 6H).

- 5 [00212] To a solution of the above material (4.07 g, 9.33 mmol) in MeOH (50 mL) at 0°C was added AcCl (1.33 mL, 18.7 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 16 h. Solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was purified on silica gel column, eluted with 3%-5% 2 M NH₃ MeOH solution in DCM to give ((3aR,5R,6S,7aR)-6-(benzyloxy)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-5-yl)methanol
10 (2.78 g, 91%). MS m/z 323.1 (M+1, 100%); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.25-7.36 (m, 5H), 6.22 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 4.70 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.42 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.32-4.37 (m, 1H), 3.71-3.79 (m, 2H), 3.60-3.67 (m, 2H), 2.97 (s, 6H), 2.19-2.25 (m, 1H), 2.09-2.15 (m, 1H), 1.86 (br s, 1H).

- [00213] To a solution of DMSO (0.875 g, 11.2 mmol) in anhydrous DCM (15 mL) at -78°C
15 under N₂ was added oxalyl chloride (1.316 g, 10.36 mmol) dropwise. The mixture was stirred at ~ -30°C for 30 min and cooled to -78°C again. A solution of the above material (1.39 g, 4.32 mmol) in anhydrous DCM (15 mL) was added dropwise. After stirred at ~ -30°C for 2 h the reaction mixture was cooled back to -78°C, and Et₃N (1.74 g, 17.3 mmol) was added. The mixture was stirred at ~ -30°C for another 30 min, and then quenched with
20 water (50 mL). The organic layer was collected, and the aqueous was extracted with DCM (2 × 20 mL). The combined extracts were dried over anhydrous Na₂SO₄. The solvent was evaporated under reduced pressure to give the crude (3aR,5S,6S,7aR)-6-(benzyloxy)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-5-carbaldehyde (1.24 g) as a yellow foam. MS m/z 353.1 (M+23, 100%).

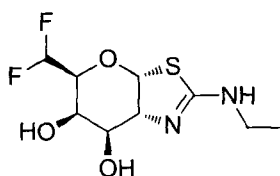
- 25 [00214] To a solution of the above crude material (200 mg) in anhydrous DCM (5 mL) at 0°C was added bis(2-methoxyethyl)aminosulfur trifluoride (0.553 g, 2.50 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 27 h. The reaction was quenched with satd. aqueous NaHCO₃ (10 mL), and then extracted with EtOAc (2 × 10 mL). The combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄. The solvents were evaporated under reduced pressure, and the
30 residue was purified by silica gel column chromatography (EtOAc/hexanes, 2:1 to 5:1) to afford (3aR,5S,6S,7aR)-6-(benzyloxy)-5-(difluoromethyl)-N,N-dimethyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-amine as a pale yellow foam (0.050 g, 23%, 2 steps). MS m/z 343.1 (M+1, 100%).

[00215] To a solution of the above material (0.049 g, 0.14 mmol) in DCM (2 mL) at -78°C was added a solution of BCl₃ in DCM (1.0 M, 0.19 mL, 0.19 mmol). The mixture was slowly warmed up to room temperature and stirred for 18 h. The reaction was cooled to -78°C again and a 1:1 mixture of MeOH-DCM (2 mL) was added dropwise to quench the reaction.

- 5 Solvents were evaporated and the residue was treated with MeOH for three more times. The crude product was purified by silica gel column chromatography, eluted with 1%-2% 2 M NH₃ MeOH solution in DCM to give the product (3aR,5S,6S,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol (0.0193 g, 53%) as a white solid. MS *m/z* 253.1 (*M*+1, 100%); ¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 6.22 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 5.93 (td, *J* = 54.4 Hz, 2.6 Hz, 1H), 4.36-4.40 (m, 1H), 3.99-4.03 (m, 1H), 3.59-3.68 (m, 1H), 3.03 (s, 6H), 2.12-2.16 (m, 2H); ¹³C NMR (100 MHz, MeOD) δ 165.06, 115.86 (t, *J* = 192.8 Hz), 91.48, 74.91 (t, *J* = 17.1 Hz), 70.02, 64.40 (t, *J* = 2.8 Hz), 40.31, 34.09.

Example 29

- (3aR,5S,6R,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(ethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol



- [00216] A solution of tert-butyl ((3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-6,7-dihydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(ethyl)carbamate (500 mg, 1.3 mmol) and imidazole (277 mg, 4 mmol) in DMF (20 mL) was treated with TBDMSCl (611 mg, 4 mmol) for 3 h at 40°C. The resulting solution was then cooled to room temperature, quenched by satd. aqueous NaHCO₃ (50 mL) solution, extracted with DCM (3x20 mL), washed with brine (3x10 mL), dried over anhydrous MgSO₄, and concentrated under vacuum to give a residue, which was purified by a silica gel column, eluted with 5%-10% EtOAc in petroleum ether to afford tert-butyl(3aR,5S,6R,7R,7aR)-7-(tert-butyldimethylsilyloxy)-5-(difluoromethyl)-6-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl(ethyl)carbamate as a light yellow syrup (420 mg, 64 %). (ES, *m/z*): [*M*+1]⁺ 483.0; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 5.87 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 5.98 (td, *J* = 55.2 Hz, 3.6 Hz, 1H), 4.10-3.91 (m, 5H), 3.77-3.70 (m, 1H), 1.56 (s, 9H), 1.21 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H), 0.94 (s, 9H), 0.19 (s, 3H), 0.15 (s, 3H).

[00217] A solution of the above material (440 mg, 0.9 mmol) in DCM (20 mL) was treated with DMP (587 mg, 1.4 mmol) for 1 h at room temperature. The reaction mixture was quenched by a mixture of satd. aqueous NaHCO₃ (5 mL) and sodium hyposulfite (5 mL). The organic layer was collected and the aqueous layer was extracted with DCM (3x20 mL). The combined organic layer was washed with brine (10 mL) and dried over anhydrous MgSO₄. After filtration, the filtrates were concentrated to give a residue, which was purified by a silica gel column, eluted with 5% EtOAc in petroleum ether to afford tert-butyl(3aR,5S,7R,7aR)-7-(tert-butyldimethylsilyloxy)-5-(difluoromethyl)-6-oxo-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl(ethyl)carbamate as white syrup (370 mg, 84 %).

(ES, *m/z*): [M+1]⁺ 481.0; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.20 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 6.08 (td, *J* = 52.8 Hz, 1.5 Hz, 1H), 4.69 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 4.63 (dd, *J* = 6.9 Hz, 3.9 Hz, 1H), 4.16-4.09 (m, 1H), 3.98-3.89 (m, 2H), 1.57 (s, 9H), 1.14 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H), 0.93 (s, 9H), 0.20 (s, 3H), 0.13 (s, 3H).

[00218] A solution of the above material (400 mg, 0.8 mmol) in MeOH (5 mL) was treated with NaBH₄ (63 mg, 1.7 mmol) for 2 h at room temperature. The reaction mixture was quenched with water (20 mL) and extracted with DCM (3x10 mL). The combined organic layer was washed with brine (10 mL), dried over anhydrous MgSO₄, and concentrated under vacuum to give a residue, which was purified by a silica gel column, eluted with 10 % EtOAc in petroleum ether to afford tert-butyl(3aR,5S,6S,7R,7aR)-7-(tert-butyldimethylsilyloxy)-5-(difluoromethyl)-6-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl(ethyl)carbamate as white syrup (103 mg, 25%).

(ES, *m/z*): [M+1]⁺ 483.0; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6.04 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H), 6.06 (td, *J* = 70.2 Hz, 6.6 Hz, 1H), 4.37-4.31 (m, 1H), 4.25-4.20 (m, 1H), 4.12-4.06 (m, 1H), 4.01-3.92 (m, 2H), 3.87 (m, 1H), 3.85-3.76 (m, 1H), 1.56 (s, 9H), 1.21 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H), 0.96 (s, 9H), 0.22 (s, 3H), 0.18 (s, 3H).

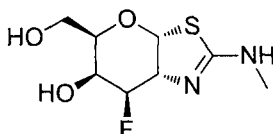
[00219] To a solution of the above material (20 mg, 0.04 mmol) in MeOH (10 mL) was bubbled with dry HCl gas until it was saturated at 0 °C. The resulting solution was stirred for 3 h at room temperature. Removal of volatiles gave a residue, which was dissolved into MeOH (2 mL) and neutralized with concentrated NH₄OH (1 mL). After concentrating under reduced pressure, the crude product was purified by a short silica gel column, eluted with 10% MeOH in DCM to afford (3aR,5S,6R,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(ethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol as a white solid (10 mg, 90 %).

(ES, *m/z*): [M+1]⁺ 269.0; ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 6.31 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.97 (td, *J* =

56.1, 6.3 Hz, 1H), 4.12 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H), 4.03 (t, $J = 3.0$ Hz, 1H), 3.95-3.90 (m, 1H), 3.88-3.85 (m, 1H), 3.32-3.21 (m, 2H), 1.17 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H).

Example 30

(3aR,5R,6S,7R,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol



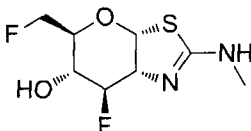
[00220] To a solution of tert-butyl ((3aR,5R,7R,7aR)-5-(((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)methyl)-7-fluoro-6-oxo-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate (2.57 g, 5.72 mmol) in dry MeOH (50 mL), at 0°C, was added NaBH₄ (0.295 g, 7.80 mmol). After the mixture was stirred at 0°C for 20 min a chip of dry ice was added, and the solvent was evaporated. The residue was dissolved in DCM (50 mL) and washed with satd. aqueous NaHCO₃ (50 mL). The organic layer was collected, and the aqueous was extracted with DCM (2 × 30 mL). The combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:10 to 1:3), affording tert-butyl ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(((tert-butyl)dimethylsilyl)oxy)methyl)-7-fluoro-6-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate (0.95 g, 37%), as a sticky oil. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.11 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 4.84 (ddd, $J = 3.2, 6.7, 48.2$ Hz, 1H), 4.45 (td, $J = 6.7, 16.6$ Hz, 1H), 4.32-4.29 (m, 1H), 4.00-3.93 (m, 2H), 3.90-3.86 (m, 1H), 3.36 (s, 3H), 3.19 (s, br., 1H, (OH)), 1.53 (s, 9H), 0.90 (s, 9H), 0.093 (s, 3H), 0.087 (s, 3H).

[00221] To a solution of the above material (0.110 g, 0.244 mmol) in dry MeOH (4 mL) was bubbled HCl gas for 30 sec. The mixture was stirred at room temperature for 2 h. After the solvent was evaporated under reduced pressure, the residue was neutralized with 1.0 M NH₃ in MeOH and purified on silica gel by flash column chromatography (1.0 M NH₃ in MeOH/DCM, 1:9) affording (3aR,5R,6S,7R,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol as a white solid (0.043 g, 89%). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 6.38 (dd, $J = 1.0, 6.7$ Hz, 1H), 4.65 (ddd, $J = 3.3, 7.8, 48.2$ Hz, 1H), 4.30-4.22 (m, 1H), 4.15-4.11 (m, 1H), 4.01-3.98 (m, 1H), 3.78-3.72 (m, 2H), 2.83 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 164.87, 94.77 (d, $J = 182.5$ Hz), 91.73 (d, $J =$

7.8 Hz), 75.66 (d, $J = 5.8$ Hz), 69.89 (d, $J = 21.0$ Hz), 67.01 (d, $J = 27.6$ Hz), 61.81 (d, $J = 3.1$ Hz), 30.30; MS, (ES, m/z) $[M+H]^+$ 237.1.

Example 31

5 (3aR,5S,6R,7R,7aR)-7-fluoro-5-(fluoromethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol



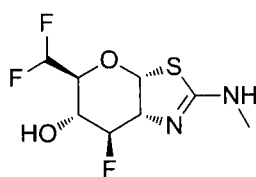
- [00222] To a suspension of (3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol (80.00 g, 341.6 mmol) in DMF (500 mL) was added DIPEA (8 mL), MeOH (8 mL) and Boc_2O (100.0 g, 458.7 mmol) in
- 10 sequence. The suspension was stirred at room temperature for 6 h, and became a clear solution. After the volume of the solution was reduced under reduced pressure at room temperature by around 100 mL to remove MeOH and tert-butanol, the solution was cooled with an ice cooling bath, and imidazole (92.9 g, 1.36 mol), and TBDMSCl (155 g, 1.03 mol) was added in sequence. After stirred at room temperature overnight the mixture was diluted
- 15 with brine (1.5 L). Extraction was performed with Et_2O three times (500 mL and 2×300 mL). The combined ether extract was washed with brine (1 L) and dried over anhydrous Na_2SO_4 . After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue of the two batches was combined and purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc /hexanes, 2:11) to afford tert-butyl ((3aR,5R,6R,7R,7aR)-7-((tert-
- 20 butyldimethylsilyl)oxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-6-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a white crystalline solid (136 g, 71%). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6.15 (d, $J = 6.2$ Hz, 1H), 4.29 (s, br. 1H), 4.06-4.05 (m, 1H), 3.81-3.75 (m, 2H), 3.71-3.68 (m, 1H), 3.47-3.43 (m, 1H), 3.36 (s, 3H), 1.54 (s, 9H), 0.915 (s, 9H), 0.893 (s, 9H), 0.161 (s, 3H), 0.149 (s, 3H), 0.068 (s, 6H).
- 25 [00223] At 0°C , to a solution of the above material (94.30 g, 167.5 mmol) and DMAP (0.50 g, 4.1 mmol) in pyridine (350 mL) was added BzCl (28.3 g, 201 mmol). The mixture was stirred at room temperature overnight, another portion of BzCl (6.90 g, 49.1 mmol) was added and the mixture was stirred at room temperature for another 3 h. MeOH (20 mL) was added and the mixture was stirred for another 30 min. The mixture was diluted with brine (1
- 30 L) and extracted with mixed EtOAc /hexanes three times (1:4; 600 mL, 200 mL and 100 mL).

- The combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the combined residue of all three batches was treated with 1.5 M HCl in MeOH (1.0 L) at room temperature for 16 h. The solvent was then removed at room temperature under reduced pressure to afford a white solid. To the white solid in DCM (1.6 h) was added DIPEA (100 mL) and Boc₂O (109 g, 500 mmol) in sequence. The mixture was then stirred at room temperature for 4 days. The reaction mixture was washed with satd. aqueous NH₄Cl (1 L) and brine (1 L), and dried over anhydrous Na₂SO₄. (The combined aqueous washing was basified to pH = ~9 with satd. aqueous Na₂CO₃ solution and extracted with DCM (5 × 150 mL). The combined DCM extracts were dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solution was treated with Boc₂O (30 g) for 5 h. After washed with satd. aqueous NH₄Cl (1 L) and brine (1 L), and dried over anhydrous Na₂SO₄.). All DCM extracts were combined. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:4 to 3:2) to afford (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-((tert-butoxycarbonyl)(methyl)amino)-7-hydroxy-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-yl benzoate as a white solid (56.5 g, 77%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.00-7.98 (m, 2H), 7.59-7.54 (m, 1H), 7.44-7.40 (m, 2H), 6.20 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.15-5.12 (m, 1H), 4.55-4.50 (m, 1H), 4.41-4.39 (m, 1H), 3.80-3.76 (m, 1H), 3.70-3.66 (m, 1H), 3.49 (s, br., 1H), 3.34 (s, 3H), 1.56 (s, 9H).
- [00224] To a solution of the above material (500 mg, 1.1 mmol) in DCM (15 mL) was added DAST (1.1 g, 6.8 mmol) at -78 °C under nitrogen atmosphere. After stirred overnight at room temperature, the reaction mixture was quenched with satd. aqueous NaHCO₃ (30 mL) solution, extracted with DCM (3x15 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and condensed to give a residue, which was purified by a silica gel column, eluted with 10%-30% EtOAc in petroleum ether to afford (3aR,5S,6R,7R,7aR)-2-(tert-butoxycarbonyl(methyl)amino)-7-fluoro-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-yl benzoate (370 mg, 73%) as light yellow oil. (ES, *m/z*): [M+H]⁺ 443.0; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.02-8.01 (m, 2H), 7.64-7.62 (m, 1H), 7.59-7.44 (m, 2H), 6.19 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 5.44-5.26 (m, 2H), 4.62-4.60 (m, 2H), 4.58-4.46 (m, 1H), 3.90-3.80 (m, 1H), 3.39 (s, 3H), 1.58 (s, 9H).
- [00225] A solution of the above material (170 mg, 0.4 mmol) in THF (10 mL) was treated with MeMgCl (3 mmol, 1 mL, 3 M in THF) for 1 h at room temperature. The reaction mixture was quenched with satd. aqueous NH₄Cl (30 mL) solution, extracted with EtOAc (3x20 mL), washed with brine (10 mL), dried over anhydrous Na₂SO₄, and condensed to give a residue,

which was purified by a silica gel column, eluted with 2%-5% MeOH in DCM to afford (3aR,5S,6R,7R,7aR)-7-fluoro-5-(fluoromethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol as a white solid (35 mg, 38 %). (ES, m/z): $[M+H]^+$ 239.0; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6.27 (d, $J = 6.3$ Hz, 1H), 5.14 (td, $J = 45.6$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 4.70-4.44 (m, 3H), 3.90-3.79 (m, 1H), 3.73-3.61 (m, 1H), 2.95 (s, 3H).

Example 32

(3aR,5S,6R,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-7-fluoro-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol



[00226] To a suspension of (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(methylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol (8.50 g, 37.0 mmol) in DMF (60 mL) was added DIPEA (2.0 mL), Boc_2O (23.0 g, 105 mmol) and MeOH (2.0 mL). The mixture was stirred at room temperature for 3 h, and then MeOH (50 mL) was added. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure at $\sim 35^\circ\text{C}$. The residue was purified on silica gel by flash column chromatography (MeOH/DCM, 1:8), followed by re-crystallization from EtOAc/hexanes, to afford tert-butyl ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6,7-dihydroxy-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a white solid (11.8 g, 96%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.14 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 4.20 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 4.11 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 3.85-3.70 (m, 2H), 3.63-3.55 (m, 1H), 3.31 (s, 3H), 1.53 (s, 9H).

[00227] To a solution of the above material (11.7 g, 35.1 mmol), DIPEA (10.3 g, 80.0 mmol) and DMAP (0.040 g, 0.33 mmol) in DCM (180 mL), at 0°C , was added BzCl (10.1 g, 72.0 mmol) slowly. After addition the mixture was stirred at room temperature for 5 h. Satd. aqueous NH_4Cl solution (100 mL) was added, and the organic layer was collected. The aqueous layer was further extracted with DCM (3×50 mL). The combined extract was dried over anhydrous Na_2SO_4 . After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was separated on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:4 to 1:1), affording ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6-(benzoyloxy)-2-((tert-butoxycarbonyl)(methyl)amino)-7-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-5-

yl)methyl benzoate as a white solid (4.20 g, 22%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.01-7.99 (m, 4H), 7.60-7.55 (m, 1H), 7.54-7.50 (m, 1H), 7.45-7.41 (m, 2H), 7.37-7.35 (m, 2H), 6.21 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 5.23-5.20 (m, 1H), 4.55-4.51 (m, 2H), 4.48-4.42 (m, 2H), 4.15-4.07 (m, 2H), 3.36 (s, 3H), 1.56 (s, 9H).

- 5 [00228] To a solution of the above material (7.91 g, 14.6 mmol) in anhydrous DCM (100 mL) at -78°C under N₂, was added DAST (11.8 g, 73.0 mmol). After addition the mixture was stirred at room temperature for 72 h. The reaction mixture was then cooled at -78°C, diluted with DCM (100 mL), and then quenched with satd. aqueous NaHCO₃ (150 mL). The organic layer was collected, and the aqueous was extracted with DCM (2 × 100 mL). The combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:10 to 1:4), affording ((3aR,5R,6R,7R,7aR)-6-(benzoyloxy)-2-((tert-butoxycarbonyl)(methyl)amino)-7-fluoro-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-5-yl)methyl benzoate as a white solid (6.10 g, 77%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.01-7.98 (m, 4H), 7.60-7.56 (m, 1H), 7.56-7.52 (m, 1H), 7.45-7.41 (m, 2H), 7.38-7.35 (m, 2H), 6.19 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 5.52-5.46 (m, 1H), 5.40-5.28 (m, 1H), 4.61-4.56 (m, 1H), 4.52 (dd, *J* = 3.6, 12.0 Hz, 1H), 4.43 (dd, *J* = 5.7, 12.0 Hz, 1H), 4.03-3.99 (m, 1H), 3.36 (s, 3H), 1.56 (s, 9H).

- 20 [00229] A mixture of the above material (6.10 g, 11.2 mmol) and K₂CO₃ (1.00 g, 7.25 mmol) in anhydrous MeOH (50 mL) was stirred at room temperature for 3 h. Dry ice was added, and the solvent was removed under reduced pressure. The residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:1 to 10:1), affording tert-butyl ((3aR,5R,6R,7R,7aR)-7-fluoro-6-hydroxy-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a white solid (3.25 g, 86%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.06 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 5.15 (ddd, *J* = 2.4, 4.4, 45.7 Hz, 1H), 4.46-4.41 (m, 1H), 3.96-3.89 (m, 1H), 3.83 (dd, *J* = 3.2, 11.8 Hz, 1H), 3.73 (dd, *J* = 5.4, 11.8 Hz, 1H), 3.46-3.42 (m, 1H), 3.32 (s, 3H), 1.54 (s, 9H).

- 30 [00230] At 0°C, to a solution of the above material (0.880 g, 2.61 mmol) and imidazole (0.354 g, 5.20 mmol) in anhydrous DMF (15 mL) was added TBDMSCl (0.452 g, 3.00 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 72 h and diluted with Et₂O (100 mL) and brine (100 mL). The organic layer was collected, and the aqueous was extracted with Et₂O (50 mL). The combined extract was washed with water (50 mL) and dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and

the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:10 to 1:3), affording tert-butyl ((3aR,5R,6R,7R,7aR)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-7-fluoro-6-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a white foam (1.10 g, 93%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.06 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 5.19-5.02 (m, 1H), 4.43-4.38 (m, 1H), 3.98-3.93 (m, 1H), 3.85 (dd, *J* = 5.0, 10.6 Hz, 1H), 3.73 (dd, *J* = 5.2, 10.6 Hz, 1H), 3.45-3.43 (m, 1H), 3.34 (s, 3H), 1.54 (s, 9H), 0.89 (s, 9H), 0.08 (s, 6H).

[00231] At 0°C, to a solution of the above material (1.06 g, 2.35 mmol) and Bu₄NI (0.087 g, 0.24 mmol) in anhydrous DMF (15 mL) was added NaH (60% in mineral oil, 0.118 g, 2.94 mmol). After addition of NaH, to the reaction mixture was added BnBr (0.703 g, 4.11 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 16 h and diluted with Et₂O (60 mL) and satd. NH₄Cl (50 mL). The organic layer was collected, and the aqueous was extracted with Et₂O (2 × 30 mL). The combined extract was washed with brine (40 mL) and dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:10 to 1:4), affording tert-butyl ((3aR,5R,6R,7R,7aR)-6-(benzyloxy)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-7-fluoro-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a sticky oil (1.22 g, 96%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37-7.27 (m, 5H), 6.10 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.30-5.16 (m, 1H), 4.80 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H), 4.55 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H), 4.48-4.42 (m, 1H), 3.88-3.80 (m, 1H), 3.78-3.69 (m, 2H), 3.46-3.44 (m, 1H), 3.31 (s, 3H), 1.53 (s, 9H), 0.89 (s, 9H), 0.04 (s, 6H).

[00232] At 0°C, to a solution of the above material (1.22 g, 2.25 mmol) in THF (15 mL) was added TBAF (1.0 M in THF, 5.0 mL, 5.0 mmol). After addition the reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h and diluted with EtOAc (20 mL) and brine (50 mL). The organic layer was collected, and the aqueous was extracted with EtOAc (2 × 50 mL). The combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:5 to 1:2), affording tert-butyl ((3aR,5R,6R,7R,7aR)-6-(benzyloxy)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a white solid (0.96 g, 100%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37-7.29 (m, 5H), 6.09 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 5.32 (ddd, *J* = 1.8, 3.6, 45.4 Hz, 1H), 4.80 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.55 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.53-4.48 (m, 1H), 3.81-3.72 (m, 2H), 3.61-3.55 (m, 1H), 3.49-3.45 (m, 1H), 3.31 (s, 3H), 1.53 (s, 9H).

[00233] To a solution of the above material (1.50 g, 3.52 mmol) in DCM (40 mL) was added DMP (2.20 g, 5.20 mmol). After stirred at room temperature for 1 h the reaction mixture was diluted with Et₂O (20 mL), and then concentrated to dryness. Satd. aqueous NaHCO₃ (30 mL) with Na₂S₂O₃ (2 g) was added, and the mixture was extracted with EtOAc (2 × 50 mL).

5 The combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:5 to 1:2), affording tert-butyl ((3aR,5S,6R,7R,7aR)-6-(benzyloxy)-7-fluoro-5-formyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a white solid (1.02 g, 68%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.60 (s, 1H), 7.35-7.29 (m, 5H), 6.12 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.39-5.27 (m, 1H), 4.78 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 4.66 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 4.57-4.51 (m, 1H), 4.00-3.95 (m, 2H), 3.31 (s, 3H), 1.53 (s, 9H).

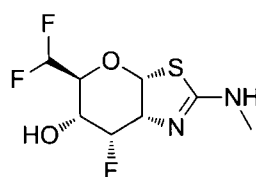
[00234] To a solution of the above material (0.156 g, 0.367 mmol) in anhydrous DCM (6 mL) at -78°C under N₂, was added DAST (0.354 g, 2.20 mmol). After addition the mixture was stirred at room temperature for 16 h. The reaction mixture was then cooled at -78°C, diluted with DCM (10 mL), and then quenched with satd. aqueous NaHCO₃ (10 mL). The organic layer was collected, and the aqueous was extracted with DCM (2 × 15 mL). The combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:10 to 1:4), affording tert-butyl ((3aR,5S,6R,7R,7aR)-6-(benzyloxy)-5-(difluoromethyl)-7-fluoro-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a pale yellow oil (0.125 g, 76%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.38-7.29 (m, 5H), 6.11 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 5.79 (dt, *J* = 2.4, 54.4 Hz, 1H), 5.37-5.25 (m, 1H), 4.78 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H), 4.59 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H), 4.58-4.53 (m, 1H), 4.00-3.92 (m, 1H), 3.72-3.63 (m, 1H), 3.29 (s, 3H), 1.53 (s, 9H).

[00235] To a solution of the above material (0.240 g, 0.537 mmol) and pentamethylbenzene (0.26 g, 1.7 mmol) in anhydrous DCM (10 mL) at -78°C under N₂, was added BCl₃ (1.0 M in DCM, 1.6 mL, 1.6 mmol). The mixture was stirred at room temperature for ~3 h while the temperature of the cooling trap reached at 0°C. The reaction mixture was cooled at -78°C, quenched with mixed MeOH/DCM, and then concentrated to dryness. The residue was purified on silica gel by flash column chromatography (1.0 M NH₃ in MeOH/DCM, 1: 15), affording (3aR,5S,6R,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-7-fluoro-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol as an off-white solid (0.104 g, 76%). ¹H NMR

(400 MHz, CD₃OD) δ 6.30 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 5.96 (dt, J = 2.4, 54.1 Hz, 1H), 4.89 (td, J = 3.9, 46.5 Hz, 1H), 4.48-4.42 (m, 1H), 4.02-3.94 (m, 1H), 3.72-3.63 (m, 1H), 2.85 (s, 3H); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 164.08 (d, J = 2.3 Hz), 115.63 (dt, J = 7.9, 241.6 Hz), 94.73 (d, J = 177.6 Hz), 89.90 (d, J = 2.0 Hz), 74.04 (d, J = 26.1 Hz), 72.92 (dt, J = 3.9, 21.3 Hz), 67.87 (td, J = 3.8, 25.0 Hz), 30.74; MS, m/z = 257.0 ($M + 1$).

Example 33

(3aR,5S,6R,7S,7aR)-5-(difluoromethyl)-7-fluoro-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol



[00236] At 0°C, to a solution of tert-butyl ((3aR,5R,6R,7R,7aR)-7-fluoro-6-hydroxy-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate (18.7 g, 55.5 mmol) and imidazole (11.4 g, 167 mmol) in anhydrous DMF (150 mL) was added TBDMSCl (9.19 g, 61.0 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 16 h, diluted with Et₂O (300 mL) and washed with brine (2 × 300 mL). The organic layer was collected, and the aqueous was extracted with Et₂O (2 × 150 mL). The combined extract was washed with brine (100 mL) and dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:10 to 1:3), affording tert-butyl ((3aR,5R,6R,7R,7aR)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-7-fluoro-6-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a white foam (24.1 g, 96%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.06 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 5.19-5.02 (m, 1H), 4.43-4.38 (m, 1H), 3.98-3.93 (m, 1H), 3.85 (dd, J = 5.0, 10.6 Hz, 1H), 3.73 (dd, J = 5.2, 10.6 Hz, 1H), 3.45-3.43 (m, 1H), 3.34 (s, 3H), 1.54 (s, 9H), 0.89 (s, 9H), 0.08 (s, 6H).

[00237] To a solution of the above material (9.28 g, 20.6 mmol) in DCM (150 mL) was added DMP (13.1 g, 30.9 mmol). After stirred at room temperature for 1 h the reaction was diluted with Et₂O (400 mL). The resulting suspension was filtered through Celite cake, and the filtrate was concentrated to dryness at room temperature. The residue was loaded onto a layered NaHCO₃/silica gel plug, and the product was eluted with (EtOAc/hexanes, 1:4), affording tert-butyl ((3aR,5R,7R,7aR)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-7-fluoro-6-

oxo-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a white crystalline solid (8.96 g, 97%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.29 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.09 (dd, *J* = 4.7, 48.4 Hz, 1H), 4.75-4.69 (m, 1H), 4.12-4.05 (m, 2H), 3.96-3.93 (m, 1H), 3.28 (s, 3H), 1.54 (s, 9H), 0.86 (s, 9H), 0.056 (s, 3H), 0.050 (s, 3H).

- 5 [00238] To a solution of the above material (8.96 g, 20.0 mmol) in dry MeOH (250 mL) was added NaH (60% in mineral oil, 0.158 g, 3.95 mmol), and the mixture was stirred at room temperature for 15 min. The reaction mixture was then cooled at 0°C, and NaBH₄ (1.32 g, 34.9 mmol) was added. After the mixture was stirred at 0°C for 20 min a chip of dry ice was added and the solvent was evaporated. The above residue was dissolved in DCM (100 mL),
10 and washed with satd. aqueous NH₄Cl (100 mL). The organic layer was collected, and the aqueous was extracted with DCM (2 × 50 mL). The combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:10 to 2:5), affording tert-butyl ((3aR,5R,6R,7S,7aR)-5-(((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-7-
15 fluoro-6-hydroxy-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a white foam (6.84 g, 76% over 2 steps). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.06 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 5.01 (td, *J* = 4.3, 46.8 Hz, 1H), 4.49-4.44 (m, 1H), 4.17-4.13 (m, 1H), 3.80-3.79 (m, 2H), 3.66-3.63 (m, 1H), 3.38 (s, 3H), 2.72 (s, br., 1H, (OH)), 1.54 (s, 9H), 0.89 (s, 9H), 0.062 (s, 3H), 0.057 (s, 3H).
- 20 [00239] At 0°C, to a solution of the above material (1.30 g, 2.89 mmol) and Bu₄NI (0.107 g, 0.290 mmol) in anhydrous DMF (12 mL) was added NaH (60% in mineral oil, 0.145 g, 3.63 mmol). After addition of NaH, BnBr (0.989 g, 5.78 mmol) was added. After stirred at 0°C for 30 min and then at room temperature overnight the mixture was diluted with Et₂O (100 mL). The mixture was washed with satd. aqueous NH₄Cl (2 × 50 mL). The aqueous was
25 extracted with Et₂O (2 × 40 mL). The combined extract was washed with brine (50 mL) and dried over anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:20 to 1:4), affording tert-butyl ((3aR,5R,6R,7S,7aR)-6-(benzyloxy)-5-
30 (((tert-butyldimethylsilyl)oxy)methyl)-7-fluoro-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a sticky oil (1.44 g, 92%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.36-7.27 (m, 5H), 6.21 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 5.30-5.16 (m, 1H), 4.80 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 4.56 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 4.50-4.42 (m, 1H), 3.95-3.78 (m, 4H), 3.44 (s, 3H), 1.54 (s, 9H), 0.89 (s, 9H), 0.049 (s, 6H).

[00240] At 0°C, to a solution of the above material (1.44 g, 2.66 mmol) in THF (25 mL) was added TBAF (1.0 M in THF, 3.5 mL, 3.5 mmol). After addition the reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h and diluted with brine (50 mL). The mixture was extracted with EtOAc (2 × 40 mL). The combined extract was dried over anhydrous Na₂SO₄.

5 After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:2 to 1:1), affording tert-butyl ((3aR,5R,6R,7S,7aR)-6-(benzyloxy)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a white solid (1.08 g, 95%).
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.37-7.27 (m, 5H), 6.18 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.17-5.04 (m, 1H), 4.84 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.55 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.50-4.43 (m, 1H), 3.95-3.91 (m, 1H), 3.88 3.82 (m, 1H), 3.79-3.75 (m, 1H), 3.71-3.67 (m, 1H), 3.37 (s, 3H), 1.53 (s, 9H).

[00241] To a solution of the above material (2.57 g, 6.03 mmol) in DCM (60 mL) at 0°C was added DMP (3.82 g, 9.00 mmol). After stirred at room temperature for 1 h the reaction mixture was diluted with Et₂O (100 mL). The resulting suspension was filtered through a
15 Celite cake, and the filtrate was concentrated to dryness at room temperature. The residue was extracted with EtOAc (3 × 50 mL), and the solid was filtered off. The extract was washed mixed satd. aqueous NaHCO₃ (30 mL) and Na₂S₂O₃ (5 mL). The extract was collected and dried over anhydrous MgSO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure to give the crude aldehyde tert-butyl ((3aR,5S,6R,7S,7aR)-6-(benzyloxy)-7-fluoro-5-formyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate. This
20 crude material was used in the next step without further purification. ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 9.65 (s, 1H), 7.39-7.29 (m, 5H), 6.04 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 5.08 (td, *J* = 4.2, 46.7 Hz, 1H), 4.84 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 4.64 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 4.55-4.49 (m, 1H), 4.31 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 4.19-4.15 (m, 1H), 3.30 (s, 3H), 1.52 (s, 9H.)

25 [00242] To a solution of the above material (0.19 g, ~80% pure, ~0.36 mmol) in anhydrous DCM (6 mL) at -78°C under N₂, was added DAST (0.37 g, 2.3 mmol). After addition the mixture was stirred at room temperature for 24 h. The reaction mixture was then cooled at -78°C, and quenched with satd. aqueous NaHCO₃ (10 mL). The organic layer was collected, and the aqueous was extracted with DCM (2 × 10 mL). The combined extract was dried over
30 anhydrous Na₂SO₄. After filtration the solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was purified on silica gel by flash column chromatography (EtOAc/hexanes, 1:20 to 1:4), affording tert-butyl ((3aR,5S,6R,7S,7aR)-6-(benzyloxy)-5-(difluoromethyl)-7-fluoro-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-2-yl)(methyl)carbamate as a white foam (0.097

g, 60%). ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7.37-7.28 (m, 5H), 6.12 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 5.85 (dt, $J = 1.6, 54.5$ Hz, 1H), 5.11 (td, $J = 4.0, 47.3$ Hz, 1H), 4.83 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 4.57 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H), 4.55-4.50 (m, 1H), 4.12-4.04 (m, 2H), 3.28 (s, 3H), 1.52 (s, 9H).

[00243] To a solution of the above material (0.097 g, 0.22 mmol) and pentamethylbenzene (0.050 g, 0.34 mmol) in anhydrous DCM (3 mL) at -78°C under N_2 , was added BCl_3 (1.0 M in DCM, 1.0 mL, 1.0 mmol). The mixture was stirred at room temperature for ~ 5 h while the temperature of the cooling trap reached room temperature. The reaction mixture was cooled at -78°C , quenched with mixed MeOH/DCM, and then concentrated to dryness. The residue was purified on silica gel by flash column chromatography (1.0 M NH_3 in MeOH/ CH_2Cl_2 , 1:12), affording (3aR,5S,6R,7S,7aR)-5-(difluoromethyl)-7-fluoro-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol as a white solid (0.041 g, 72%). ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 6.37 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 6.04 (dt, $J = 1.5, 54.0$ Hz, 1H), 4.86 (td, $J = 3.3, 50.9$ Hz, 1H), 4.39 (ddd, $J = 3.8, 6.6, 20.9$ Hz, 1H), 4.05-3.95 (m, 2H), 2.86 (s, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 165.00, 115.89 (t, $J = 242.6$ Hz), 90.65 (d, $J = 185.7$ Hz), 90.25 (d, $J = 3.5$ Hz), 72.22-71.71 (m), 71.71 (d, $J = 16.1$ Hz), 66.22-65.97 (m), 30.48; MS, $m/z = 257.1$ ($M + 1$).

[00244] The following examples may be synthesized according to procedures analogous to the schemes and examples outlined above.

Table 6

Example	Structure	Name
34		(3aR,5R,6R,7S,7aR)-2-(ethylamino)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol
35		(3aR,5R,6R,7S,7aR)-2-(dimethylamino)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol
36		(3aR,5R,6R,7S,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol
37		(3aR,5R,6R,7S,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(isobutylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol

Example	Structure	Name
38		(3aR,5S,6R,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-7-fluoro-2-(((E)-3-fluoro-2-methylallyl)amino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol
39		(3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(fluoromethyl)-2-((4-hydroxybut-2-yn-1-yl)amino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol
40		(3aR,5S,6S,7aR)-2-((2,2-difluoroethoxy)(methyl)amino)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol
41		(3aR,5S,6R,7S,7aR)-7-fluoro-2-(3-fluoroazetidin-1-yl)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol
42		(3aR,5R,6S,7S,7aR)-2-(3,3-difluoroazetidin-1-yl)-7-fluoro-5-methyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol

Biological Activity

Assay for determination of K_i values for inhibition of O-GlcNAcase activity

- 5 [00245] Experimental procedure for kinetic analyses: Enzymatic reactions were carried out in a reaction containing 50 mM NaH_2PO_4 , 100 mM NaCl and 0.1% BSA (pH 7.0) using 2 mM 4-Methylumbelliferyl N-acetyl- β -D-glucosaminide dihydrate (Sigma M2133) dissolved in ddH₂O, as a substrate. The amount of purified human O-GlcNAcase enzyme used in the reaction was 0.7 nM. Test compound of varying concentrations was added to the enzyme
- 10 prior to initiation of the reaction. The reaction was performed at room temperature in a 96-well plate and was initiated with the addition of substrate. The production of fluorescent product was measured every 60 sec for 45 min with a Tecan Infinite M200 plate-reader with excitation at 355 nM and emission detected at 460 nM, with 4-Methylumbelliferone (Sigma M1381) used to produce a standard curve. The slope of product production was determined
- 15 for each concentration of compound tested and plotted, using standard curve fitting algorithms for sigmoidal dose response curves. The values for a four parameter logistic curve fit of the data were determined.

[00246] K_i values were determined using the Cheng-Prusoff equation; the K_m of O-GlcNAcase for substrate was 0.2 mM.

[00247] Examples 1 to 33 were tested in the above described assay and exhibited K_i values for inhibition of O-GlcNAcase in the range 0.1 nM-10 μ M.

5

Assay for determination of K_i values for inhibition of β -hexosaminidase activity

[00248] Experimental procedure for kinetic analyses: Enzymatic reactions were carried out in a reaction containing 50 mM NaH_2PO_4 , 100 mM NaCl and 0.1% BSA (pH 7.0) using 2 mM 4-Methylumbelliferyl N-acetyl- β -D-glucosaminide dihydrate (Sigma M2133) dissolved in ddH_2O , as a substrate. The amount of purified human β -hexosaminidase enzyme used in the reaction was 24 nM. Test compound of varying concentrations was added to the enzyme prior to initiation of the reaction. The reaction was performed at room temperature in a 96-well plate and was initiated with the addition of substrate. The production of fluorescent product was measured every 60 sec for 45 min with a Tecan Infinite M200 plate-reader with excitation at 355 nM and emission detected at 460 nM, with 4-Methylumbelliferone (Sigma M1381) used to produce a standard curve. The slope of product production was determined for each concentration of compound tested and plotted, using standard curve fitting algorithms for sigmoidal dose response curves. The values for a four parameter logistic curve fit of the data were determined.

20 [00249] K_i values were determined using the Cheng-Prusoff equation.

[00250] When tested in this assay, many of the compounds described herein exhibit K_i values for inhibition of β -hexosaminidase in the range 10 nM to greater than 100 μ M.

[00251] The selectivity ratio for inhibition of O-GlcNAcase over β -hexosaminidase is defined here as:

25
$$K_i (\beta\text{-hexosaminidase})/K_i (\text{O-GlcNAcase})$$

[00252] In general, the compounds described herein exhibited a selectivity ratio in the range of about 10 to 100000. Thus, many compounds of the invention exhibit high selectivity for inhibition of O-GlcNAcase over β -hexosaminidase.

30

Assay for determination of cellular activity for compounds that inhibit O-GlcNAcase activity

[00253] Inhibition of O-GlcNAcase, which removes O-GlcNAc from cellular proteins, results in an increase in the level of O-GlcNAcylated protein in cells. An increase in O-GlcNAcylated protein can be measured by an antibody, such as RL-2, that binds to O-GlcNAcylated protein. The amount of O-GlcNAcylated protein:RL2 antibody interaction can be measured by enzyme linked immunosorbant assay (ELISA) procedures.

[00254] A variety of tissue culture cell lines, expressing endogenous levels of O-GlcNAcase, can be utilized; examples include rat PC-12, and human U-87, or SK-N-SH cells. In this assay, rat PC-12 cells were plated in 96-well plates with approximately 10,000 cells / well.

10 Compounds to be tested were dissolved in DMSO, either 2 or 10 mM stock solution, and then diluted with DMSO and water in a two-step process using a Tecan workstation. Cells were treated with diluted compounds for 24 h (5.4 μ L into 200 μ L 1 well volume) to reach a final concentration of inhibitor desired to measure a compound concentration dependent response, typically, ten 3 fold dilution steps, starting at 10 μ M were used to determine a concentration response curve. To prepare a cell lysate, the media from compound treated cells was removed, the cells were washed once with phosphate buffered saline (PBS) and then lysed for 5 minutes at room temperature in 50 μ L of Phosphosafe reagent (Novagen Inc, Madison, WI) with protease inhibitors and PMSF. The cell lysate was collected and transferred to a new plate, which was then either coated to assay plates directly or frozen -80°C until used in the ELISA procedure. If desired, the total protein concentration of samples was determined using 20 μ L of the sample using the BCA method.

[00255] The ELISA portion of the assay was performed in a black Maxisorp 96-well plate that was coated overnight at 4°C with 100 μ L /well of the cell lysate (1:10 dilution of the lysate with PBS containing protease inhibitors, phosphatase inhibitors, and PMSF). The following day the wells were washed 3 times with 300 μ L /well of Wash buffer (Tris-buffered saline with 0.1% Tween 20). The wells were blocked with 100 μ L /well Blocking buffer (Tris buffered saline w/0.05% Tween 20 and 2.5% Bovine serum albumin). Each well was then washed two times with 300 μ L/well of wash buffer. The anti O-GlcNAc antibody RL-2 (Abcam, Cambridge, MA), diluted 1:1000 in blocking buffer, was added at 100 μ L/well. The plate was sealed and incubated at 37°C for 2 h with gentle shaking. The wells were then washed 3-times with 300 μ L/well wash buffer. To detect the amount of RL-2 bound horse-radish peroxidase (HRP) conjugated goat anti-mouse secondary antibody (diluted 1:3000 in blocking buffer) was added at 100 μ L /well. The plate was incubated for

60 min at 37°C with gentle shaking. Each well was then washed 3-times with 300 µL/well wash buffer. The detection reagent was added, 100 µL /well of Amplex Ultra RED reagent (prepared by adding 30 µL of 10 mM Amplex Ultra Red stock solution to 10 mL PBS with 18 µL 3% hydrogen peroxide, H₂O₂). The detection reaction was incubated for 15 minutes at
 5 room temperature and then read with excitation at 530 nm and emission at 590 nm.

[00256] The amount of O-GlcNAcylated protein, as detected by the ELISA assay, was plotted for each concentration of test compound using standard curve fitting algorithms for sigmoidal dose response curves. The values for a four parameter logistic curve fit of the data were determined, with the inflection point of the curve being the potency value for the test
 10 compound.

Assay for determination of apparent permeability (P_{app})

[00257] Bi-directional transport was evaluated in LLC-PK1 cells in order to determine apparent permeability (P_{app}). LLC-PK1 cells can form a tight monolayer and therefore can be
 15 used to assess vectorial transport of compounds from basolateral to apical (B→A) and from apical to basolateral (A → B).

[00258] To determine P_{app}, LLC-PK1 cells were cultured in 96-well transwell culture plates (Millipore). Solutions containing the test compounds (1 µM) were prepared in Hank's Balanced Salt Solution with 10 mM HEPES. Substrate solution (150 µL) was added to either
 20 the apical (A) or the basolateral (B) compartment of the culture plate, and buffer (150 µL) was added to the compartment opposite to that containing the compound. At t = 3 h, 50 µL samples were removed from both sides of monolayers dosed with test compound and placed in 96 well plates, scintillant (200 µL) or internal standard (100 µL labetolol 1µM) was added to the samples and concentration was determined by liquid scintillation counting in a
 25 MicroBeta Wallac Trilux scintillation counter (Perkin Elmer Life Sciences, Boston, MA) or by LCMS/MS (Applied Biosystems SCIEX API 5000 triple quadruple mass spectrometer). [3H]Verapamil (1 µM) was used as the positive control. The experiment was performed in triplicate.

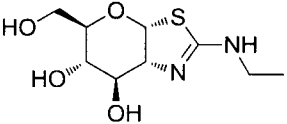
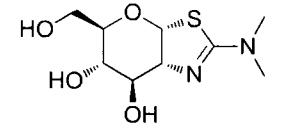
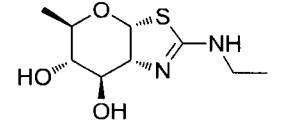
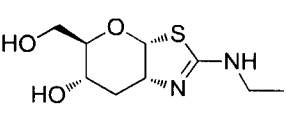
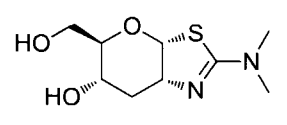
[00259] The apparent permeability, P_{app}, was calculated by the following formula for
 30 samples taken at t = 3 h:

$$P_{app} = \frac{\text{Volume of Receptor Chamber (mL)}}{[\text{Area of membrane (cm}^2\text{)}][\text{Initial Concentration (}\mu\text{M)}]} \times \frac{\Delta \text{ in Concentration (}\mu\text{M)}}{\Delta \text{ in Time (s)}}$$

Where: Volume of Receptor Chamber was 0.15 mL; Area of membrane was 0.11 cm²; the Initial Concentration is the sum of the concentration measured in the donor plus concentration measured in receiver compartments at t = 3 h; Δ in Concentration is concentration in the receiver compartment at 3 h; and Δ in Time is the incubation time (3 x 60 x 60 = 10800 s). P_{app} was expressed as 10⁻⁶ cm/s. The P_{app} (LLC-PK1 cells) are the average of the P_{app} for transport from A to B and P_{app} for transport from B to A at t = 3 h:

$$P_{app}(\text{LLC} - \text{PK1 Cells}) = \frac{P_{app}(A \rightarrow B) + P_{app}(B \rightarrow A)}{2}$$

Representative data from the binding, cell-based, and permeability assays described above are shown in the following table. Certain compounds of the invention exhibited superior potency or permeability in one or more of these assays as compared to compounds disclosed in WO 2006/092049 and WO 2008/025170. For comparison, the first two table entries show data for compounds (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(ethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol and (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol, disclosed in WO 2008/025170.

Example	Structure	Cell-based ELISA EC ₅₀ (nM)	Fluorescence- based hOGA Ki (nM)	Papp LLC-PK1 cells (10 ⁻⁶ cm/s)
N/A		13	0.4	< 1.0
N/A		10	0.3	< 1.0
1		ND	70	ND
2		365	44	3.8
4		358	13	ND

Example	Structure	Cell-based ELISA EC ₅₀ (nM)	Fluorescence- based hOGA Ki (nM)	Papp LLC-PK1 cells (10 ⁻⁶ cm/s)
9		307	1.3	ND
17		34	0.5	7.1
19		53	5.7	6.0
20		6.0	1.4	13.7
27		ND	28	24.0
29		ND	164	ND
33		ND	13	20.1

[00260] The present invention has been described with regard to one or more embodiments. However, it will be apparent to persons skilled in the art that a number of variations and modifications can be made without departing from the scope of the invention as defined in the claims.

REFERENCES

1. C. R. Torres, G. W. Hart, *J Biol Chem* **1984**, 259, 3308.
2. R. S. Haltiwanger, G. D. Holt, G. W. Hart, *J Biol Chem* **1990**, 265, 2563.
- 5 3. L. K. Kreppel, M. A. Blomberg, G. W. Hart, *J Biol Chem* **1997**, 272, 9308.
4. W. A. Lubas, D. W. Frank, M. Krause, J. A. Hanover, *J Biol Chem* **1997**, 272, 9316.
5. W. A. Lubas, J. A. Hanover, *J Biol Chem* **2000**, 275, 10983.
6. D. L. Dong, G. W. Hart, *J Biol Chem* **1994**, 269, 19321.
7. Y. Gao, L. Wells, F. I. Comer, G. J. Parker, G. W. Hart, *J Biol Chem* **2001**, 276, 9838.
- 10 8. E. P. Roquemoire, M. R. Chevrier, R. J. Cotter, G. W. Hart, *Biochemistry* **1996**, 35, 3578.
9. S. P. Jackson, R. Tjian, *Cell* **1988**, 55, 125.
10. W. G. Kelly, M. E. Dahmus, G. W. Hart, *J Biol Chem* **1993**, 268, 10416.
11. M. D. Roos, K. Su, J. R. Baker, J. E. Kudlow, *Mol Cell Biol* **1997**, 17, 6472.
- 15 12. N. Lamarre-Vincent, L. C. Hsieh-Wilson, *J Am Chem Soc* **2003**, 125, 6612.
13. F. Zhang, K. Su, X. Yang, D. B. Bowe, A. J. Paterson, J. E. Kudlow, *Cell* **2003**, 115, 715.
14. K. Vosseller, L. Wells, M. D. Lane, G. W. Hart, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2002**, 99, 5313.
- 20 15. W. A. Lubas, M. Smith, C. M. Starr, J. A. Hanover, *Biochemistry* **1995**, 34, 1686.
16. L. S. Griffith, B. Schmitz, *Biochem Biophys Res Commun* **1995**, 213, 424.
17. R. N. Cole, G. W. Hart, *J Neurochem* **1999**, 73, 418.
18. I. Braidman, M. Carroll, N. Dance, D. Robinson, *Biochem J* **1974**, 143, 295.
19. R. Ueno, C. S. Yuan, *Biochim Biophys Acta* **1991**, 1074, 79.
- 25 20. C. Toleman, A. J. Paterson, T. R. Whisenhunt, J. E. Kudlow, *J Biol Chem* **2004**.
21. F. Liu, K. Iqbal, I. Grundke-Iqbal, G. W. Hart, C. X. Gong, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2004**, 101, 10804.
22. T. Y. Chou, G. W. Hart, *Adv Exp Med Biol* **2001**, 491, 413.
23. M. Goedert, M. G. Spillantini, N. J. Cairns, R. A. Crowther, *Neuron* **1992**, 8, 159.
- 30 24. M. Goedert, M. G. Spillantini, R. Jakes, D. Rutherford, R. A. Crowther, *Neuron* **1989**, 3, 519.
25. E. Kopke, Y. C. Tung, S. Shaikh, A. C. Alonso, K. Iqbal, I. Grundke-Iqbal, *J Biol Chem* **1993**, 268, 24374.
26. H. Ksiezak-Reding, W. K. Liu, S. H. Yen, *Brain Res* **1992**, 597, 209.
- 35 27. B. Henrissat, A. Bairoch, *Biochem J* **1996**, 316 (Pt 2), 695.
28. B. Henrissat, A. Bairoch, *Biochem J* **1993**, 293 (Pt 3), 781.
29. C. X. Gong, F. Liu, I. Grundke-Iqbal, K. Iqbal, *J Neural Transm* **2005**, 112, 813.
30. K. Iqbal, C. Alonso Adel, E. El-Akkad, C. X. Gong, N. Haque, S. Khatoon, I. Tsujio, I. Grundke-Iqbal, *J Neural Transm Suppl* **2002**, 309.
- 40 31. K. Iqbal, C. Alonso Adel, E. El-Akkad, C. X. Gong, N. Haque, S. Khatoon, J. J. Pei, H. Tanimukai, I. Tsujio, et al., *J Mol Neurosci* **2003**, 20, 425.
32. W. Noble, E. Planel, C. Zehr, V. Olm, J. Meyerson, F. Suleman, K. Gaynor, L. Wang, J. LaFrancois, et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* **2005**, 102, 6990.
33. S. Le Corre, H. W. Klafki, N. Plesnila, G. Hubinger, A. Obermeier, H. Sahagun, B. Monse, P. Seneci, J. Lewis, et al., *Proc Natl Acad Sci U S A* **2006**, 103, 9673.
- 45 34. S. J. Liu, J. Y. Zhang, H. L. Li, Z. Y. Fang, Q. Wang, H. M. Deng, C. X. Gong, I. Grundke-Iqbal, K. Iqbal, et al., *J Biol Chem* **2004**, 279, 50078.
35. G. Li, H. Yin, J. Kuret, *J Biol Chem* **2004**, 279, 15938.

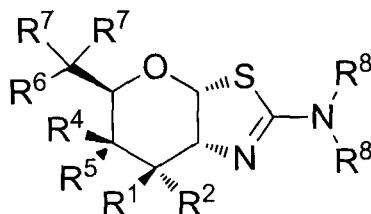
36. T. Y. Chou, G. W. Hart, C. V. Dang, *J Biol Chem* **1995**, 270, 18961.
37. X. Cheng, G. W. Hart, *J Biol Chem* **2001**, 276, 10570.
38. X. Cheng, R. N. Cole, J. Zaia, G. W. Hart, *Biochemistry* **2000**, 39, 11609.
39. L. S. Griffith, B. Schmitz, *Eur J Biochem* **1999**, 262, 824.
- 5 40. K. Kamemura, G. W. Hart, *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* **2003**, 73, 107.
41. L. Wells, L. K. Kreppel, F. I. Comer, B. E. Wadzinski, G. W. Hart, *J Biol Chem* **2004**, 279, 38466.
42. L. Bertram, D. Blacker, K. Mullin, D. Keeney, J. Jones, S. Basu, S. Yhu, M. G. McInnis, R. C. Go, et al., *Science* **2000**, 290, 2302.
- 10 43. S. Hoyer, D. Blum-Degen, H. G. Bernstein, S. Engelsberger, J. Humrich, S. Laufer, D. Muschner, A. Thalheimer, A. Turk, et al., *Journal of Neural Transmission* **1998**, 105, 423.
44. C. X. Gong, F. Liu, I. Grundke-Iqbal, K. Iqbal, *Journal of Alzheimers Disease* **2006**, 9, 1.
- 15 45. W. J. Jagust, J. P. Seab, R. H. Huesman, P. E. Valk, C. A. Mathis, B. R. Reed, P. G. Coxson, T. F. Budinger, *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* **1991**, 11, 323.
46. S. Hoyer, *Experimental Gerontology* **2000**, 35, 1363.
47. S. Hoyer, in *Frontiers in Clinical Neuroscience: Neurodegeneration and Neuroprotection, Vol. 541*, **2004**, pp. 135.
- 20 48. R. N. Kalaria, S. I. Harik, *Journal of Neurochemistry* **1989**, 53, 1083.
49. I. A. Simpson, K. R. Chundu, T. Davieshill, W. G. Honer, P. Davies, *Annals of Neurology* **1994**, 35, 546.
50. S. M. de la Monte, J. R. Wands, *Journal of Alzheimers Disease* **2005**, 7, 45.
- 25 51. X. W. Zhu, G. Perry, M. A. Smith, *Journal of Alzheimers Disease* **2005**, 7, 81.
52. J. C. de la Torre, *Neurological Research* **2004**, 26, 517.
53. S. Marshall, W. T. Garvey, R. R. Traxinger, *Faseb J* **1991**, 5, 3031.
54. S. P. Iyer, Y. Akimoto, G. W. Hart, *J Biol Chem* **2003**, 278, 5399.
55. K. Brickley, M. J. Smith, M. Beck, F. A. Stephenson, *J Biol Chem* **2005**, 280, 14723.
- 30 56. S. Knapp, C. H. Yang, T. Haimowitz, *Tetrahedron Letters* **2002**, 43, 7101.
57. S. P. Iyer, G. W. Hart, *J Biol Chem* **2003**, 278, 24608.
58. M. Jinek, J. Rehwinkel, B. D. Lazarus, E. Izaurrealde, J. A. Hanover, E. Conti, *Nat Struct Mol Biol* **2004**, 11, 1001.
59. K. Kamemura, B. K. Hayes, F. I. Comer, G. W. Hart, *J Biol Chem* **2002**, 277, 19229.
- 35 60. Y. Deng, B. Li, F. Liu, K. Iqbal, I. Grundke-Iqbal, R. Brandt, C.-X. Gong, *FASEB J* **2007**, fj.07.
61. L. F. Lau, J. B. Schachter, P. A. Seymour, M. A. Sanner, *Curr Top Med Chem* **2002**, 2, 395.
62. M. P. Mazanetz, P. M. Fischer, *Nature Reviews Drug Discovery* **2007**, 6, 464.
- 40 63. S. A. Yuzwa, M. S. Macauley, J. E. Heinonen, X. Shan, R. J. Dennis, Y. He, G. E. Whitworth, K. A. Stubbs, E. J. McEachern, et al., *Nat Chem Biol* **2008**, 4, 483.
64. P. Bounelis, J. Liu, Y. Pang, J. C. Chatham, R. B. Marchase, *Shock* **2004**, 21 170 Suppl. 2, 58.
65. N. Fulop, V. Champattanachal, R. B. Marchase, J. C. Chatham, *Circulation Research* **2005**, 97, E28.
- 45 66. J. Liu, R. B. Marchase, J. C. Chatham, *Faseb Journal* **2006**, 20, A317.
67. R. Marchase, P. Bounelis, J. Chatham, I. Chaudry, Y. Pang, *PCT Int. Appl. WO 2006016904* **2006**.
68. N. Fulop, P. P. Wang, R. B. Marchase, J. C. Chatham, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* **2004**, 37, 286.
- 50

69. N. Fulop, P. P. Wang, R. B. Marchase, J. C. Chatham, *Faseb Journal* **2005**, *19*, A689.
70. J. Liu, R. B. Marchase, J. C. Chatham, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* **2007**, *42*, 177.
71. L. G. Not, C. A. Brocks, N. Fulop, R. B. Marchase, J. C. Chatham, *Faseb Journal*
5 **2006**, *20*, A1471.
72. S. L. Yang, L. Y. Zou, P. Bounelis, I. Chaudry, J. C. Chatham, R. B. Marchase, *Shock* **2006**, *25*, 600.
73. L. Y. Zou, S. L. Yang, P. Bounelis, I. H. Chaudry, J. C. Chatham, R. B. Marchase, *Faseb Journal* **2005**, *19*, A1224.
74. R. B. Marchase, J. Liu, L. Y. Zou, V. Champattanachai, Y. Pang, N. Fulop, P. P. Wang, S. L. Yang, P. Bounelis, et al., *Circulation* **2004**, *110*, 1099.
75. J. Liu, Y. Pang, T. Chang, P. Bounelis, J. C. Chatham, R. B. Marchase, *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* **2006**, *40*, 303.
76. J. Liu, J. C. Chatham, R. B. Marchase, *Faseb Journal* **2005**, *19*, A691.
77. T. Nagy, V. Champattanachai, R. B. Marchase, J. C. Chatham, *American Journal of Physiology-Cell Physiology* **2006**, *290*, C57.
78. N. Fulop, R. B. Marchase, J. C. Chatham, *Cardiovascular Research* **2007**, *73*, 288.
79. T. Lefebvre, C. Guinez, V. Dehennaut, O. Beseme-Dekeyser, W. Morelle, J. C. Michalski, *Expert Review of Proteomics* **2005**, *2*, 265.
80. L. Wells, K. Vosseller, G. W. Hart, *Science* **2001**, *291*, 2376.
81. J. A. Hanover, *FASEB J* **2001**, *15*, 1865.
82. D. A. McClain, W. A. Lubas, R. C. Cooksey, M. Hazel, G. J. Parker, D. C. Love, J. A. Hanover, *Proc Natl Acad Sci U S A* **2002**, *99*, 10695.
83. P. J. Yao, P. D. Coleman, *J Neurosci* **1998**, *18*, 2399.
84. W. H. Yang, J. E. Kim, H. W. Nam, J. W. Ju, H. S. Kim, Y. S. Kim, J. W. Cho, *Nature Cell Biology* **2006**, *8*, 1074.
85. B. Triggs-Raine, D. J. Mahuran, R. A. Gravel, *Adv Genet* **2001**, *44*, 199.
86. D. Zhou, J. Mattner, C. Cantu Iii, N. Schrantz, N. Yin, Y. Gao, Y. Sagiv, K. Hudspeth, Y. Wu, et al., *Science* **2004**.
87. G. Legler, E. Lullau, E. Kappes, F. Kastenholtz, *Biochim Biophys Acta* **1991**, *1080*, 89.
88. M. Horsch, L. Hoesch, A. Vasella, D. M. Rast, *Eur J Biochem* **1991**, *197*, 815.
89. J. Liu, A. R. Shikhman, M. K. Lotz, C. H. Wong, *Chem Biol* **2001**, *8*, 701.
90. S. Knapp, D. J. Vocadlo, Z. N. Gao, B. Kirk, J. P. Lou, S. G. Withers, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6804.
91. V. H. Lillelund, H. H. Jensen, X. Liang, M. Bols, *Chem Rev* **2002**, *102*, 515.
92. R. J. Konrad, I. Mikolaenko, J. F. Tolar, K. Liu, J. E. Kudlow, *Biochem J* **2001**, *356*, 31.
93. K. Liu, A. J. Paterson, F. Zhang, J. McAndrew, K. Fukuchi, J. M. Wyss, L. Peng, Y. Hu, J. E. Kudlow, *J Neurochem* **2004**, *89*, 1044.
94. G. Parker, R. Taylor, D. Jones, D. McClain, *J Biol Chem* **2004**, *279*, 20636.
95. E. B. Arias, J. Kim, G. D. Cartee, *Diabetes* **2004**, *53*, 921.
96. A. Junod, A. E. Lambert, L. Orci, R. Pictet, A. E. Gonet, A. E. Renold, *Proc Soc Exp Biol Med* **1967**, *126*, 201.
97. R. A. Bennett, A. E. Pegg, *Cancer Res* **1981**, *41*, 2786.
98. K. D. Kroncke, K. Fehsel, A. Sommer, M. L. Rodriguez, V. Kolb-Bachofen, *Biol Chem Hoppe Seyler* **1995**, *376*, 179.
99. H. Yamamoto, Y. Uchigata, H. Okamoto, *Nature* **1981**, *294*, 284.
100. K. Yamada, K. Nonaka, T. Hanafusa, A. Miyazaki, H. Toyoshima, S. Tarui, *Diabetes* **1982**, *31*, 749.

101. V. Burkart, Z. Q. Wang, J. Radons, B. Heller, Z. Herceg, L. Stingl, E. F. Wagner, H. Kolb, *Nat Med* **1999**, 5, 314.
102. M. D. Roos, W. Xie, K. Su, J. A. Clark, X. Yang, E. Chin, A. J. Paterson, J. E. Kudlow, *Proc Assoc Am Physicians* **1998**, 110, 422.
- 5 103. Y. Gao, G. J. Parker, G. W. Hart, *Arch Biochem Biophys* **2000**, 383, 296.
104. R. Okuyama, M. Yachi, *Biochem Biophys Res Commun* **2001**, 287, 366.
105. N. E. Zachara, N. O'Donnell, W. D. Cheung, J. J. Mercer, J. D. Marth, G. W. Hart, *J Biol Chem* **2004**, 279, 30133.
106. J. A. Hanover, Z. Lai, G. Lee, W. A. Lubas, S. M. Sato, *Arch Biochem Biophys* **1999**, 362, 38.
- 10 107. K. Liu, A. J. Paterson, R. J. Konrad, A. F. Parlow, S. Jimi, M. Roh, E. Chin, Jr., J. E. Kudlow, *Mol Cell Endocrinol* **2002**, 194, 135.
108. M. S. Macauley, G. E. Whitworth, A. W. Debowski, D. Chin, D. J. Vocadlo, *J Biol Chem* **2005**, 280, 25313.
- 15 109. B. L. Mark, D. J. Vocadlo, S. Knapp, B. L. Triggs-Raine, S. G. Withers, M. N. James, *J Biol Chem* **2001**, 276, 10330.
110. R. S. Haltiwanger, K. Grove, G. A. Philipsberg, *J Biol Chem* **1998**, 273, 3611.
111. D. J. Miller, X. Gong, B. D. Shur, *Development* **1993**, 118, 1279.
112. L. Y. Zou, S. L. Yang, S. H. Hu, I. H. Chaudry, R. B. Marchase, J. C. Chatham, *Shock* **2007**, 27, 402.
- 20 113. J. B. Huang, A. J. Clark, H. R. Petty, *Cellular Immunology* **2007**, 245, 1.
114. U. J. G. Conference, in *US/Japan Glyco 2004 Conference*, Honolulu, Hawaii, **2004**.
115. L. Y. Zou, S. L. Yang, S. H. Hu, I. H. Chaudry, R. B. Marchase, J. C. Chatham, *Faseb Journal* **2006**, 20, A1471.
- 25 116. V. Champattanachai, R. B. Marchase, J. C. Chatham, *American Journal of Physiology-Cell Physiology* **2007**, 292, C178.
117. V. Champattanachai, R. B. Marchase, J. C. Chatham, *American Journal of Physiology-Cell Physiology* **2008**, 294, C1509.
118. I. Khlistunova, M. Pickhardt, J. Biernat, Y. P. Wang, E. M. Mandelkow, E. Mandelkow, *Current Alzheimer Research* **2007**, 4, 544.
- 30 119. P. Friedhoff, A. Schneider, E. M. Mandelkow, E. Mandelkow, *Biochemistry* **1998**, 37, 10223.
120. M. Pickhardt, Z. Gazova, M. von Bergen, I. Khlistunova, Y. P. Wang, A. Hascher, E. M. Mandelkow, J. Biernat, E. Mandelkow, *Journal of Biological Chemistry* **2005**, 280, 3628.
- 35

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(I)

5 wherein

R^1 and R^2 are H, or R^1 is H and R^2 is F, or R^1 is F and R^2 is H, or R^1 is OR^3 and R^2 is H;

each R^3 is independently H or C_{1-6} acyl;

R^4 is H and R^5 is OR^3 , or R^4 is OR^3 and R^5 is H;

10 R^6 is H, F, or OR^3 ;

each R^7 is independently H or F;

each R^8 is independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, wherein the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy are optionally substituted from one up to the maximum number of substituents

15 with one or more of fluoro, OH, or methyl, or

the two R^8 groups are connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl,

with the proviso that when R^6 is OR^3 , each R^7 is H; and

20 with the proviso that either R^1 or R^6 is other than OR^3 .

2. The compound of claim 1 wherein:

R^1 and R^2 are H, or R^1 is H and R^2 is F, or R^1 is F and R^2 is H, or R^1 is OH and R^2 is H;

R^4 is H;

25 R^5 is OH;

R^6 is H or OH; and

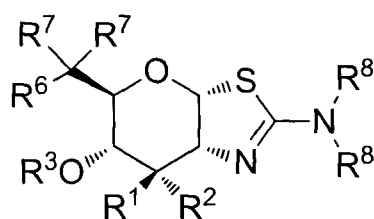
each R^8 is independently selected from the group consisting of: H, CH_3 , CH_2CH_3 , $(CH_2)_2CH_3$, $CH_2CH=CH_2$, and $CH_2C\equiv CH$, or NR^8_2 is azetidin-1-yl,

with the proviso that when R^6 is OH, each R^7 is H;

5 with the proviso that either R^1 or R^6 is other than OH.

3. The compound of claim 1 wherein at least one of R^1 , R^2 , R^6 , and R^7 is F.

4. A compound of Formula (Ia) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(Ia)

10 wherein

R^1 and R^2 are H and R^6 is F; or R^1 is H and R^2 is F and R^6 is H, F, or OR^3 ; or R^1 is F and R^2 is H and R^6 is H, F or OR^3 ; or R^1 is OR^3 and R^2 is H and R^6 is F;

each R^3 is independently H or C_{1-6} acyl;

each R^7 is independently H or F;

15 each R^8 is independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, wherein the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy are optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or

20 the two R^8 groups are connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl,

with the proviso that when R^6 is OR^3 , each R^7 is H.

5. The compound of claim 1 wherein the compound is a compound described in Table 1.

6. The compound of claim 1 wherein the compound is selected from the following group:

- (3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(ethylamino)-5-methyl-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- (3aR,5R,6S,7aR)-2-(ethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- 5 (3aR,5R,6S,7aR)-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- (3aR,5R,6S,7aR)-2-(dimethylamino)-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- (3aR,5R,6S,7aR)-2-amino-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-10 6-ol;
- (3aR,5R,6S,7aR)-5-(hydroxymethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- (3aR,5R,6R,7R,7aR)-2-(ethylamino)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- 15 (3aR,5R,6R,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- (3aR,5R,6R,7R,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- (3aR,5R,6R,7R,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- 20 (3aR,5R,6R,7S,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(ethylamino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- 25 (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(dimethylamino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(allylamino)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-amino-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- 30 d]thiazole-6,7-diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(azetidin-1-yl)-5-(fluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(fluoromethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;

- (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(fluoromethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(ethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- 5 (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(allylamino)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-amino-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- 10 (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(prop-2-yn-1-ylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)-2-(azetidin-1-yl)-5-(difluoromethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- 15 (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- (3aR,5S,6S,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- 20 (3aR,5S,6S,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(dimethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- (3aR,5S,6R,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-2-(ethylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazole-6,7-diol;
- 25 (3aR,5R,6S,7R,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- (3aR,5S,6R,7R,7aR)-7-fluoro-5-(fluoromethyl)-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- (3aR,5S,6R,7R,7aR)-5-(difluoromethyl)-7-fluoro-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- 30 (3aR,5S,6R,7S,7aR)-5-(difluoromethyl)-7-fluoro-2-(methylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;
- (3aR,5R,6R,7S,7aR)-2-(ethylamino)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;

(3aR,5R,6R,7S,7aR)-2-(dimethylamino)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;

(3aR,5R,6R,7S,7aR)-7-fluoro-5-(hydroxymethyl)-2-(propylamino)-5,6,7,7a-tetrahydro-3aH-pyrano[3,2-d]thiazol-6-ol;

5 or a pharmaceutically acceptable salt of any of the foregoing compounds.

7. The compound of claim 1 wherein the compound is a prodrug.

8. The compound of any one of claims 1 to 7 wherein the compound selectively inhibits an O-glycoprotein 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranosidase (O-GlcNAcase).

9. The compound of any one of claims 1 to 8 wherein the compound selectively binds an O-GlcNAcase.

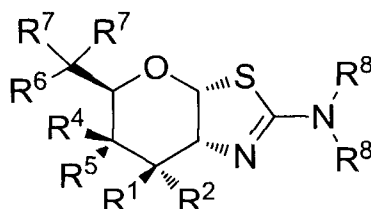
10. The compound of any one of claims 1 to 9 wherein the compound selectively inhibits the cleavage of 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranoside (O-GlcNAc).

11. The compound of claim 9 wherein the O-GlcNAcase is a mammalian O-GlcNAcase.

12. The compound of any one of claims 1 to 11 wherein the compound does not substantially inhibit a mammalian β -hexosaminidase.

13. A pharmaceutical composition comprising the compound of any one of claims 1 to 12 or a pharmaceutically acceptable salt thereof in combination with a pharmaceutically acceptable carrier.

14. A method of selectively inhibiting an O-GlcNAcase in a subject in need thereof, the method comprising administering to the subject an effective amount of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(I)

wherein

25 R^1 and R^2 are H, or R^1 is H and R^2 is F, or R^1 is F and R^2 is H, or R^1 is OR^3 and R^2 is H;

each R^3 is independently H or C_{1-6} acyl;

R^4 is H and R^5 is OR^3 , or R^4 is OR^3 and R^5 is H;

R^6 is H, F, or OR^3 ;

each R^7 is independently H or F;

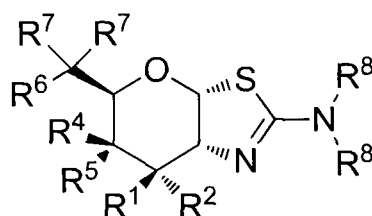
- 5 each R^8 is independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, wherein the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy are optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or

- 10 the two R^8 groups are connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl,

with the proviso that when R^6 is OR^3 , each R^7 is H; and

with the proviso that either R^1 or R^6 is other than OR^3 .

- 15 15. A method of elevating the level of O-GlcNAc in a subject in need thereof, the method comprising administering to the subject an effective amount of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(I)

wherein

- 20 R^1 and R^2 are H, or R^1 is H and R^2 is F, or R^1 is F and R^2 is H, or R^1 is OR^3 and R^2 is H;

each R^3 is independently H or C_{1-6} acyl;

R^4 is H and R^5 is OR^3 , or R^4 is OR^3 and R^5 is H;

R^6 is H, F, or OR^3 ;

- 25 each R^7 is independently H or F;

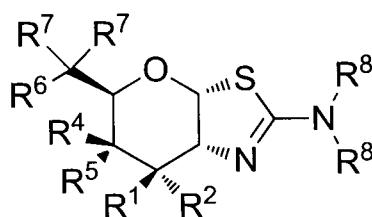
each R^8 is independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, wherein the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy are optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or

- 5 the two R^8 groups are connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl,

with the proviso that when R^6 is OR^3 , each R^7 is H; and

with the proviso that either R^1 or R^6 is other than OR^3 .

- 10 16. A method of treating a condition that is modulated by an O-GlcNAcase, in a subject in need thereof, the method comprising administering to the subject an effective amount of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(I)

- 15 wherein

R^1 and R^2 are H, or R^1 is H and R^2 is F, or R^1 is F and R^2 is H, or R^1 is OR^3 and R^2 is H;

each R^3 is independently H or C_{1-6} acyl;

R^4 is H and R^5 is OR^3 , or R^4 is OR^3 and R^5 is H;

- 20 R^6 is H, F, or OR^3 ;

each R^7 is independently H or F;

each R^8 is independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, wherein the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy are optionally substituted from one up to the maximum number of substituents

- 25 with one or more of fluoro, OH, or methyl, or

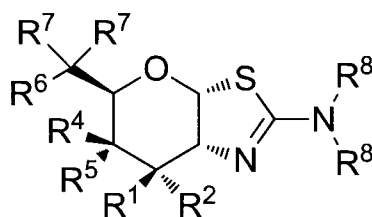
the two R⁸ groups are connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl,

with the proviso that when R⁶ is OR³, each R⁷ is H; and

5 with the proviso that either R¹ or R⁶ is other than OR³.

17. The method of claim 16 wherein the condition is selected from one or more of the group consisting of an inflammatory disease, an allergy, asthma, allergic rhinitis, hypersensitivity lung diseases, hypersensitivity pneumonitis, eosinophilic pneumonias, delayed-type hypersensitivity, atherosclerosis, interstitial lung disease (ILD), idiopathic
 10 pulmonary fibrosis, ILD associated with rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, ankylosing spondylitis, systemic sclerosis, Sjogren's syndrome, polymyositis or dermatomyositis, systemic anaphylaxis or hypersensitivity response, drug allergy, insect sting allergy, autoimmune disease, rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, multiple sclerosis, Guillain-Barré syndrome, systemic lupus erythematosus, myasthenia gravis,
 15 glomerulonephritis, autoimmune thyroiditis, graft rejection, allograft rejection, graft-versus-host disease, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, ulcerative colitis, spondyloarthropathy, scleroderma, psoriasis, T-cell mediated psoriasis, inflammatory dermatosis, dermatitis, eczema, atopic dermatitis, allergic contact dermatitis, urticaria, vasculitis, necrotizing, cutaneous, and hypersensitivity vasculitis, eosinophilic myotitis,
 20 eosinophilic fasciitis, solid organ transplant rejection, heart transplant rejection, lung transplant rejection, liver transplant rejection, kidney transplant rejection, pancreas transplant rejection, kidney allograft, lung allograft, epilepsy, pain, fibromyalgia, stroke, neuroprotection.

18. A method of treating a condition selected from the group consisting of a
 25 neurodegenerative disease, a tauopathy, cancer and stress, in a subject in need thereof, the method comprising administering to the subject an effective amount of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(I)

wherein

R^1 and R^2 are H, or R^1 is H and R^2 is F, or R^1 is F and R^2 is H, or R^1 is OR^3 and R^2 is H;

5 each R^3 is independently H or C_{1-6} acyl;

R^4 is H and R^5 is OR^3 , or R^4 is OR^3 and R^5 is H;

R^6 is H, F, or OR^3 ;

each R^7 is independently H or F;

10 each R^8 is independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, wherein the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy are optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or

15 the two R^8 groups are connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl,

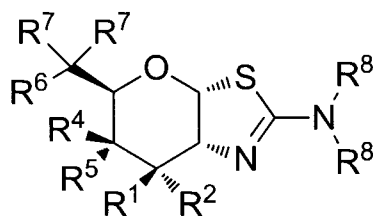
with the proviso that when R^6 is OR^3 , each R^7 is H; and

with the proviso that either R^1 or R^6 is other than OR^3 .

19. The method of claim 18 wherein the condition is selected from one or more of the group consisting of Alzheimer's disease, Amyotrophic lateral sclerosis (ALS), Amyotrophic lateral sclerosis with cognitive impairment (ALSci), Argyrophilic grain dementia, Bluit disease, Corticobasal degeneration (CBD), Dementia pugilistica, Diffuse neurofibrillary tangles with calcification, Down's syndrome, Familial British dementia, Familial Danish dementia, Frontotemporal dementia with parkinsonism linked to chromosome 17 (FTDP-17), Gerstmann-Straussler-Scheinker disease, Guadeloupean parkinsonism, Hallevorden-Spatz disease (neurodegeneration with brain iron accumulation type 1), Multiple system atrophy, 25 Myotonic dystrophy, Niemann-Pick disease (type C), Pallido-ponto-nigral degeneration, Parkinsonism-dementia complex of Guam, Pick's disease (PiD), Post-encephalitic parkinsonism (PEP), Prion diseases (including Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD), Variant Creutzfeldt-Jakob Disease (vCJD), Fatal Familial Insomnia, and Kuru), Progressive 30 supercortical gliosis, Progressive supranuclear palsy (PSP), Richardson's syndrome,

Subacute sclerosing panencephalitis, Tangle-only dementia, Huntington's disease, Parkinson's disease, Schizophrenia, Mild Cognitive Impairment (MCI), Neuropathy (including peripheral neuropathy, autonomic neuropathy, neuritis, and diabetic neuropathy), or Glaucoma.

- 5 20. The method of claim 18 wherein the stress is a cardiac disorder.
21. The method of claim 20 wherein the cardiac disorder is selected from one or more of the group consisting of ischemia; hemorrhage; hypovolemic shock; myocardial infarction; an interventional cardiology procedure; cardiac bypass surgery; fibrinolytic therapy; angioplasty; and stent placement.
- 10 22. The method of any one of claims 14 to 21 wherein the compound is selected from the group consisting of one or more of the compounds described in Table 1.
23. The method of any one of claims 14 to 22 wherein said administering increases the level of O-GlcNAc in the subject.
24. The method of any one of claims 14 to 23 wherein the subject is a human.
- 15 25. Use of a compound of an effective amount of a compound of Formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt thereof:



(I)

wherein

- 20 R^1 and R^2 are H, or R^1 is H and R^2 is F, or R^1 is F and R^2 is H, or R^1 is OR^3 and R^2 is H;
- each R^3 is independently H or C_{1-6} acyl;
- R^4 is H and R^5 is OR^3 , or R^4 is OR^3 and R^5 is H;
- R^6 is H, F, or OR^3 ;
- 25 each R^7 is independently H or F;

each R^8 is independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, wherein the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy are optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or

5 the two R^8 groups are connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl,

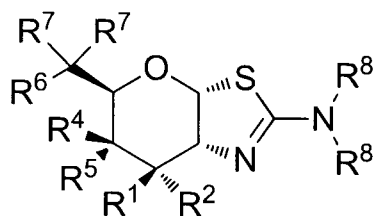
with the proviso that when R^6 is OR^3 , each R^7 is H; and

10 with the proviso that either R^1 or R^6 is other than OR^3 , in the preparation of a medicament.

26. The use of claim 25 wherein said medicament is for selectively inhibiting an O-GlcNAcase, for increasing the level of O-GlcNAc, for treating a condition modulated by an O-GlcNAcase, or for treating a neurodegenerative disease, a tauopathy, a cancer, or stress.

15 27. A method for screening for a selective inhibitor of an O-GlcNAcase, the method comprising:

- a) contacting a first sample with a test compound;
- b) contacting a second sample with a compound of Formula (I)



(I)

20 wherein

R^1 and R^2 are H, or R^1 is H and R^2 is F, or R^1 is F and R^2 is H, or R^1 is OR^3 and R^2 is H;

each R^3 is independently H or C_{1-6} acyl;

R^4 is H and R^5 is OR^3 , or R^4 is OR^3 and R^5 is H;

25 R^6 is H, F, or OR^3 ;

each R^7 is independently H or F;

each R^8 is independently selected from the group consisting of: H, C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, and C_{1-6} alkoxy, wherein the C_{1-6} alkyl, C_{3-6} alkenyl, C_{3-6} alkynyl, or C_{1-6} alkoxy are optionally substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl, or

- 5 the two R^8 groups are connected together with the nitrogen atom to which they are attached to form a ring, said ring optionally independently substituted from one up to the maximum number of substituents with one or more of fluoro, OH, or methyl,

with the proviso that when R^6 is OR^3 , each R^7 is H; and

with the proviso that either R^1 or R^6 is other than OR^3 ;

- 10 c) determining the level of inhibition of the O-GlcNAcase in the first and second samples, wherein the test compound is a selective inhibitor of a O-GlcNAcase if the test compound exhibits the same or greater inhibition of the O-GlcNAcase when compared to the compound of Formula (I).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CA2011/001397

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC: **C07H 9/06** (2006.01) , **A61K 31/7056** (2006.01) , **C07D 513/04** (2006.01) , **C12Q 1/34** (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07H 9/06 , A61K 31/7056, C07D 513/04, C12Q 1/34

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used)

STN, Intellect (Canadian Patent Database), Total Patent, PubMed, ScienceDirect, Google Scholar, American Chemical Society publication search.

Keywords: glycosidase, glycosidase inhibitors, OGLcNAcase inhibitors, inhibition, applicant search.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CA2661582 (VOCADLO, D et al.) 6 March 2008 (2008-03-06) whole document	1-27
A	CA2599843 (MACAULEY, M et al.) 8 September 2006 (2006-09-08) whole document	1-27
A	"Mechanism, Structure and Inhibition of O-GlcNAc Processing Enzymes" Gloster, TM et al. <i>Curr Signal Transduct Ther.</i> January 2010 , 5(1), 74-91 whole document	1-27
A	"Increasing O-GlcNAc levels: An overview of small-molecule inhibitors" Macauley, MS et al. <i>Biochimica et Biophysica Acta</i> 2010 , 1800, 107-121 whole document	1-27
A	"A potent mechanism-inspired O-GlcNAcase inhibitor that blocks phosphorylation of tau in vivo" Yuzwa, SA et al. <i>Nature Chemical Biology</i> , 2008 , 4(8), 483-490	1-27

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

20 February 2012 (20-02-2012)

Date of mailing of the international search report

12 March 2012 (12-03-2012)

Name and mailing address of the ISA/CA
Canadian Intellectual Property Office
Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT
50 Victoria Street
Gatineau, Quebec K1A 0C9
Facsimile No.: 001-819-953-2476

Authorized officer

Wendy Young (819) 934-0477

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of the first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons :

1. ☒ Claim Nos. : 16-24
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely :

Claims 16-24 directed to methods of treating a condition modulated by an O-GlcNAcase are methods of medical treatment which are not required to be searched by this Authority. Nevertheless, the Authority has performed a search on the alleged therapeutic effects derived from the compounds as selective glycosidase inhibitors.
2. ☐ Claim Nos. :
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically :
3. ☐ Claim Nos. :
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows :

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claim Nos. :
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim Nos. :

- Remark on Protest** ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CA2011/001397

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	"Enzymatic characterization and inhibition of the nuclear variant of human O-GlcNAcase" Macauley, MS et al. <i>Carbohydrate Research</i> 2009 , 244, 1079-1084 whole document	1-27
A	"Analysis of PUGNAc and NAG-thiazoline as Transition State Analogues for Human O-GlcNAcase: Mechanistic and Structural Insights into inhibitor Selectivity and Transition State Poise" Whitworth, GE et al. <i>J. Am. Chem. Soc.</i> 2007 , 129, 635-644 whole document	1-27
A	"O-GlcNAcase Uses Substrate-assisted Catalysis" Macauley, MS et al. <i>Journal of Biological Chemistry</i> 2005 , 280(27), 25313-25322 whole document	1-27
A	"Tautomeric Modification of GlcNAc-Thiazoline" Knapp, S et al. <i>Organic Letters</i> 2007 , 9(12), 2321-2324 whole document	1-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CA2011/001397

Patent Document Cited in Search Report	Publication Date	Patent Family Member(s)	Publication Date
CA2661582A1	06 March 2008 (06-03-2008)	AU2007291870A1	06 March 2008 (06-03-2008)
		CN101595111A	02 December 2009 (02-12-2009)
		EP2057171A1	13 May 2009 (13-05-2009)
		EP2057171A4	21 April 2010 (21-04-2010)
		EP2322529A1	18 May 2011 (18-05-2011)
		JP2010501598A	21 January 2010 (21-01-2010)
		US2010016386A1	21 January 2010 (21-01-2010)
		WO2008025170A1	06 March 2008 (06-03-2008)
		WO2008025170B1	24 April 2008 (24-04-2008)
CA2599843A1	08 September 2006 (08-09-2006)	AU2006220187A1	08 September 2006 (08-09-2006)
		CN101208352A	25 June 2008 (25-06-2008)
		EP1869060A1	26 December 2007 (26-12-2007)
		EP1869060A4	12 August 2009 (12-08-2009)
		JP2008531604A	14 August 2008 (14-08-2008)
		US2008287375A1	20 November 2008 (20-11-2008)
		WO2006092049A1	08 September 2006 (08-09-2006)

INHIBIDORES SELECTIVOS DE LA GLICOSIDASA Y USOS DE LOS MISMOS

CAMPO DE LA INVENCION

Esta solicitud se refiere a compuestos que inhiben selectivamente las glicosidasas y
5 usos de los mismos.

FUNDAMENTO DE LA INVENCION

Un rango amplio de proteínas celulares, tanto nucleares como citoplasmáticas, son
modificadas de manera pos- traducción mediante la adición del monosacárido 2- acetamido-
10 2- desoxi- β - D- glucopiranosida (β - N - acetilglucosamina) que está fijado a través de un
enlace O- glicosídico.¹ Esta modificación se conoce generalmente como N-
acetilglucosamina ligada a O u O- GlcNAc. La enzima responsable de la unión pos-
traducción de β - N- acetilglucosamina (GlcNAc) a residuos específicos de serina y treonina
de numerosas proteínas nucleocitoplásmicas es la O- GlcNAc transferasa (OGT). Una
15 segunda enzima, conocida como la glicoproteína 2- acetamido- 2- desoxi- β - D-
glucopiranosidasa (O- GlcNAcase) elimina esta modificación pos- traducción para liberar
proteínas, haciendo de la modificación por O- GlcNAc un ciclo dinámico que ocurre varias
veces durante la vida útil de una proteína.

Las proteínas O- GlcNAc- modificadas regulan un rango amplio de funciones
20 celulares vitales, incluyendo, por ejemplo, la transcripción, degradación proteasomal, y
señalización celular. O- GlcNAc también se encuentra en muchas proteínas estructurales. Por
ejemplo, se ha encontrado en una serie de proteínas del citoesqueleto, incluyendo proteínas
de neurofilamentos, sinapsinas, proteína de ensamblaje de clatrina específico a sinapsina AP-
3, y anquirinaG. Se ha encontrado que la modificación por O- GlcNAc es abundante en el
25 cerebro. También se ha encontrado en proteínas claramente implicadas en la etiología de
varias enfermedades incluyendo la enfermedad de Alzheimer (EA) y cáncer.

Por ejemplo, está bien establecido que la EA y una serie de tauopatías relacionadas,
que incluyen el síndrome de Down, enfermedad de Pick, enfermedad de Niemann- Pick Tipo
C, y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) se caracterizan, en parte, por el desarrollo de
30 ovillos neurofibrilares (ONF). Estos ONF son agregados de filamentos helicoidales apareados
(FHAs) y se componen de una forma anormal de la proteína del citoesqueleto "tau".
Normalmente tau estabiliza una red celular clave de microtúbulos que es esencial para la
distribución de las proteínas y nutrientes dentro de las neuronas. En los pacientes con EA, sin
embargo, tau se vuelve hiperfosforilada, lo que altera sus funciones normales, formando

FHAs y, finalmente agregándose para formar ONFs. Seis isoformas de tau se encuentran en el cerebro humano. En los pacientes con EA, todas las seis isoformas de tau se encuentran en los ONF, y todas son notablemente hiperfosforiladas. Tau en el tejido cerebral sano lleva sólo 2 ó 3 grupos de fosfato, mientras que las que se encuentran en los cerebros de pacientes con Alzheimer tienen, en promedio, ocho grupos de fosfato. Un claro paralelismo entre los niveles de ONF en los cerebros de los pacientes con EA y la severidad de la demencia apoya fuertemente un papel clave para la disfunción de tau en la EA. Las causas exactas de esta hiperfosforilación de tau permanecen elusivas. En consecuencia, un considerable esfuerzo se ha dedicado a: a) aclarar las bases moleculares fisiológicas de la hiperfosforilación de tau, y b) identificar estrategias que podrían limitar la hiperfosforilación de tau con la esperanza de que pudieran detener o incluso revertir la progresión de la enfermedad de Alzheimer. Hasta ahora, varias líneas de evidencia sugieren que la regulación positiva de una serie de quinasas puede estar involucrada en la hiperfosforilación de tau, aunque muy recientemente, se ha avanzado en una base alternativa para esta hiperfosforilación.

En particular, se ha comprobado que los niveles de fosfato de la proteína tau están regulados por los niveles de O- GlcNAc en tau. La presencia de O- GlcNAc en tau ha estimulado estudios que correlacionan niveles de O- GlcNAc con los niveles de fosforilación de tau. El interés en este campo proviene de la observación de que la modificación por O- GlcNAc se produce en muchas proteínas en residuos aminoácidos que también son conocidos por ser fosforilados. - De acuerdo con esta observación, se ha encontrado que aumentos en los niveles de fosforilación resultan en una disminución de los niveles de O- GlcNAc y por el contrario, los niveles de O- GlcNAc aumentados se correlacionan con la disminución de los niveles de fosforilación. Esta relación recíproca entre O- GlcNAc y fosforilación se ha denominado la "hipótesis Yin- Yang" y ha ganado fuerte apoyo bioquímico debido al descubrimiento de que la enzima OGT forma un complejo funcional con fosfatasa que actúan para eliminar los grupos fosfato de las proteínas. Al igual que la fosforilación, O- GlcNAc es una modificación dinámica que puede ser removida y reinstalada varias veces durante la vida útil de una proteína. Sugestivamente, el gen que codifica la O- GlcNAcasa ha sido localizado en un sitio cromosómico que está vinculado a EA. La Tau hiperfosforilada en el cerebro humano con EA tiene niveles notoriamente más bajos de O- GlcNAc que los encontrados en los cerebros humanos sanos. Se ha demostrado que los niveles de O- GlcNAc de la proteína tau soluble de los cerebros humanos afectados por EA son notablemente inferiores a los del cerebro sano. Además, se sugirió que el FHA de cerebro enfermo carece por completo de cualquier modificación por O- GlcNAc que sea. La base molecular de esta

hipoglicosilación de tau no se conoce, aunque pueda deberse a una mayor actividad de las quinasas y/o disfunción de una de las enzimas implicadas en el procesamiento de O- GlcNAc. Apoyando este último punto de vista, tanto en las células neuronales PC- 12 como en secciones de tejido cerebral de ratones, un inhibidor no selectivo de la N-
5 acetilglucosaminidasa se utilizó para aumentar los niveles de O- GlcNAc de tau, con lo cual se observó que los niveles de fosforilación disminuyeron. La implicación de estos resultados colectivos es que al mantener saludables los niveles de O- GlcNAc en pacientes con Alzheimer, por ejemplo, inhibiendo la acción de la O- GlcNAcase, se debería ser capaz de bloquear la hiperfosforilación de tau y todos los efectos asociados de la hiperfosforilación de
10 tau, incluyendo la formación de ONF y los efectos corriente abajo. Sin embargo, debido a que el buen funcionamiento de las β - Hexosaminidasas es fundamental, cualquier intervención terapéutica potencial para el tratamiento de la EA que bloquee la acción de la O- GlcNAcase tendría que evitar la inhibición concomitante de ambas hexosaminidasas A y B.

Las neuronas no almacenan glucosa y por lo tanto, el cerebro se basa en la glucosa
15 que proviene de la sangre para mantener sus funciones metabólicas esenciales. En particular, se ha demostrado que dentro del cerebro, la absorción de glucosa y el metabolismo disminuye con la edad. Dentro de los cerebros de pacientes con EA ocurren disminuciones notables de la utilización de la glucosa y se piensa que son una causa potencial de neurodegeneración. Se cree que la base de esta disminución de la fuente de glucosa en el cerebro con EA proviene de
20 cualquier disminución en el transporte de glucosa, señalización de insulina alterada, y disminución del flujo sanguíneo.

A la luz de este metabolismo de glucosa deteriorado, vale la pena señalar que de toda la glucosa que entra en las células, 2- 5% se desvía hacia la ruta biosintética de la hexosamina, regulando así las concentraciones celulares del producto final de esta ruta, la
25 difosfato- N- acetilglucosamina de uridina (UDP- GlcNAc). UDP- GlcNAc es un sustrato de la enzima nucleocitoplásmica O- GlcNAc transferasa (OGT), que actúa para agregar de manera pos- traducción GlcNAc a residuos específicos de serina y treonina de numerosas proteínas nucleocitoplásmicas. OGT reconoce muchos de sus sustratos y socios de unión a través de sus dominios de repetición de tetratricopéptidos (RPT). Como se describió
30 anteriormente, O- GlcNAcase elimina esta modificación pos- traducción para liberar proteínas haciendo de la modificación por O- GlcNAc un ciclo dinámico que ocurre varias veces durante la vida útil de una proteína. O- GlcNAc se ha encontrado en varias proteínas en sitios de fosforilación conocidos, incluyendo tau y neurofilamentos. Además, OGT muestra

un comportamiento cinético inusual por lo que es sumamente sensible a concentraciones de sustrato UDP- GlcNAc intracelular y por lo tanto, fuente de glucosa.

De acuerdo con las propiedades conocidas de la ruta biosintética de la hexosamina, las propiedades enzimáticas de OGT, y la relación recíproca entre O- GlcNAc y la fosforilación, se ha demostrado que disponibilidad de glucosa disminuida en el cerebro provoca la hiperfosforilación de tau. Por lo tanto, el deterioro gradual del transporte de glucosa y el metabolismo, cualquiera que sea su causa, lleva a una disminución de O- GlcNAc y la hiperfosforilación de tau (y otras proteínas). En consecuencia, la inhibición de O- GlcNAcasa debe compensar el deterioro relacionado con la edad del metabolismo de la glucosa en el cerebro de los individuos saludables, así como en pacientes que sufren de Alzheimer o enfermedades neurodegenerativas relacionadas.

Estos resultados sugieren que un mal funcionamiento de los mecanismos que regulan los niveles de O- GlcNAc de tau puede ser de vital importancia en la formación de ONFs y la neurodegeneración asociada. Un buen soporte para el bloqueo de la hiperfosforilación de tau como una intervención terapéuticamente útil proviene de estudios recientes que muestran que cuando los ratones transgénicos que albergan tau humana son tratados con inhibidores de la quinasa, no desarrollan defectos motores típicos y, en otro caso, muestran disminución de los niveles de tau insoluble. Estos estudios proporcionan un vínculo claro entre reducción de los niveles de fosforilación de tau y el alivio de síntomas conductuales similares a EA en un modelo murino de la enfermedad. De hecho, la modulación farmacológica de la hiperfosforilación de tau es ampliamente reconocida como una estrategia terapéutica válida para el tratamiento de EA y otras enfermedades neurodegenerativas.

Los inhibidores de O- GlcNAcasa de moléculas pequeñas, para limitar la hiperfosforilación de tau, se han considerado para el tratamiento de la EA y tauopatías relacionadas. Específicamente, el inhibidor de O- GlcNAcasa tiamet- G ha estado implicado en la reducción de la fosforilación de tau en cultivos de células PC- 12 en los sitios patológicamente relevantes. Por otra parte, la administración oral de tiamet- G a ratas Sprague- Dawley saludables ha estado implicada en la fosforilación reducida de tau en Thr231, Ser396 y Ser422 tanto en la corteza como en el hipocampo de ratas.

También hay un gran cuerpo de evidencia que indica que los niveles elevados de la modificación proteica mediante O- GlcNAc ofrecen protección contra los efectos patógenos del estrés en el tejido cardíaco, incluyendo el estrés causado por la isquemia, hemorragia, choque hipervolémico, y la paradoja del calcio. Por ejemplo, la activación de la ruta biosintética de la hexosamina (RBH) mediante la administración de glucosamina ha

demostrado ejercer un efecto protector en modelos animales de isquemia/reperfusión, hemorragia por trauma - choque hipervolémico, y la paradoja del calcio. Por otra parte, una fuerte evidencia indica que estos efectos cardioprotectores están mediados por los niveles elevados de la modificación proteica mediante O- GlcNA. También hay evidencia de que la modificación por O- GlcNAc juega un papel en una variedad de enfermedades neurodegenerativas, incluyendo enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Huntington.

Los seres humanos tienen tres genes que codifican enzimas que escinden residuos β -N- acetilglucosamina terminales desde glicoconjugados. El primero de ellos codifica O- GlcNAcase. O- GlcNAcase es un miembro de la familia 84 de hidrolasas de glucósido, que incluye enzimas desde organismos tan diversos como los patógenos procariotas a los seres humanos (para la clasificación de la familia de las hidrolasas de glucósido ver Coutinho, P.M y Henrissat, B. (1999) Carbohydrate- Active Enzymes servidor URL:<http://afmb.cnrs-mrs.fr/CAZY/>). O- GlcNAcase actúa para hidrolizar O- GlcNAc fuera de los residuos de serina y treonina de proteínas modificadas de manera pos- traducción. Consistente con la presencia de O- GlcNAc en muchas proteínas intracelulares, la enzima O- GlcNAcase parece tener un papel en la etiología de varias enfermedades incluyendo la diabetes tipo II, EA, y cáncer. Aunque O- GlcNAcase se aisló probablemente antes, transcurrieron alrededor de 20 años antes de que su papel bioquímico en actuar para escindir O- GlcNAc de los residuos de serina y treonina de proteínas fuera entendido. Más recientemente, O- GlcNAcase ha sido clonada, caracterizada parcialmente, e indicada por tener actividad adicional como una acetiltransferasa de histona. Sin embargo, poco se sabe sobre el mecanismo catalítico de esta enzima.

Los otros dos genes, HEXA y HEXB, codifican enzimas que catalizan la escisión hidrolítica de los residuos β - N- acetilglucosamina terminales desde glicoconjugados. Los productos genicos de HEXA y HEXB predominantemente proporcionan dos isoenzimas diméricas, hexosaminidasa A y hexosaminidasa B, respectivamente. La hexosaminidasa A ($\alpha\beta$), una isoenzima heterodimérica, se compone de una subunidad α - y β . La hexosaminidasa B ($\beta\beta$), una isoenzima homodimérica, está compuesta por dos β - subunidades. Las dos subunidades, α y β - , tienen un alto nivel de identidad de secuencia. Ambas enzimas se clasifican como miembros de la familia 20 de hidrolasas de glucósido y normalmente están localizadas dentro de los lisosomas. El buen funcionamiento de estas β - hexosaminidasas lisosomales es fundamental para el desarrollo humano, un hecho que se ve subrayado por las trágicas enfermedades genéticas, enfermedad de Tay- Sachs y de Sandhoff que se derivan de una disfunción en, respectivamente, hexosaminidasa A y hexosaminidasa

B. Estas deficiencias enzimáticas causan una acumulación de glicolípidos y glicoconjugados en los lisosomas dando lugar a deterioro y deformación neurológica. Los efectos nocivos de la acumulación de gangliosidos a nivel del organismo están aún sin descubrir.

Como resultado de la importancia biológica de estas β - N- acetil- glucosaminidasas, los inhibidores de moléculas pequeñas de glicosidasas han recibido una gran atención, tanto como herramienta para dilucidar el papel de estas enzimas en los procesos biológicos como en el desarrollo de aplicaciones terapéuticas potenciales. El control de la función de glucosidasa que utiliza pequeñas moléculas ofrece varias ventajas sobre los estudios genéticos tipo knockout, que incluyen la capacidad de variar rápidamente las dosis o retirar por completo el tratamiento.

Sin embargo, un reto importante en el desarrollo de inhibidores para bloquear la función de las glicosidasas mamíferas, incluyendo O- GlcNAcase, es el gran número de enzimas relacionadas funcionalmente presentes en los tejidos de eucariotas superiores. En consecuencia, el uso de los inhibidores no selectivos en el estudio de la función celular y fisiológica del organismo de una enzima en particular es complicado porque los fenotipos complejos se derivan de la inhibición simultánea de tales enzimas relacionadas funcionalmente. En el caso de β - N- acetilglucosaminidasas, muchos compuestos que actúan para bloquear la función de O- GlcNAcase no son específicos y actúan de forma potente para inhibir las β - hexosaminidasas lisosomales.

Algunos de los inhibidores mejor caracterizados de β - N- acetil- glucosaminidasas que se han utilizado en estudios de modificaciones por O- GlcNAc pos- traducción tanto en las células como en los tejidos son estreptozotocina (STZ), 2'- metil- α - D- glucopirano- [2,1- d]- Δ 2'- tiazolina (NAG- tiazolina) y N- fenilcarbamato de O- (2- acetamido- 2- desoxi- D- glucopiranosilideno)amino (PUGNAc).

STZ ha sido utilizado como un compuesto diabético porque tiene un efecto particularmente negativo en las células β . El STZ ejerce sus efectos citotóxicos a través tanto de la alquilación del ADN celular, así como la generación de especies radicales incluyendo el óxido nítrico. La rotura de la cadena de ADN resultante promueve la activación de poli(ADP- ribosa)polimerasa (PARP), con el efecto neto de agotar los niveles de NAD⁺ celular y, en última instancia, llevar a la muerte celular. Otros investigadores han propuesto en cambio que la toxicidad de STZ es una consecuencia de la inhibición irreversible de la O- GlcNAcase, que es altamente expresada en células β . Esta hipótesis, sin embargo, ha sido puesta en duda por dos grupos de investigación independientes. Debido a que los niveles de O- GlcNAc celular en proteínas aumentan en respuesta a muchas formas de estrés celular, parece posible

que STZ resulta en el aumento de los niveles de modificación proteica mediante O- GlcNAc mediante la inducción de estrés celular, en lugar de a través de una acción concreta y directa sobre la O- GlcNAcasa. De hecho, Hannover y sus colaboradores han demostrado que la STZ funciona como un inhibidor pobre y un poco selectivo de O- GlcNAcasa y aunque ha sido
5 propuesto por otros, que STZ actúa para inhibir irreversiblemente O- GlcNAcasa, no ha habido una clara demostración de este modo de acción. Más recientemente, se ha demostrado que STZ no inhibe irreversiblemente O- GlcNAcasa.

Se ha encontrado que la NAG- tiazolina es un potente inhibidor de las hexosaminidasas familia 20 y, más recientemente, las O- GlcNAcasas de la familia 84. A
10 pesar de su potencia, una desventaja de usar NAG- tiazolina en un contexto biológico complejo es que carece de selectividad y por lo tanto perturba múltiples procesos celulares.

PUGNAc es otro compuesto que sufre el mismo problema de falta de selectividad, sin embargo, se ha utilizado como un inhibidor tanto de O- GlcNAcasa humana como de las β - Hexosaminidasas humanas de la familia 20. Se encontró que esta molécula desarrollada por
15 Vasella y colegas, era un potente inhibidor competitivo de las β - N- acetil- glucosaminidasas de *Canavalia ensiformis*, *Mucor rouxii*, y la β - hexosaminidasa de riñón bovino. Se ha demostrado que la administración de PUGNAc en un modelo de rata de hemorragia por trauma disminuye los niveles circulantes de las citoquinas pro- inflamatorias TNF- α y IL- 6. También se ha demostrado que la administración de PUGNAc en un modelo basado en
20 células de la activación de los linfocitos disminuye la producción de la citoquina IL- 2. Estudios posteriores han indicado que PUGNAc se puede utilizar en un modelo animal para reducir el tamaño del infarto de miocardio después de la oclusión de la arteria coronaria izquierda. De particular importancia es el hecho de que la elevación de los niveles de O- GlcNAc por la administración de PUGNAc, un inhibidor de la O- GlcNAcasa, en un modelo
25 de rata de hemorragia por trauma mejora la función cardíaca. Además, la elevación de los niveles de O- GlcNAc debida al tratamiento con PUGNAc en un modelo celular de lesión por isquémica/reperfusión utilizando miocitos ventriculares de ratas neonatales aumentó la viabilidad celular y disminuyó necrosis y la apoptosis en comparación con las células no tratadas.

Más recientemente, se ha sugerido que el inhibidor de S- GlcNAcasa selectivo NButGT muestra una actividad de protección en modelos basados en células de
30 isquemia/reperfusión y estrés celular, como el estrés oxidativo. Este estudio sugiere el uso de

inhibidores de O- GlcNAcase para elevar los niveles de la proteína O- GlcNAc y así evitar los efectos patógenos del estrés en el tejido cardíaco.

Las solicitudes de patentes internacionales PCT/CA2006/000300, presentada el 01 de marzo 2006, publicada con el número 2006/092049 WO el 8 de septiembre de 2006;

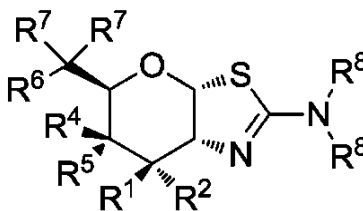
- 5 PCT/CA2007/001554, presentada el 31 de agosto 2007, publicada con el número WO 2008/025170 el 06 de marzo 2008; PCT/CA2009/001087, presentada el 31 de julio 2009, publicada con el número WO 2010/012106, el 4 de febrero de 2010; PCT/CA2009/001088, presentada el 31 de julio 2009, publicada con el número WO 2010/012107, el 4 de febrero de 2010; y PCT/CA2009/001302, presentada el 16 septiembre 2009, publicada con el número
10 WO 2010/037207, el 8 de abril de 2010, describe inhibidores selectivos de la O- GlcNAcase.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

- La invención proporciona, en parte, los compuestos para la inhibición selectiva de glicosidasas, profármacos de los compuestos, usos de los compuestos y profármacos,
15 composiciones farmacéuticas que incluyen los compuestos o profármacos de los compuestos, y métodos de tratamiento de las enfermedades y trastornos relacionados con la deficiencia o la sobreexpresión de O- GlcNAcase, y/o acumulación o deficiencia de O- GlcNAc.

En un aspecto, la invención proporciona un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

20

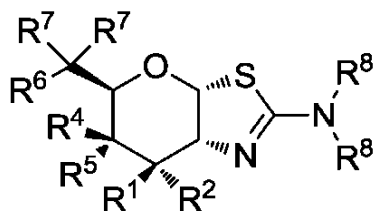


(I)

- donde R¹ y R² pueden ser H, o R¹ puede ser H y R² puede ser F, o R¹ pueden ser F y R² pueden ser H, o R¹ puede ser OR³ y R² pueden ser H; cada R³ puede ser
independientemente H o C₁₋₆ acilo; R⁴ puede ser H y R⁵ puede ser OR³, o R⁴ puede ser OR³ y
25 R⁵ puede ser H; R⁶ puede ser H, F, o OR³; cada R⁷ puede ser independientemente H o F;
cada R⁸ puede ser seleccionado independientemente del grupo que consta de: H, C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆ alquenoilo, C₃₋₆ alquinilo y C₁₋₆ alcoxilo, donde el C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆ alquenoilo, C₃₋₆ alquinilo o C₁₋₆ alcoxilo pueden ser opcionalmente sustituidos desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, o los dos grupos R⁸ pueden

conectarse junto con el átomo de nitrógeno al cual están fijados para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente independientemente sustituido desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, con la condición de que cuando R^6 es OR^3 , cada R^7 es H; y con la condición de que cualquiera R^1 o R^6 es distinto de OR^3 .

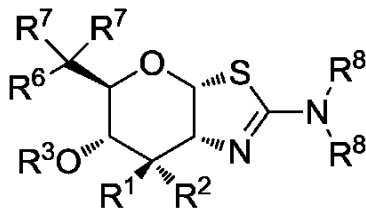
- 5 En realizaciones alternativas, la invención proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(I)

- donde R^1 y R^2 pueden ser H y R^6 puede ser H, F o OR^3 ; o R^1 puede ser H y R^2 puede ser F y R^6 pueden ser H, F o OR^3 ; o R^1 puede ser F y R^2 puede ser H y R^6 puede ser H, F o OR^3 ; o R^1 puede ser OR^3 y R^2 puede ser H y R^6 puede ser H o F; cada R^3 puede ser independientemente H o C_{1-6} acilo; R^4 puede ser H y R^5 puede ser OR^3 ; o R^4 puede ser OR^3 y R^5 puede ser H; cada R^7 pueden ser independientemente H o F; cada R^8 puede ser seleccionado independientemente del grupo que consta de: H, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo, y C_{1-6} alcoxilo, donde el C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo o C_{1-6} alcoxilo pueden ser opcionalmente sustituidos desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o un metilo, o los dos grupos R^8 pueden conectarse junto con el átomo de nitrógeno al cual están fijados para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, con la condición de que cuando R^6 es OR^3 , cada R^7 es H.

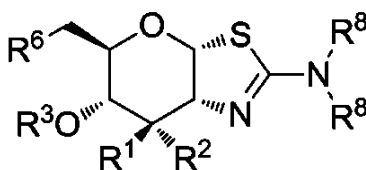
- 15 En realizaciones alternativas, la invención proporciona un compuesto de la Fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(Ia)

donde R^1 y R^2 pueden ser H y R^6 puede ser F, o R^1 puede ser H y R^2 puede ser F y R^6 puede ser H, F o OR^3 ; o R^1 puede ser F y R^2 puede ser H y R^6 puede ser H, F o OR^3 ; o R^1 puede ser OR^3 y R^2 puede ser H y R^6 puede ser F; cada R^3 puede ser independientemente H o C_{1-6} acilo, cada R^7 puede ser independientemente H o F; cada R^8 puede ser seleccionado
5 independientemente del grupo que consta de: H, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo, y C_{1-6} alcoxilo, donde el C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo, o C_{1-6} alcoxilo pueden ser opcionalmente sustituidos desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, o los dos grupos R^8 pueden conectarse entre sí con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente
10 independientemente sustituido desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, con la condición de que cuando R^6 es OR^3 , cada R^7 es H.

En realizaciones alternativas, la invención proporciona un compuesto de la Fórmula (Ib) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



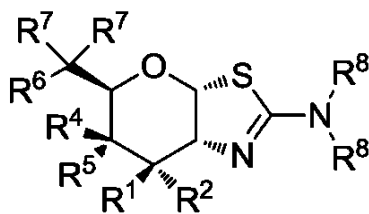
(Ib)

15

donde R^1 y R^2 pueden ser H y R^6 puede ser H o OR^3 ; o R^1 puede ser OR^3 y R^2 puede ser H y R^6 puede ser H; cada R^3 puede ser independientemente H o C_{1-6} acilo, cada R^8 puede seleccionarse independientemente del grupo formado por: H, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo y C_{1-6} alcoxilo, donde el C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo o C_{1-6} alcoxilo pueden ser opcionalmente sustituidos desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, o los dos grupos R^8 pueden conectarse
20 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente independientemente sustituido desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo.

25

En realizaciones alternativas, la invención proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(I)

- donde R^1 puede ser H, F o OR^3 ; R^2 puede ser H o F; cada R^3 puede ser independientemente H o C_{1-6} acilo; R^4 puede ser H; R^5 puede ser OR^3 ; R^6 puede ser H, F, o OR^3 ; cada R^7 pueden ser independientemente H o F; cada R^8 puede ser seleccionado
- 5 independientemente del grupo que consta de: H, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo, y C_{1-6} alcoxilo, donde el C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo o C_{1-6} alcoxilo pueden ser sustituidos opcionalmente desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, o los dos grupos R^8 pueden conectarse junto con el átomo de nitrógeno al cual se fijan para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido
- 10 independientemente desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, con la condición de que cuando R^1 es OR^3 , R^2 es H; y con la condición de que cuando R^6 es OR^3 , cada R^7 es H; y con la condición de que cualquiera R^1 o R^6 es distinto de OR^3 , y con la condición de que R^1 o R^2 es distinto de F.

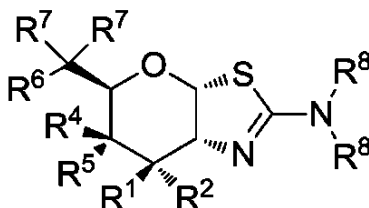
- En realizaciones alternativas, el compuesto puede ser un profármaco, el compuesto
- 15 puede inhibir de forma selectiva una O- glicoproteína 2- acetamido- 2- deoxi- β - D- glucopiranosidasa (O- GlcNAcase); el compuesto puede fijar de forma selectiva una O- GlcNAcase (por ejemplo, una O- GlcNAcase de mamífero), el compuesto puede inhibir de forma selectiva la escisión de una 2- acetamido- 2- deoxi- β - D- glucopiranosida (O- GlcNAc), el compuesto puede no inhibir substancialmente una β - hexosaminidasa de
- 20 mamífero.

En realizaciones alternativas, un compuesto según la Fórmula (Ia) o la Fórmula (Ib) puede tener permeabilidad aumentada.

- En aspectos alternativos, la invención proporciona una composición farmacéutica que incluye un compuesto según la invención, en combinación con un vehículo
- 25 farmacéuticamente aceptable.

En aspectos alternativos, la invención proporciona métodos para inhibir de forma selectiva una O- GlcNAcase, o inhibir una O- GlcNAcase en un sujeto que lo necesite, o aumentar el nivel de O- GlcNAc, o tratar una enfermedad neurodegenerativa, una tauopatía,

cáncer o estrés, en un sujeto que lo necesite, administrando al sujeto una cantidad efectiva de un compuesto de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

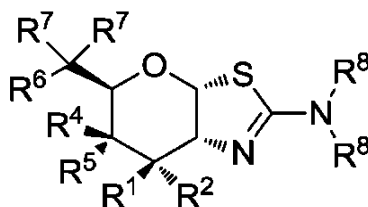


(I)

5 donde R^1 y R^2 pueden ser H, o R^1 puede ser H y R^2 puede ser F, o R^1 puede ser F y R^2 puede ser H, o R^1 puede ser OR^3 y R^2 pueden ser H; cada R^3 puede ser independientemente H o C_{1-6} acilo; R^4 puede ser H y R^5 puede ser OR^3 , o R^4 puede ser OR^3 y R^5 pueden ser H; R^6 puede ser H, F, o OR^3 ; cada R^7 puede ser independientemente H o F, cada R^8 se selecciona independientemente del grupo que consta de: H, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alqueno, C_{3-6} alquino, y C_{1-6} alcoxi, donde C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alqueno, C_{3-6} alquino o C_{1-6} alcoxi pueden ser opcionalmente sustituidos desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, o los dos grupos R^8 pueden conectarse junto con el átomo de nitrógeno al cual se fijan para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, con la condición de que cuando R^6 es OR^3 , cada R^7 es H; y con la condición de que cualquiera R^1 o R^6 es distinto de OR^3 . La condición puede ser enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), esclerosis lateral amiotrófica con deterioro cognitivo (ELAc), demencia argirofílica granulosa, enfermedad de Bluit, degeneración Corticobasal (CBD), demencia pugilística, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, síndrome de Down, demencia británica familiar, demencia Danés familiar, demencia frontotemporal con parkinsonismo ligado al cromosoma 17 (FTDP- 17), enfermedad de Gerstmann- Straussler- Scheinker, parkinsonismo guadalupense, enfermedad de Hallevorden- Spatz (neurodegeneración con acumulación cerebral de hierro tipo 1), atrofia sistémica múltiple, distrofia miotónica, enfermedad de Niemann- Pick (tipo C), degeneración Pálido- ponto- nigral, complejo parkinsonismo- demencia de Guam, enfermedad de Pick (PiD), parkinsonismo Post- encefálico (PEP), enfermedades priónicas (incluyendo enfermedad de Creutzfeldt- Jakob (ECJ), enfermedad de Creutzfeldt- Jakob variante (ECJv), insomnio familiar fatal, y Kuru), gliosis supracortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva (PSP), síndrome de Richardson, panencefalitis esclerosante subaguda, demencia

senil del tipo ovillo, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, Esquizofrenia, Deterioro Cognitivo Leve (DCL), neuropatía (incluyendo neuropatía periférica, neuropatía autonómica, neuritis y neuropatía diabética), o glaucoma. El estrés puede ser un trastorno cardíaco, por ejemplo, isquemia; hemorragia; choque hipovolémico; infarto del miocardio; un procedimiento de cardiología intervencional; cirugía de derivación cardiaca; terapia fibrinolítica, angioplastia, o colocación de stent.

En aspectos alternativos, la invención proporciona un método para tratar una condición mediada por O- GlcNAcasa que excluye una enfermedad neurodegenerativa, una tauopatía, cáncer o estrés, en un sujeto que lo necesite, administrando al sujeto una cantidad efectiva de un compuesto de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



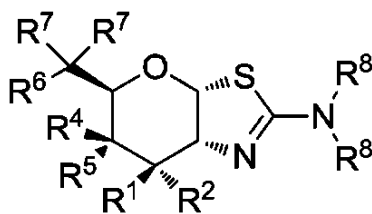
(I)

donde R¹ y R² pueden ser H, o R¹ puede ser H y R² pueden ser F, o R¹ puede ser F y R² puede ser H, o R¹ puede ser OR³ y R² pueden ser H; cada R³ puede ser independientemente H o C₁₋₆ acilo; R⁴ puede ser H y R⁵ puede ser OR³, o R⁴ puede ser OR³ y R⁵ puede ser H; R⁶ puede ser H, F, o OR³, cada R⁷ puede ser independientemente H o F; cada R⁸ se selecciona independientemente del grupo que consta de: H, C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆ alquenilo, C₃₋₆ alquinilo y C₁₋₆ alcóxido, donde el C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆ alquenilo, C₃₋₆ alquinilo o C₁₋₆ alcóxido pueden ser opcionalmente sustituidos desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, o los dos grupos R⁸ pueden conectarse junto con el átomo de nitrógeno al cual se fijan para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente independientemente sustituido desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, con la condición de que cuando R⁶ es OR³, cada R⁷ es H; y con la condición de que cualquiera R¹ o R⁶ es distinto de OR³. En algunas realizaciones, la condición puede ser enfermedades inflamatorias o alérgicas tales como asma, rinitis alérgica, enfermedades de hipersensibilidad pulmonar, neumonitis por hipersensibilidad, neumonías eosinofílicas, hipersensibilidad de tipo retardado, aterosclerosis, enfermedad pulmonar intersticial (EPI) (por ejemplo, fibrosis pulmonar idiopática, o EPI

asociada con artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, espondilitis anquilosante, esclerosis sistémica, síndrome de Sjögren, polimiositis o dermatomiositis), anafilaxia sistemática o reacciones de hipersensibilidad, alergias a medicamentos, alergias a las picaduras de insectos, enfermedades autoinmunes, tales como artritis reumatoide, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, síndrome de Guillain- Barré, lupus eritematoso sistémico, miastenia grave, glomerulonefritis, tiroiditis autoinmune, rechazo de injertos, incluyendo el rechazo de aloinjertos o la enfermedad de injerto contra huésped; enfermedades inflamatorias del intestino, tales como la enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa, espondiloartropatías, esclerodermia, psoriasis (incluyendo psoriasis mediada por células T) y dermatosis inflamatorias tales como dermatitis, eczema, dermatitis atópica, dermatitis alérgica de contacto, urticaria, vasculitis (por ejemplo vasculitis necrotizante, cutánea, y de hipersensibilidad), miotitis eosinofílica y fascitis eosinofílica; rechazo de injertos, en particular, pero no limitado a los trasplantes de órganos sólidos, tales como trasplantes de corazón, pulmón, hígado, riñón y páncreas (por ejemplo, aloinjertos renales y pulmonares), epilepsia, dolor, fibromialgia, accidente cerebro-vascular, por ejemplo neuroprotección a raíz de un accidente cerebrovascular.

En realizaciones alternativas, R^1 y R^2 puede ser H, o R^1 puede ser H y R^2 puede ser F, o R^1 puede ser F y R^2 puede ser H, o R^1 puede ser OR^3 y R^2 puede ser H; cada R^3 puede ser independientemente H o C_{1-6} alquilo; R^4 puede ser H y R^5 puede ser OR^3 , o R^4 puede ser OR^3 y R^5 pueden ser H; R^6 puede ser H, F, o OR; cada R^7 puede ser independientemente H o F; cada R^8 puede ser seleccionado independientemente del grupo que consta en: H, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenoilo, C_{3-6} alquinoilo y C_{1-6} alcoxilo, donde el C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenoilo, C_{3-6} alquinoilo, o C_{1-6} alcoxilo puede estar sustituido opcionalmente desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de flúor OH, o metilo, o los dos grupos R^8 pueden conectarse junto con el átomo de nitrógeno al cual se fijan para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o metilo, con la condición de que cuando R^6 es OR^3 , cada R^7 es H; y con la condición de que cualquiera R^1 o R^6 es distinto de OR^3 . La administración puede aumentar el nivel de O- GlcNAc en el sujeto. El sujeto puede ser un humano.

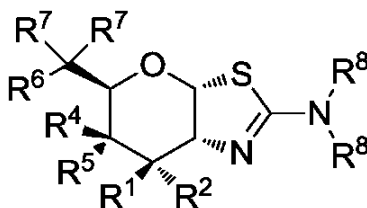
En aspectos alternativos, la invención proporciona el uso de un compuesto de una cantidad efectiva de un compuesto de la Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(I)

donde R¹ y R² pueden ser H, o R¹ puede ser H y R² pueden ser F, o R¹ puede ser F y R² puede ser H, o R¹ puede ser OR³ y R² pueden ser H; cada R³ puede ser independientemente H o C₁₋₆ acilo; R⁴ puede ser H y R⁵ pueden ser OR³, o R⁴ puede ser OR³ y R⁵ pueden ser H; R⁶ puede ser H, F, o OR³, cada R⁷ puede ser independientemente H o F; cada R⁸ se selecciona independientemente del grupo que consta en: H, C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆ alquenilo, C₃₋₆ alquinilo, y C₁₋₆ alcoxilo, donde el C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆ alquenilo, C₃₋₆ alquinilo, o C₁₋₆ alcoxilo pueden ser opcionalmente sustituidos desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, o los dos grupos R⁸ pueden conectarse junto con el átomo de nitrógeno al cual se fijan para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, con la condición de que cuando R⁶ es OR³, cada R⁷ es H, y con la condición de que cualquiera R¹ o R⁶ es distinto de OR³, en la preparación de un medicamento. El medicamento puede ser para la inhibición selectiva de una O- GlcNAcasa, para aumentar el nivel de O- GlcNAc, para tratar una condición modulada por una O- GlcNAcasa, para el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, una tauopatía, cáncer, o estrés.

En aspectos alternativos, la invención proporciona un método para la detección de un inhibidor selectivo de una O- GlcNAcasa, por: a) poner en contacto una primera muestra con un compuesto de ensayo; b) poner en contacto una segunda muestra con un compuesto de la Fórmula (I)



(I)

donde R^1 y R^2 pueden ser H, o R^1 puede ser H y R^2 pueden ser F, o R^1 puede ser F y R^2

puede ser H, o R^1 puede ser OR^3 y R^2 puede ser H; cada R^3 puede ser independientemente H o C_{1-6} acilo; R^4 puede ser H y R^5 pueden ser OR^3 , o R^4 puede ser OR^3 y R^5 pueden ser H; R^6
5 puede ser H, F, o OR^3 , cada R^7 puede ser independientemente H o F, cada R^8 se selecciona independientemente del grupo que consta en: H, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo, y C_{1-6} alcoxilo, donde el C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo, o C_{1-6} alcoxilo pueden ser opcionalmente sustituidos desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, o los dos grupos R^8 pueden conectarse junto con el átomo de
10 nitrógeno al cual se fijan para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, con la condición de que cuando R^6 es OR^3 , cada R^7 es H; y con la condición de que cualquiera R^1 o R^6 es distinto de OR^3 ; c) determinar el nivel de inhibición de la O- GlcNAcase en la primera y segunda muestra, donde el compuesto de ensayo es un
15 inhibidor selectivo de una O- GlcNAcase si el compuesto de ensayo presenta inhibición igual o mayor de la O- GlcNAcase en comparación con el compuesto de la Fórmula (I).

Este resumen de la invención no describe necesariamente todas las características de la invención.

20 DESCRIPCIÓN DETALLADA

La invención proporciona, en parte, compuestos novedosos que son capaces de inhibir una O- glicoproteína 2- acetamido- 2- desoxi- β - D- glucopiranosidasa (O- GlcNAcase). En algunas realizaciones, la O- GlcNAcase es una O- GlcNAcase mamífera, tales como O- GlcNAcase de rata, ratón o humano.

25 En algunas realizaciones, uno o más de los compuestos según la invención muestran una mayor permeabilidad. La permeabilidad se puede evaluar utilizando una variedad de técnicas experimentales estándar, incluyendo sin limitación perfusión in situ, difusión tisular ex vivo, monocapas celulares in vitro (por ejemplo, células Caco- 2, células MDCK, células LLC- PK1), y membranas celulares artificiales (por ejemplo, el ensayo PAMPA), técnicas
30 adecuadas para medir la permeabilidad efectiva (P_{eff}) o la permeabilidad aparente (P_{app}) se revisan por ejemplo, por Volpe en *The AAPS Journal*, 2010, 12 (4), 670- 678. En algunas realizaciones, uno o más de los compuestos según la invención muestran permeabilidad aumentada cuando se prueban en uno o más de estos ensayos para la determinar P_{eff} o P_{app} . En algunas realizaciones, un compuesto que presenta permeabilidad aumentada presenta una

mayor absorción oral. En algunas realizaciones, un compuesto que presenta permeabilidad aumentada exhibe mayor penetración cerebral cuando se administra in vivo. En algunas realizaciones, un compuesto que presenta permeabilidad aumentada alcanza concentraciones cerebrales más altas cuando se administra in vivo. En algunas realizaciones, un compuesto

5 que presenta permeabilidad aumentada muestra una mayor relación cerebro/concentración plasmática cuando se administran in vivo. En algunas realizaciones, "permeabilidad aumentada" significa un aumento en la medida de P_{eff} o P_{app} de cualquier valor entre 10% y 100%, o de cualquier valor entero entre 10% y 100%, por ejemplo, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% o más de 100%, o un incremento de una vez, dos veces, o

10 tres veces, o más, en comparación con un compuesto de referencia adecuado divulgado por ejemplo en WO 2006/092049, o WO 2008/025170. Un compuesto de referencia adecuado puede ser, por ejemplo (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 5- (hidroximetil)- 25 2- propil- 5,6,7,7a-tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol, o (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (etilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol, o

15 (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol. En algunas realizaciones, "permeabilidad aumentada" significa un valor P_{app} medible (es decir, un valor mayor que cero) en el ensayo descrito a continuación para la determinación de P_{app} en células LLC- PK1. En algunas realizaciones, "permeabilidad aumentada" significa un valor P_{app} mayor que 2×10^{-6} cm/s en el ensayo descrito a

20 continuación para la determinación de P_{app} en células LLC- PK1. En algunas realizaciones, "permeabilidad aumentada" significa un valor P_{app} mayor que 1×10^{-6} cm/s en el ensayo descrito a continuación para la determinación de P_{app} en células LLC- PK1. En realizaciones alternativas, "permeabilidad aumentada" significa un valor P_{app} en el rango de 2×10^{-6} cm/s a 30×10^{-6} cm/s en el ensayo descrito a continuación para la determinación de P_{app} en células

25 LLC- PK1.

En algunas realizaciones, un compuesto según la invención presenta selectividad superior en la inhibición de una O- GlcNAcase. En algunas realizaciones, uno o más de los compuestos según la invención son más selectivos para una O- GlcNAcase sobre una β -hexosaminidasa. En algunas realizaciones, uno o más de los compuestos inhiben

30 selectivamente la actividad de una O- GlcNAcase de mamífero sobre una β - hexosaminidasa de mamífero. En algunas realizaciones, un inhibidor selectivo de una O- GlcNAcase no inhibe sustancialmente una β - hexosaminidasa. En algunas realizaciones, la β -hexosaminidasa es una β - hexosaminidasa de mamífero, tal como β - hexosaminidasa de rata, ratón o humano. Un compuesto que "selectivamente" inhibe una O- GlcNAcase es un

compuesto que inhibe la actividad o función biológica de una O- GlcNAcasa, pero no inhibe sustancialmente la actividad o función biológica de una β - hexosaminidasa. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un inhibidor selectivo de una O- GlcNAcasa inhibe selectivamente la escisión de 2- acetamido- 2- deoxi- β - D- glucopiranosida (O- GlcNAc) desde polipéptidos.

5 En algunas realizaciones, un inhibidor selectivo de una O- GlcNAcasa se une selectivamente a una GlcNAcasa. En algunas realizaciones, un inhibidor selectivo de una O- GlcNAcasa inhibe la hiperfosforilación de una proteína tau y/o inhibe las formaciones de NFT. Por "inhibe", "inhibición" o "inhibir" se entiende una disminución de cualquier valor entre 10% y 90%, o de cualquier valor entero entre 30% y 60% o más de 100%, o una disminución de 1

10 vez, 2 veces, 5 veces, 10 veces o más. Es de entenderse que la inhibición no requiere inhibición completa. En algunas realizaciones, un inhibidor selectivo de una O- GlcNAcasa eleva o aumenta los niveles de O- GlcNAc por ejemplo, niveles polipéptidos o proteicos modificados por O- GlcNAc- , en células, tejidos u órganos (por ejemplo, en tejido cerebral, muscular o de corazón (cardíaco)) y en animales. "Elevar" o "aumentar" se refiere a un

15 aumento en cualquier valor entre 10% y 90%, o en cualquier valor entero entre 30% y 60% o más de 100%, o un aumento de 1 vez, 2 veces , 5 veces, 10 veces, 15 veces, 25 veces, 50 veces, 100 veces o más. En algunas realizaciones, un inhibidor selectivo de una O- GlcNAcasa presenta una relación de selectividad, tal como se describe en la presente, en el rango de 10 a 100000, o en el rango de 100 a 100000, o en el rango de 1000 a 100000, o por

20 lo menos 10, 20 , 50, 100, 200, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 6000, 7000, 10.000, 25.000, 50.000, 75.000, o cualquier otro valor dentro o cerca del rango descrito.

Uno o más de los compuestos de la presente invención elevan los niveles de O- GlcNAc en polipéptidos o proteínas O- GlcNAc- modificados in vivo específicamente a

25 través de la interacción con una enzima O- GlcNAcasa, y son eficaces en el tratamiento de condiciones que requieren o responden a la inhibición de la actividad de O- GlcNAcasa.

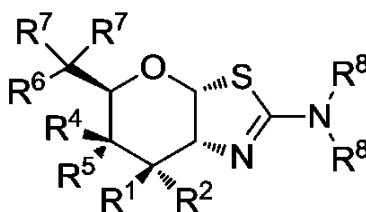
En algunas realizaciones, uno o más de los compuestos de la presente invención son útiles como agentes que producen una disminución en la fosforilación de tau y la formación de NFT. En algunas realizaciones, por lo tanto uno o más de los compuestos son útiles para

30 tratar la enfermedad de Alzheimer y tauopatías relacionadas. En algunas realizaciones, uno o más de los compuestos son por lo tanto capaces de tratar la enfermedad de Alzheimer y tauopatías relacionadas mediante la reducción de la fosforilación de tau y la reducción de la formación de NFT como resultado del aumento de los niveles de O- GlcNAc tau. En algunas realizaciones, uno o más de los compuestos producen un incremento en los niveles de la

modificación por O- GlcNAc en polipéptidos o proteínas O- GlcNAc- modificados, y por lo tanto son útiles para el tratamiento de trastornos que responden a tales incrementos en la modificación por O- GlcNAc; estos trastornos incluyen, sin limitación enfermedades neurodegenerativas, inflamatorias, cardiovasculares, e inmunoreguladoras. En algunas realizaciones, un compuesto también es útil como un resultado de otras actividades biológicas relacionadas con su capacidad para inhibir la actividad de las enzimas glicosidasas. En realizaciones alternativas, uno o más de los compuestos de la invención son herramientas valiosas en el estudio del papel fisiológico de O- GlcNAc a nivel celular y del organismo.

En realizaciones alternativas, la invención proporciona métodos para mejorar o elevar los niveles de modificación proteica mediante O- GlcNAc en sujetos animales, tales como sujetos veterinarios y humanos. En realizaciones alternativas, la invención proporciona métodos para inhibir de forma selectiva una enzima O- GlcNAcase en sujetos animales, tales como, veterinarios y humanos. En realizaciones alternativas, la invención proporciona métodos de inhibición de la fosforilación de polipéptidos tau, o inhibición de la formación de NFTs, en sujetos animales, tales como veterinarios y humanos.

En realizaciones específicas, la invención proporciona compuestos descritos generalmente por la Fórmula (I) y las sales, profármacos y formas enantioméricas de los mismos:



(I)

Como se indica en la fórmula (I): R¹ y R² pueden ser H, o R¹ puede ser H y R² pueden ser F, o R¹ puede ser F y R² pueden ser H, o R¹ puede ser OR³ y R² pueden ser H; cada R³ puede ser independientemente H o C₁₋₆ acilo; R₄ puede ser H y R⁵ pueden ser OR³, o R⁴ puede ser OR³ y R⁵ puede ser H; R₆ puede ser H, F, o OR³, cada R⁷ puede ser independientemente H o F; cada R⁸ puede seleccionarse independientemente del grupo que consta en: H, C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆ alquenoilo, C₃₋₆ alquinoilo y C₁₋₆ alcoxilo, donde el C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆ alquenoilo, C₃₋₆ alquinoilo, o C₁₋₆, alcoxilo puede estar sustituido opcionalmente desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de flúor OH, o metilo, o los dos grupos R⁸ pueden conectarse junto con el átomo de nitrógeno al cual se fijan para

formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o metilo, con la condición de que cuando R^6 es OR^3 , cada R_7 es H, y con la condición de que cualquiera R^1 o R^6 es distinto de OR^3 .

5 En algunas realizaciones, R^1 como se establece en la Fórmula (I) puede ser H, F, OH, o OC(O) R^9 , donde R^9 puede ser H, C_{1-6} alquilo, o C_{3-6} cicloalquilo. En algunas realizaciones, R^1 puede ser H, F o OH.

En algunas realizaciones, R^2 como se establece en la Fórmula (I) puede ser H o F.

En algunas realizaciones, R^3 como se establece en la Fórmula (I) puede ser H o
10 C(O) R^9 , donde R^9 puede ser H, C_{1-6} alquilo, o C_{3-6} cicloalquilo. En algunas realizaciones, R^3 puede ser H.

En algunas realizaciones, R^4 como se establece en la Fórmula (I) puede ser H, OH, o OC(O) R^9 , donde R^9 puede ser H, C_{1-6} alquilo, o C_{3-6} cicloalquilo. En algunas realizaciones, R^4 puede ser H u OH.

15 En algunas realizaciones, R^5 como se establece en la Fórmula (I) puede ser H, OH, o OC(O) R^9 , donde R^9 puede ser H, C_{1-6} alquilo, o C_{3-6} cicloalquilo. En algunas realizaciones, R^5 puede ser H o OH.

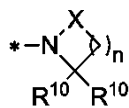
En algunas realizaciones, R^6 como se establece en la Fórmula (I) puede ser H, F, OH, o OC(O) R^9 , donde R^9 puede ser H, C_{1-6} alquilo, o C_{3-6} cicloalquilo. En algunas
20 realizaciones, R^6 puede ser H, F, u OH.

En algunas realizaciones, cada R^7 como se establece en la Fórmula (I) puede ser independientemente H o F.

En algunas realizaciones, cada R^8 como se establece en la Fórmula (I) puede ser de forma independiente H, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alqueno, C_{3-6} alquino o C_{1-6} alcoxi, donde el
25 C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alqueno, C_{3-6} alquino o C_{1-6} alcoxi pueden ser opcionalmente sustituidos desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o un grupo metilo. En algunas realizaciones, cada R^8 puede ser independientemente H, CH_3 , CH_2CH_3 , $(CH_2)_2CH_3$, $CH_2CH=CH_2$, o $CH_2C=CH$.

En algunas realizaciones, los dos grupos R^8 como se establece en la Fórmula (I)
30 pueden conectarse junto con el átomo de nitrógeno al cual se fijan para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente desde uno hasta el máximo número de sustituyentes con uno o más de fluoro, OH, o un grupo metilo.

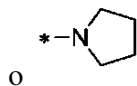
En algunas realizaciones, NR^8_2 según se establece en la fórmula (I), puede ser



opcionalmente sustituido donde X puede ser CR^{10}_2 , NR^{10} , O, C = O, O (C = O), (C = O) O, NR^{10} (C = O), o (C = O) NR^{10} ; donde cada R^{10} puede ser independientemente H o C_{1-4} alquilo y n puede ser un número entero entre 0 y 3. En algunas realizaciones, NR^{10}_2 puede ser 1- aziridinilo, 1- azetidinilo, 1- pirrolidinilo, 1- piperidinilo, 5 morfolin- 4- il, 1- piperiziny, azetidin- 2- ona- 1- ilo, pirrolidin- 2- ona- 1- ilo, o piperid- 2-



ona- 1- ilo opcionalmente sustituidos. En algunas realizaciones, NR^{10}_2 pueden ser



o

En realizaciones específicas de la invención, los compuestos según la fórmula (I) incluyen los compuestos descritos en la Tabla 1.

10

Tabla 1

1	(3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (etilamino)- 5- metil- 5,6,7,7a- tetrahydro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	
2	(3aR,5R,6S,7aR)- 2- (etilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahydro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
3	(3aR,5R,6S,7aR)- 5- (hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahydro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
4	(3aR,5R,6S,7aR)- 2- (dimetilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahydro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
5	(3aR,5R,6S,7aR)- 2- amino- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahydro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
6	(3aR,5R,6S,7aR)- 5- (hidroximetil)- 2- (propilamino)- 5,6,7,7a- tetrahydro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
7	(3aR,5R,6R,7R,7aR)- 2- (etilamino)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahydro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	

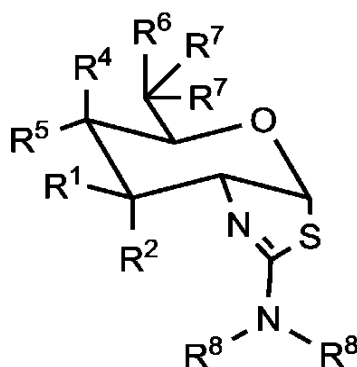
8	(3aR,5R,6R,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
9	(3aR,5R,6R,7R,7aR)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
10	(3aR,5R,6R,7R,7aR)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 2- (propilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
11	(3aR,5R,6R,7S,7aR)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
12	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (etilamino)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	
13	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	
14	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (alilamino)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	
15	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- amino- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	
16	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (azetidin- 1- yl)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	
17	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (fluorometil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	
18	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (fluorometil)- 2- (propilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	
19	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (etilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	

20	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5-(difluorometil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6,7- diol	
21	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (alilamino)- 5-(difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	
22	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- amino- 5-(difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	
23	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5-(difluorometil)- 2- (prop- 2- in- 1- ilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	
24	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (azetidin- 1- il)- 5 - (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	
25	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5-(difluorometil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	
26	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5-(difluorometil)- 2- (propilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	
27	(3aR,5S,6S,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
28	(3aR,5S,6S,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
29	(3aR,5S,6R,7R,7aR)- 5-(difluorometil)- 2- (etilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol	

30	(3aR,5R,6S,7R,7aR)- 7- fluoro- 5-(hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6- ol	
31	(3aR,5S,6R,7R,7aR)- 7- fluoro- 5-(fluorometil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6- ol	
32	(3aR,5S,6R,7R,7aR)- 5-(difluorometil)- 7- fluoro- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
33	(3aR,5S,6R,7S,7aR)- 5-(difluorometil)- 7- fluoro- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
34	(3aR,5R,6R,7S,7aR)- 2- (etilamino)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
35	(3aR,5R,6R,7S,7aR)- 2- (dimetilamino)- 7- fluoro- 5-(hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
36	(3aR,5R,6R,7S,7aR)- 7- fluoro- 5-(hidroximetil)- 2- (propilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6- ol	
37	(3aR,5R,6R,7S,7aR)- 7- fluoro- 5-(hidroximetil)- 2- (isobutilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6- ol	
38	(3aR,5S,6R,7R,7aR)- 5-(difluorometil)- 7- fluoro- 2- (((E)- 3-fluoro- 2- metilalil)amino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
39	(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (fluorometil)- 2- ((4- hidroxibut- 2- in- 1- il)amino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6,7- diol	
40	(3aR,5S,6S,7aR)- 2- ((2,2-difluoroethoxi)(metil)amino)- 5-(difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	

41	(3aR,5S,6R,7S,7aR)- 7- fluoro- 2- (3- fluoroazetidin- 1 - il)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	
42	(3aR,5R,6S,7S,7aR)- 2- (3,3- difluoroazetidin- 1 - il)- 7- fluoro- 5- metil - 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol	

[0056] Como se puede apreciar por un experto en la materia, la fórmula (I) también se puede representar alternativamente de la siguiente manera:



5

Como se utiliza en la presente las formas singulares "una", "y", y "el" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, "un compuesto" se refiere a uno o más de estos compuestos, mientras que "la enzima" incluye una enzima en particular, así como otros miembros de la familia y sus equivalentes como se

10 conocen por los expertos en la materia.

A lo largo de esta solicitud, se contempla que el término "compuesto" o "compuestos" se refiere a los compuestos mencionados en la presente, e incluye los precursores y derivados de los compuestos, incluyendo los derivados acilo- protegidos, y sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos, precursores, y sus derivados. La invención también incluye

15 profármacos de los compuestos, composiciones farmacéuticas que incluyen los compuestos y un vehículo farmacéuticamente aceptable, y composiciones farmacéuticas que incluyen profármacos de los compuestos y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más centros asimétricos y por lo tanto pueden presentarse como racematos y mezclas racémicas,

20 enantiómeros simples, mezclas diastereoméricas y diastereómeros individuales. Centros asimétricos adicionales pueden estar presentes dependiendo de la naturaleza de los diferentes

sustituyentes en la molécula. Cada centro asimétrico producirá manera independiente dos isómeros ópticos y se pretende que todos los posibles isómeros ópticos y diastereómeros en mezclas y compuestos puros o parcialmente puros se incluyan dentro del ámbito de esta invención. Todas las fórmulas, estructuras o los nombres de los compuestos descritos en esta

5 especificación que no especifican una estereoquímica particular, tienen el propósito de abarcar cualquiera y todos los isómeros existentes como se describió anteriormente y mezclas de los en cualquier proporción. Cuando se especifica la estereoquímica, la invención tiene la intención de abarcar este isómero particular en forma pura o como parte de una mezcla con otros isómeros en cualquier proporción.

10 Algunos grupos pueden ser opcionalmente sustituidos como se describe en la presente. Sustituyentes adecuados incluyen: H, alquilo (C_{1-6}), alquenilo (C_{2-6}), o alquinilo (C_{2-6}) cada uno de los cuales puede contener uno o más heteroátomos seleccionados de O, S, P, N, F, Cl, Br, I, o B, y cada uno de los cuales puede ser adicionalmente sustituido, por ejemplo, por = O, o formas opcionalmente sustituidas de acilo, alquilo, alquenilo, o alquinilo

15 y sus formas que contienen heteroátomos en las fracciones alquilo, alquenilo, o alquinilo. Otros sustituyentes adecuados incluyen = O, =NR, halo, CN, CF^3 , CHF_2 , NO_2 , OR, SR, NR_2 , N_3 , COOR, y CONR₂, donde R es H o alquilo, cicloalquilo, alquenilo, o alquinilo. Cuando el átomo sustituido es C, los sustituyentes pueden incluir, además de los sustituyentes enumerados anteriormente, halo, OOCR, NROCR, donde R es H o un sustituyente divulgado

20 anteriormente.

Por ejemplo, en la fórmula anterior (I), cada grupo C_{1-6} acilo, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, alquinilo C_{3-6} , o grupo C_{1-6} alcoxilo puede ser independientemente sustituido opcionalmente por uno o más sustituyentes. En algunas modalidades, cada grupo C_{1-6} acilo, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo, o C_{1-6} alcoxilo en la Fórmula (I) puede ser

25 sustituido por uno o más sustituyentes inorgánicos; fosforilo; halo; = O, = NR⁹; OR; C_{1-6} alquilo o C_{2-6} alquenilo que contiene opcionalmente uno o más P, N, O, S, N, F, Cl, Br, I, o B, y opcionalmente sustituido por halo, CN; carbonilo opcionalmente sustituido; NR⁹₂, C = NR⁹; un anillo carbocíclico o heterocíclico opcionalmente sustituido, donde R⁹ puede ser H, C_{1-6} alquilo, o C_{3-6} cicloalquilo. En realizaciones alternativas, cada C_{1-6} acilo, C_{1-6} alquilo,

30 C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo, o C_{1-6} alcoxilo puede ser sustituido opcionalmente desde uno hasta el número máximo de sustituyentes por uno o más de fluoro, OH, o metilo. En realizaciones alternativas, cada grupo C_{1-6} acilo, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo, y C_{1-6} alcoxilo opcionalmente sustituido en la Fórmula (I) puede

independientemente incluir uno o más heteroátomos seleccionados de P, O , S, N, F, Cl, Br, I, o B.

"Alquilo" se refiere a un grupo de hidrocarburos de cadena lineal o ramificada, que consiste únicamente de átomos de carbono e hidrógeno, que no contiene insaturación y que incluyen, por ejemplo, de uno a diez átomos de carbono, tales como 1, 2, 3, 4, 5 , 6, 7, 8, 9 ó 10 átomos de carbono, y que se fija al resto de la molécula por un enlace simple. A menos que se indique específicamente lo contrario en la especificación, el grupo alquilo puede ser opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes como se describe en la presente. A menos que se indique lo contrario expresamente en este documento, se entiende que la sustitución puede ocurrir en cualquier carbono del grupo alquilo.

[0063] "Alquenilo" se refiere a un grupo de hidrocarburos de cadena lineal o ramificada, que consiste únicamente de átomos de carbono e hidrógeno, que contienen al menos un enlace doble y que incluyen, por ejemplo, de dos a diez átomos de carbono, tales como 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 átomos de carbono, y el cual se fija al resto de la molécula por un enlace simple o un doble enlace. A menos que se indique lo contrario expresamente en la especificación, el grupo alquenilo puede ser sustituido opcionalmente por uno o más sustituyentes como se describe en la presente. A menos que se indique lo contrario expresamente en este documento, se entiende que la sustitución puede ocurrir en cualquier carbono del grupo alquenilo.

"Alquínilo" se refiere a un grupo de hidrocarburos de cadena lineal o ramificada, que consiste únicamente de átomos de carbono e hidrógeno, que contienen al menos un enlace triple e incluyendo, por ejemplo, de dos a diez átomos de carbono. A menos que se indique lo contrario expresamente en la especificación, el grupo alquénilo puede ser sustituido opcionalmente por uno o más sustituyentes como se describe en la presente.

"Ariilo" se refiere a un grupo fenilo, un anillo aromático incluyendo 6 átomos de carbono. A menos que se indique lo contrario expresamente en este documento, el término "arilo" se entiende que incluye grupos arilo opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes como se describe en la presente.

"Heteroarilo" se refiere a un grupo de anillo aromático único que contiene uno o más heteroátomos en el anillo, por ejemplo, N, O, S, incluyendo, por ejemplo, 5- 6 miembros, tal como por ejemplo 5 o 6 miembros. Ejemplos de grupos heteroarilo incluyen furano, tiofeno, pirrol, oxazol, tiazol, imidazol, pirazol, isoxazol, isotiazol, 1,2,3- oxadiazol, 1,2,3- triazol, 1,2,4,- triazol, 1,3,4- tiadiazol, tetrazol, piridina, piridazina, pirimidina, pirazina, 1,3,5- triazina, imidazol. A menos que se indique lo contrario expresamente en este documento, el

término "heteroarilo" se entiende que incluye grupos heteroarilo opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes como se describe en la presente.

"Acilo" se refiere a un grupo de la fórmula- $C(O)R_a$, donde R_a es un grupo C_{1-10} alquilo o C_{3-15} cicloalquilo como se describe en la presente. El grupo alquilo o cicloalquilo
5 puede ser opcionalmente sustituido como se describe en la presente.

"Alcoxilo" se refiere a un grupo de la fórmula - OR_b , donde R_b es un grupo alquilo C_{1-10} alquilo como se describe en la presente. El grupo alquilo puede opcionalmente sustituirse como se describe en la presente.

"Cicloalquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo monocíclico, bicíclico o tricíclico
10 monovalente estable que consta exclusivamente de átomos de carbono e hidrógeno, que tiene por ejemplo de 3 a 15 átomos de carbono, y que es saturado y fijado al resto de la molécula por un enlace simple. A menos que se indique lo contrario expresamente en este documento, el término "cicloalquilo" se entiende que incluye grupos cicloalquilo que están opcionalmente sustituidos como se describe en la presente.

15 "Halo" se refiere a bromo, cloro, fluoro, yodo, etc En algunas realizaciones, halógenos adecuados incluyen flúor o cloro.

En algunas realizaciones, dos grupos R^8 como se establece en la Fórmula (I) pueden estar conectados juntos con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo. En estas realizaciones, "anillo" se refiere a un grupo monocíclico estable que contiene
20 nitrógeno que tiene de 3 a 6 miembros que pueden ser saturados o monoinsaturados. En realizaciones alternativas, el anillo puede incluir átomos C, H y N. En otras realizaciones, el anillo puede incluir heteroátomos, por ejemplo, O y S. Ejemplos de un anillo en estas realizaciones incluyen: 1- aziridinilo, 1- azetidinilo, 1- pirrolidinilo, 2,5- dihidro- 1H- pirrol- 1- ilo, 1- piperidinilo, 1,2,3,6- tetrahidropiridin- 1- ilo, morfolin- 4- ilo, tiomorfolin- 4- ilo, 1-
25 piperizinilo, azetidin- 2- ona- 1- ilo, pirrolidin- 2- ona- 1- ilo, piperid- 2- ona- 1- ilo, 1,2- oxazetidin- 2- ilo, isoxazolidin- 2- ilo, y 1,2- oxazinan- 2- ilo. El anillo en estas realizaciones puede ser opcionalmente sustituido como se describe en la presente.

"Opcional" u "opcionalmente" significa que el evento descrito posteriormente de circunstancias puede o no ocurrir, y que la descripción incluye casos en que dicho evento o
30 circunstancia se produce una o más veces y casos en los que no. Por ejemplo, "alquilo opcionalmente sustituido" significa que el grupo alquilo puede o puede no ser sustituido y que la descripción incluye tanto grupos alquilo sustituidos y grupos alquilo sin sustitución, y que dichos grupos alquilo pueden ser sustituidos una o más veces. Ejemplos de grupos alquilo opcionalmente sustituidos incluyen, sin limitación, metilo, etilo, propilo, etc, e

incluyen cicloalquilos tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, etc, ejemplos de grupos alquenilo opcionalmente sustituidos incluyen alilo, crotilo, 2- pentenilo, 3- hexenilo, 2- ciclopentenilo, 2- ciclohexenilo, 2- ciclopentenilmetilo, 2- ciclohexenilmetilo, etc. En algunas realizaciones, grupos alquilo y alquenilo
5 opcionalmente sustituidos incluyen grupos C₁₋₆ alquilos o alquenos.

Indicaciones terapéuticas

La invención proporciona métodos para tratar las condiciones que son moduladas, directa o indirectamente, por una enzima O- GlcNAcase o por niveles proteicos O- GlcNAc-
10 modificados, por ejemplo, una condición que se ve beneficiada por la inhibición de una enzima O- GlcNAcase o por una elevación de los niveles proteicos O- GlcNAc- modificados. Estas condiciones incluyen, sin limitación, el glaucoma, la esquizofrenia, tauopatías, tales como la enfermedad de Alzheimer, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades
cardiovasculares, enfermedades asociadas con la inflamación, las enfermedades asociadas
15 con la inmunosupresión y cáncer. Uno o más de los compuestos de la invención también son útiles en el tratamiento de enfermedades o trastornos relacionados con la deficiencia o la sobre- expresión de la O- GlcNAcase o la acumulación o el depleción de O- GlcNAc, o cualquier otra enfermedad o trastorno responde a la terapia de inhibición glucosidasa. Estas enfermedades y trastornos incluyen, pero no se limitan a, el glaucoma, la esquizofrenia,
20 enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer (EA), o el cáncer. Estas enfermedades y trastornos pueden incluir enfermedades o trastornos relacionados con la acumulación o deficiencia en la enzima OGT. También se incluye un método de protección o tratamiento de las células diana que expresan proteínas que son modificadas por residuos O- GlcNAc, la desregulación de la modificación da como resultado la enfermedad o patología.
25 El término "tratamiento" como se usa en la presente, incluye el tratamiento, prevención y mejora.

En realizaciones alternativas, la invención proporciona métodos para mejorar o elevar los niveles de modificación proteica mediante O- GlcNAc en sujetos animales, tales como, sujetos veterinarios y humanos. Esta elevación de los niveles O- GlcNAc puede ser útil para
30 la prevención o el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, la prevención o el tratamiento de otras enfermedades neurodegenerativas (enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington), el suministro de efectos neuroprotectores, la prevención de daños al tejido cardíaco, y el tratamiento de enfermedades asociadas con la inflamación o inmunosupresión.

En realizaciones alternativas, la invención proporciona métodos para inhibir de forma selectiva una enzima O- GlcNAcase en sujetos animales, tales como sujetos veterinarios y humanos.

En realizaciones alternativas, la invención proporciona métodos para inhibir
5 fosforilación de polipéptidos tau, o inhibir la formación de ONFs, en sujetos animales, como por ejemplo, sujetos veterinarios y humanos. En consecuencia, un compuesto de la invención puede ser utilizado para el estudio y tratamiento de la EA y otras tauopatías.

En general, los métodos de la invención se efectúan mediante la administración de un compuesto según la invención a un sujeto que lo necesita, o al colocar en contacto una célula
10 o una muestra con un compuesto según la invención, por ejemplo, una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto según la fórmula (I). Más particularmente, son útiles en el tratamiento de un trastorno en el que está implicada la regulación de la modificación proteica por O- GlcNAc, o cualquier otra condición como se describe en la presente. Los estados patológicos de interés incluyen
15 enfermedad de Alzheimer (EA) y tauopatías neurodegenerativas relacionadas, en las que participa la hiperfosforilación anormal de la proteína tau asociada a microtúbulos en la patogénesis de la enfermedad. En algunas realizaciones, un compuesto puede ser usado para bloquear la hiperfosforilación de tau mediante el mantenimiento de niveles elevados de O- GlcNAc en tau, proporcionando así un beneficio terapéutico.

20 La eficacia de un compuesto en el tratamiento de la patología asociada con la acumulación de la especie tau tóxica (por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer y otras tauopatías) se pueden confirmar al probar la capacidad de un compuesto para bloquear la formación de especies tau tóxicas en modelos celulares y/o transgénicos establecidos de la enfermedad.

25 Las tauopatías que pueden ser tratadas con un compuesto de la invención incluyen: enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), esclerosis lateral amiotrófica con deterioro cognitivo (ALSci), demencia argirofílica granulosa, enfermedad de Bluit, degeneración corticobasal (DCB), demencia pugilística, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, síndrome de Down, demencia británica familiar, demencia danés familiar,
30 demencia frontotemporal con parkinsonismo ligado al cromosoma 17 (FTDP- 17), enfermedad de Gerstmann- Straussler- Scheinker, parkinsonismo Guadalupe, enfermedad de Hallevorden- Spatz (neurodegeneración con acumulación cerebral de hierro tipo 1), atrofia sistémica múltiple, distrofia miotónica, enfermedad de Niemann- Pick (tipo C), degeneración pallido- ponto- nigral, complejo parkinsonismo- demencia de Guam, enfermedad de Pick

(PiD), parkinsonismo post- encefálico (PPE) , enfermedades priónicas (incluyendo la enfermedad de Creutzfeldt- Jakob (ECJ), enfermedad de Creutzfeldt- Jakob variante (ECJv), Insomnio Familiar Fatal, y Kuru), gliosis supercortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva (PSP), síndrome de Richardson, panencefalitis esclerosante subaguda, demencia senil del tipo ovillo, y glaucoma.

Uno o más de los compuestos de esta invención también son útiles en el tratamiento de condiciones asociadas con daño tisular o estrés, estimulación de células, o la promoción de la diferenciación de células. En consecuencia, en algunas realizaciones, un compuesto de esta invención puede ser utilizado para proporcionar un beneficio terapéutico en una variedad de condiciones o procedimientos médicos que implican estrés en el tejido cardíaco, incluyendo pero no limitado a: isquemia, hemorragia, choque hipovolémico, infarto del miocardio, un procedimiento de cardiología de intervención, cirugía de derivación cardiaca, terapia fibrinolítica, angioplastia y colocación de stent.

La eficacia de un compuesto en el tratamiento de la patología asociada con el estrés celular (incluyendo isquemia, hemorragia, choque hipovolémico, infarto de miocardio y otras enfermedades cardiovasculares) se puede confirmar al probar la capacidad de un compuesto para prevenir el daño celular en ensayos de estrés celular establecidos, y para prevenir daño en los tejidos y promover la recuperación funcional en modelos animales de isquemia-reperfusión, y trauma- hemorragia.

Los compuestos que inhiben selectivamente la actividad de O- GlcNAcase pueden utilizarse para el tratamiento de enfermedades que están asociadas con la inflamación, incluyendo pero sin limitar a, enfermedades inflamatorias o alérgicas como el asma, la rinitis alérgica, enfermedades de hipersensibilidad pulmonar, neumonitis por hipersensibilidad, neumonías eosinofílicas, hipersensibilidad de tipo retardado, aterosclerosis, enfermedad pulmonar intersticial (EPI) (por ejemplo, fibrosis pulmonar idiopática, o EPI asociada con artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, espondilitis anquilosante, esclerosis sistémica, síndrome de Sjögren, polimiositis o dermatomiositis), anafilaxia sistémica o respuestas de hipersensibilidad, alergias a fármacos, alergias a las picaduras de insectos, enfermedades autoinmunes, como artritis reumatoide, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, síndrome de Guillain- Barré, lupus eritematoso sistémico, miastenia grave, glomerulonefritis, tiroiditis autoinmune, rechazo de injertos, incluyendo el rechazo del aloinjerto o enfermedad de injerto contra huésped, enfermedades inflamatorias del intestino, tales como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, espondiloartropatías, esclerodermia, psoriasis (incluyendo psoriasis mediada por células T) y dermatosis inflamatorias como dermatitis, eczema,

dermatitis atópica, dermatitis alérgica de contacto, urticaria, vasculitis (ej., vasculitis necrotizante, cutánea y por hipersensibilidad), miotitis eosinofílica, fascitis eosinofílica y cánceres.

Además, los compuestos que afectan los niveles de modificación proteica mediante O- GlcNAc pueden ser utilizados para el tratamiento de enfermedades asociadas con la inmunosupresión, como en las personas que reciben quimioterapia, radioterapia, curación mejorada de heridas y tratamiento de quemaduras, terapia para la enfermedad autoinmune u otra terapia con fármacos (por ejemplo, terapia con corticosteroides) o la combinación de los fármacos convencionales utilizados en el tratamiento de enfermedades autoinmunes y rechazo de injertos/trasplantes, lo que causa inmunosupresión, o inmunosupresión debida a una deficiencia congénita en la función del receptor u otras causas.

Uno o más de los compuestos de la invención pueden ser útiles para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, incluyendo enfermedad de Parkinson y enfermedad de Huntington. Otras afecciones que pueden tratarse son aquellas activadas, afectadas, o en cualquier otra forma correlacionadas con los niveles de modificación proteica mediante O- GlcNAc pos- traducción. Se espera que uno o más de los compuestos de esta invención puedan ser útiles para el tratamiento de estas condiciones y, en particular, pero no limitado a, lo siguiente para lo cual una asociación con niveles de O- GlcNAc sobre proteínas se ha establecido: el rechazo del injertos, en particular, pero sin limitar a los trasplantes de órganos sólidos, tales como el corazón, pulmón, hígado, riñón y páncreas (por ejemplo, aloinjertos de riñón y pulmón), cáncer, en particular, pero sin limitar a cáncer de mama, pulmón, próstata, páncreas, colon, recto, vejiga, riñón, ovario, así como linfoma no- Hodgkin y melanoma, epilepsia, dolor, fibromialgia, o un accidente cerebrovascular, por ejemplo, para la neuroprotección después de un accidente cerebro vascular.

25

Composiciones Farmacéuticas y Veterinarias, Dosis y Administración

Las composiciones farmacéuticas incluyendo los compuestos según la invención, o para su uso según la invención, están contempladas dentro del alcance de la invención. En algunas realizaciones, se proporcionan composiciones farmacéuticas incluyendo una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula (I).

30

Los compuestos de la fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables, enantiómeros, solvatos y derivados son útiles porque tienen actividad farmacológica en animales, incluyendo los seres humanos. En algunas realizaciones, uno o más de los compuestos según la invención son estables en plasma, cuando se administran a un sujeto.

- En algunas realizaciones, un compuesto según la invención, o para su uso según la invención, puede ser proporcionado en combinación con otros agentes activos o composiciones farmacéuticas donde tal tratamiento combinado es útil para modular la actividad de O- GlcNAcase actividad, por ejemplo, para tratar enfermedades
- 5 neurodegenerativas, inflamatorias, cardiovasculares o inmunomoduladoras, o cualquier otra condición descrita en este documento. En algunas realizaciones, un compuesto según la invención, o para su uso según la invención, puede ser proporcionado en combinación con uno o más agentes útiles en la prevención o el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Ejemplos de tales agentes incluyen, sin limitación,
- 10 • Los inhibidores de la acetilcolina esterasa (IACEs), como Aricept® (Donepezil), Exelon® (Rivastigmina), Razadyne® (Razadyne ER®, Reminyl®, Nivalin®, Galantamina), Cognex® (Tacrina), Dimebon, Huperzina A, Phenserina, Debio- 9902 SR (ZT- 1 SR), Zanaflex® (TAK0147), ganstigmina, NP7557, etc;
- Antagonistas de los receptores NMDA como Namenda® (Axura®, Akatinol®,
- 15 Ebixa®, Memantina), Dimebon, SGS 742, Neramexano, Debio- 9902 SR (ZT- 1 SR), etc;
- Inhibidores de la gamma- secretasa y/o moduladores tales como Flurizan™ (Tarenflurbil, MPC- 7869, R- flurbiprofeno), LY450139, MK 0752, E2101, BMS- 289948, BMS- 299897, BMS- 433796, LY- 411575, GSI- 136 , etc;
- Inhibidores de la beta- secretasa tales como ATG- Z1, el CTS- 21166, etc;
- 20 • Activadores de la alfa- secretasa, tales como NGX267, etc;
- Inhibidores de agregación y/o fibrilización β - amiloide tales como Alzhemed™ (3APS, Tramiprosato, ácido 3- amino- 1- propanosulfónico), AL- 108, AL 208, AZD- 103, PBT2, Cereact, ONO- 2506PO, PPI- 558, etc;
- Inhibidores de la agregación de tau como el azul de metileno, etc;
- 25 • Estabilizadores de microtúbulos tales como AL- 108, AL- 208, el paclitaxel, etc;
- Inhibidores RAGE, tales como TTP488, etc;
- Antagonistas de receptores 5- HT1a, tales como Xaliproden, Leczotan, etc;
- 5- HT4 antagonistas de los receptores, tales como PRX- 03410, etc;
- Inhibidores de la quinasa tales como SRN- 003- 556, amfurindamida, LiCl,
- 30 AZD1080, NP031112, SAR- 502250, etc;
- Anticuerpos anti- AB monoclonales humanizados tales como Bapineuzumab (AAB- 001), LY2062430, RN1219, ACU- 5A5, etc;
- Vacunas amiloides como AN- 1792, ACC- 001, etc;

- Agentes neuroprotectores tales como Cerebrolisina, AL- 108, AL- 208, Huperzina A, etc;
- Antagonistas de los canales de calcio tipo L- tales como MEM- 1003, etc;
- Antagonistas de los receptores nicotínicos, tales como AZD3480, GTS- 21, etc;
- 5 • Agonistas de los receptores nicotínicos, tales como MEM 3454, Nefiracetam, etc;
- Agonistas de los receptores activados por proliferadores de la peroxisoma (PPAR) gamma como Avandia ® (Rosglitazona), etc;
- Inhibidores de la Fosfodiesterasa IV (PDE4), tales como MK- 0952, etc;
- Terapia de reemplazo hormonal, como el estrógeno (Premarin), etc;
- 10 • Inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO) tales como NS2330, Rasagilina (Azilect ®), TVP- 1012, etc;
- Moduladores de los receptores AMPA tales como Ampalex (CX 516), etc;
- Los factores de crecimiento nervioso o potenciadores NGF, tales como CERE- 110 (AAV- NGF), T- 588, T- 817MA, etc;
- 15 • Agentes que impiden la liberación de la hormona luteinizante (HL) por la glándula pituitaria, como leuoprolida (VP- 4896), etc;
- Moduladores del receptor GABA tal como AC- 3933, NGD 97- 1, CP- 457920, etc;
- Agonistas inversos de receptores de benzodiazepina tal como SB- 737 552 (S- 8510), AC- 3933, etc;
- 20 • Agentes de liberación de noradrenalina tales como T- 588, T- 817MA, etc

Se debe entender que la combinación de compuestos según la invención, o para utilizar según la invención, con agentes de Alzheimer no se limita a los ejemplos descritos en este documento, sino que incluye una combinación con cualquier agente útil para el

25 tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. La combinación de compuestos según la invención, o para su uso según la invención, y otros agentes de Alzheimer puede administrarse por separado o en conjunto. La administración de un agente puede ser anterior a, durante, o posterior a la administración de otro(s) agente(s).

En realizaciones alternativas, un compuesto puede ser suministrado como un

30 "profármaco" o formas protegidas, que liberan el compuesto después de la administración a un sujeto. Por ejemplo, un compuesto que puede llevar a un grupo protector que se separa por hidrólisis en los fluidos corporales, por ejemplo, en el torrente sanguíneo, liberando así la sustancia activa o se oxida o se reduce en los fluidos corporales para liberar el compuesto. En consecuencia, un "profármaco" indica un compuesto que se puede convertir bajo condiciones

fisiológicas o por solvólisis en un compuesto biológicamente activo de la invención. Por lo tanto, el término "profármaco" se refiere a un precursor metabólico de un compuesto de la invención que es farmacéuticamente aceptable. Un profármaco puede ser inactivo cuando se administra a un sujeto que lo necesita, pero se convierte *in vivo* en un compuesto activo de la invención. Los profármacos suelen transformarse rápidamente *in vivo* para proporcionar el compuesto de la invención, por ejemplo, mediante hidrólisis en sangre. El compuesto profármaco a menudo ofrece ventajas de solubilidad, compatibilidad con tejidos o de liberación retardada en un sujeto.

El término "profármaco" también se utiliza para incluir cualquier vehículo covalentemente enlazado que libera el compuesto activo de la invención *in vivo* cuando tal profármaco se administra a un sujeto. Profármacos de un compuesto de la invención pueden prepararse mediante la modificación de grupos funcionales presentes en el compuesto de la invención de tal manera que las modificaciones son escindidas, bien sea en la manipulación rutinaria o *in vivo*, al compuesto precursor de la invención. Los profármacos incluyen compuestos de la invención, donde un grupo hidroxilo, amino o mercapto se une a cualquier grupo que, cuando se administra el profármaco del compuesto de la invención a un sujeto mamífero, se escinde para formar un grupo hidroxilo libre, amino libre, o mercapto libre, respectivamente. Ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, acetato, formiato y derivados de benzoato del alcohol y acetamida, formamida, y los derivados de benzamida de grupos funcionales amina en uno o más de los compuestos de la invención y similares.

Un análisis de profármacos puede encontrarse en Smith and Williams' Introduction to the Principles of Drug Design," H.J. Smith, Wright, segunda edición, Londres (1988); Bundgard, H., *Design of Prodrugs* (1985), pp 7- 9, 21- 24 (Elsevier, Amsterdam); La práctica de Química Medicinal, Camille G. Wermuth, capítulo 31, (Academic Press, 1996);. A Textbook of Drug Design and Development, P. Krogsgaard - Larson y Bundgaard H., eds. Capítulo 5, 113 pgs 191 (Harwood Academic Publishers, 1991);. Higuchi, T., "Pro- drugs as Novel Delivery Systems," ACS Simposio, vol. 14, o en Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association y Pergamon Press, 1987, todos los cuales están incorporados en su totalidad por referencia en este documento.

Formas adecuadas de profármacos de uno o más de los compuestos de la invención incluyen realizaciones en las que uno o más R^3 como se establece en la Fórmula (I) (CO), donde R es alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, o heteroarilo opcionalmente sustituidos. En estos casos, los grupos éster pueden ser hidrolizados *in vivo* (por ejemplo, en los fluidos corporales), liberando los compuestos activos en los cuales cada R^3 es H. Realizaciones

preferidas de profármacos de la invención incluyen compuestos de la fórmula (I) en donde uno o más R^3 es $C(O)CH_3$.

Los compuestos según la invención, o para su uso según la invención, se pueden proporcionar solos o en combinación con otros compuestos en presencia de un liposoma, un
5 adyuvante, o cualquier otro vehículo farmacéuticamente aceptable, diluyente o excipiente, en una forma adecuada para su administración a un sujeto tal como un mamífero, por ejemplo, humanos, vacas, ovejas, etc. Si se desea, el tratamiento con un compuesto según la invención puede ser combinado con más terapias tradicionales y existentes para las indicaciones terapéuticas descritas en este documento. Los compuestos según la invención se pueden
10 proporcionar de manera crónica o intermitente. Administración "Crónica" se refiere a la administración del compuesto o compuestos en un modo continuo en lugar de un modo agudo, con el fin de mantener el efecto terapéutico inicial (actividad) durante un período prolongado de tiempo. Administración "intermitente" es un tratamiento que no es consecutivamente hecho sin interrupción, sino más bien es de naturaleza cíclica. Los términos
15 "administración", "administrable", o "administrar" como se utilizan en la presente, deben entenderse en el sentido de proporcionar un compuesto de la invención al sujeto en necesidad de tratamiento.

"Vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptables" incluye sin limitación, cualquier adyuvante, vehículo, excipiente, lubricante, agente edulcorante,
20 diluyente, conservante, tinte/colorante, mejorador del sabor, surfactante, agente humectante, dispersante, agente de suspensión, estabilizador, agente isotónico, solvente, o emulsionante que ha sido aprobado, por ejemplo, por la Administración de Alimentos y Fármacos u otra agencia gubernamental como aceptable para su uso en humanos o animales domésticos.

Un compuesto de la presente invención puede administrarse en forma de una sal
25 farmacéuticamente aceptable. En tales casos, las composiciones farmacéuticas según esta invención pueden comprender una sal de tal compuesto, preferentemente una sal fisiológicamente aceptable, las cuales son conocidas en el estado de la técnica. En algunas realizaciones, el término "sal farmacéuticamente aceptable" como se utiliza en la presente, se refiere a un ingrediente activo que comprende compuestos de la fórmula I utilizado en la
30 forma de una sal de los mismos, especialmente cuando la forma de sal confiere al ingrediente activo propiedades farmacocinéticas mejoradas en comparación con la forma libre del ingrediente activo u otra forma de sal previamente divulgada.

Una "sal farmacéuticamente aceptable" incluye ambas las sales de adición de ácidos y bases. Una "sal de adición ácida farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que

retienen la eficacia biológica y propiedades de las bases libres, que no son biológicamente o de otra manera indeseables, y que se forman con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p- toluensulfónico, ácido salicílico, y similares.

Una "sal de adición básica farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que retienen la eficacia biológica y propiedades de los ácidos libres, que no son biológicamente o de otra manera indeseables. Estas sales se preparan a partir de la adición de una base inorgánica o una base orgánica al ácido libre. Sales derivadas de bases inorgánicas incluyen, pero no se limitan a, las sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso, aluminio y similares. Sales inorgánicas preferidas son las sales de amonio, sodio, potasio, calcio y magnesio. Las sales derivadas a partir de bases orgánicas incluyen, pero no se limitan a, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas incluyendo aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas y resinas básicas de intercambio de iones, tales como isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, 2- dimetilaminoetanol, 2- dietilaminoetanol, dicitclohexilamina, lisina, arginina, histidina, la cafeína, procaína, hidrabamina, colina, betaína, etilendiamina, glucosamina, metilglucamina, teobromina, purinas, piperazina, piperidina, N- etilpiperidina, resinas de poliamida y similares. Baes orgánicas particularmente preferidas son isopropilamina, dietilamina, etanolamina, trimetilamina, dicitclohexilamina, colina y cafeína.

Así, el término "sal farmacéuticamente aceptable" abarca todas las sales aceptables incluyendo pero sin limitar a acetato, lactobionato, bencenosulfonato, laurato, benzoato, malato, bicarbonato, maleato, bisulfato, mandelato, bitartarate, mesilato, borato, bromuro de metilo, bromuro, metilnitrito, edetato de calcio, metilsulfato, camsilato, mucato, carbonato, napsilato, cloruro, nitrato, clavulanato, N- metilglucamina, citrato, sal de amonio, dihidrocloruro, oleato, edetato, oxalato, edisilato, pamoato (embonato), estolato, palmitato, esilato, pantotenato, fumarato, fosfato/difosfato, gluceptato, poligalacturonato, gluconato, salicilato, glutamato, estearato, glicolilarsanilato, sulfato, hexilresorcinato, subacetato, hidradamina, succinato, hidrobromuro, tanato, hidrocloruro, tartrato, hidroxinaftoato, teoclato, yoduro, tosilato, isotionato, trietioduro, lactato, panoato, valerato, y similares.

Las sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto de la presente invención pueden ser utilizadas como una dosis para la modificación de las características de solubilidad o hidrólisis, o se pueden utilizar en formulaciones de liberación sostenida o de profármacos. Además, las sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto de esta
5 invención pueden incluir aquellas formadas a partir de cationes tales como sodio, potasio, aluminio, calcio, litio, magnesio, zinc, y a partir de las bases tales como amoníaco, etilendiamina, N- metil- glutamina, lisina, arginina, ornitina, colina, N,N'- dibenciletileno- diamina, cloroprocaína, dietanolamina, procaína, N- bencilfenetil- amina, dietilamina, piperazina, tris(hidroximetil)aminometano e hidróxido de tetrametilamonio.

10 Las formulaciones farmacéuticas típicamente incluirán uno o más vehículos aceptables para el modo de administración de la preparación, ya sea por inyección, inhalación, administración tópica, lavado, u otros modos adecuados para el tratamiento de elección. Los vehículos adecuados son aquellos conocidos en la técnica para utilizar en tales modos de administración.

15 Composiciones farmacéuticas adecuadas pueden ser formuladas mediante medios conocidos en el estado de la técnica y su modo de administración y dosis determinadas por el médico experto. Para la administración parenteral, un compuesto puede disolverse en agua estéril o solución salina o un vehículo farmacéuticamente aceptable utilizado para la administración de compuestos no solubles en agua tales como los utilizados para la vitamina
20 K. Para la administración enteral, el compuesto puede administrarse en una tableta, cápsula o puede disolverse en forma líquida. La tableta o cápsula puede ser de cubierta entérica, o en una formulación para liberación sostenida. Muchas formulaciones adecuadas son conocidas, incluyendo, micropartículas poliméricas o proteicas que encapsulan un compuesto para ser liberado, ungüentos, geles, hidrogeles, o soluciones que se pueden utilizar por vía tópica o
25 local para administrar un compuesto. Un parche de liberación sostenida o implante puede ser empleado para proporcionar una liberación durante un período prolongado de tiempo. Muchas de las técnicas conocidas para los profesionales calificados se describen en *Remington: the Science & Practice of Pharmacy* de Alfonso Gennaro, 20 ed, Williams & Wilkins,(2000). Las formulaciones para la administración parenteral pueden, por ejemplo,
30 contener excipientes, polialquilenglicoles tales como polietilenglicol, aceites de origen vegetal, o naftalenos hidrogenados. Pueden usarse polímeros de lactida biocompatibles y biodegradables, copolímeros de lactida/glicólido, para controlar la liberación de un compuesto. Otros sistemas de liberación parenteral potencialmente útiles para compuestos moduladores incluyen partículas de copolímeros de etileno- acetato de vinilo, bombas

osmóticas, sistemas de infusión implantables, y liposomas. Las formulaciones para inhalación pueden contener excipientes, por ejemplo, lactosa, o pueden ser soluciones acuosas que contienen, por ejemplo, éter de polioxietileno- 9- laurilo, glicocolato y desoxicolato, o pueden ser soluciones oleosas para la administración en forma de gotas nasales, o como un gel.

5 Un compuesto o una composición farmacéutica según la presente invención se puede administrar por vía oral o no oral, por ejemplo, inyección o infusión intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, intracisternal, inyección subcutánea, rutas transdérmica o transmucosal. En algunas realizaciones, un compuesto o una composición farmacéutica según esta invención, o para su uso en esta invención pueden administrarse por medio de un
10 dispositivo médico o dispositivo tal como un implante, injerto, prótesis, stent, etc. Los implantes se pueden elaborar para contener y liberar dichos compuestos o composiciones. Un ejemplo podría ser un implante hecho de un material polimérico adaptado para liberar el compuesto en un período de tiempo. Un compuesto puede ser administrado solo o como una mezcla con un vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, como formulaciones
15 sólidas tales como comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos, etc.; formulaciones líquidas tales como jarabes, inyecciones, etc.; inyecciones, gotas, supositorios, óvulos. En algunas realizaciones, los compuestos o composiciones farmacéuticas según esta invención, o para su uso en esta invención pueden ser administrados por inhalación, o por rutas nasal, vaginal, rectal, sublingual o tópica y pueden formularse, solos o conjuntamente, en formulaciones de
20 dosificación unitaria adecuadas que contienen vehículos y adyuvantes farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales apropiados para cada ruta de administración.

 Un compuesto de la invención se puede utilizar para tratar animales, incluyendo ratones, ratas, caballos, vacas, ovejas, perros, gatos y monos. Sin embargo, un compuesto de la invención también puede ser utilizado en otros organismos, tales como las especies de aves
25 (por ejemplo, pollos). Uno o más de los compuestos de la invención también pueden ser eficaces para utilizar en humanos. El término "sujeto" o, alternativamente, en adelante referido como "paciente" se utiliza para hacer referencia a un animal, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un humano, que ha sido objeto de tratamiento, observación o experimentación. Sin embargo, uno o más de los compuestos, métodos y las composiciones
30 farmacéuticas de la presente invención pueden ser utilizados en el tratamiento de los animales. En consecuencia, como se usa en la presente, un "sujeto" puede ser un ser humano, primate no humano, rata, ratón, vaca, caballo, cerdo, oveja, cabra, perro, gato, etc. El sujeto puede tener o estar en riesgo de tener una condición que requiere la modulación de la actividad de O- GlcNAcasa.

Una "cantidad efectiva" de un compuesto según la invención incluye una cantidad terapéuticamente efectiva o una cantidad profilácticamente efectiva. Una "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad efectiva, a dosis y durante periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico deseado, tal como la inhibición de una O- GlcNAcase, elevación de los niveles de O- GlcNAc, inhibición de la fosforilación de tau, o cualquier condición descrita en la presente. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto puede variar en función de factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, sexo y peso del individuo, y la capacidad del compuesto para producir la respuesta deseada en el individuo. Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Una cantidad terapéuticamente eficaz es aquella en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial del compuesto se ve compensado por los efectos terapéuticamente benéficos. Una "cantidad profilácticamente efectiva" se refiere a una cantidad efectiva, a dosis y durante periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado profiláctico deseado, tal como la inhibición de una O- GlcNAcase, la elevación de los niveles de O- GlcNAc, la inhibición de la fosforilación de tau, o cualquier condición descrita en la presente. Por lo general, una dosis profiláctica se utiliza en sujetos con anterioridad o en una etapa temprana de la enfermedad, de modo que una cantidad profilácticamente efectiva puede ser menor que una cantidad terapéuticamente efectiva. Un rango apropiado para cantidades terapéuticamente o profilácticamente efectivas de un compuesto puede ser cualquier número entero desde 0.1 nM- 0.1 M, 0.1 nM- 0,05 M, 0,05 nM- 15 uM o 0,01 nM- 10 uM.

En realizaciones alternativas, en el tratamiento o prevención de condiciones que requieren la modulación de la actividad de O- GlcNAcase, un nivel de dosificación apropiado será generalmente de 0,01 a 500 mg por kg de peso corporal por día, y se puede administrar en una única dosis o dosis múltiples. En algunas realizaciones, el nivel de dosificación será de 0,1 a 250 mg/kg aproximadamente por día. Se entenderá que el nivel específico de dosificación y la frecuencia de dosificación para cualquier paciente particular puede variar y dependerá de una variedad de factores incluyendo actividad del compuesto específico utilizado, estabilidad metabólica y duración de la acción de ese compuesto, edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, modo y momento de la administración, tasa de excreción, combinación de fármacos, la severidad de la condición particular, y el paciente sometido a terapia.

Es de señalar que los valores de dosificación pueden variar según la severidad de la condición a ser aliviada. Para cualquier sujeto particular, regímenes de dosificación específicos se pueden ajustar en el tiempo según la necesidad individual y el criterio

profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones. Los rangos de dosificación establecidos en la presente son de ejemplo solamente y no limitan los rangos de dosificación que pueden ser seleccionados por los médicos. La cantidad del compuesto activo en la composición puede variar en función de factores tales como el estado de la enfermedad, edad, sexo y peso del sujeto. Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, se puede administrar un único bolo, se pueden administrar varias dosis divididas a través del tiempo o la dosis puede ser reducida o aumentada proporcionalmente según lo indicado por las exigencias de la situación terapéutica. Puede ser ventajoso formular composiciones parenterales en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. En general, los compuestos de la invención deben ser usados sin causar toxicidad sustancial, y tal como se describe en la presente, uno o más de los compuestos presentan un perfil de seguridad adecuado para su uso terapéutico. La toxicidad de un compuesto de la invención puede determinarse usando técnicas estándar, por ejemplo, mediante pruebas en cultivos celulares o animales de experimentación y determinando el índice terapéutico, es decir, la relación entre la LD50 (la dosis letal al 50% de la población) y la DL100 (la dosis letal para el 100% de la población). En algunas circunstancias, sin embargo, como en condiciones de enfermedad grave, puede ser necesario administrar excesos sustanciales de las composiciones.

En los compuestos de la fórmula genérica (I), los átomos pueden exhibir su abundancia isotópica natural, o uno o más de los átomos pueden ser artificialmente enriquecidos en un isótopo particular que tiene el mismo número atómico, pero una masa atómica o número de masa diferente de la masa atómica o número de masa predominantemente encontrado en la naturaleza. La presente invención incluye todas las variaciones isotópicas adecuadas de los compuestos de fórmula genérica (I). Por ejemplo, diferentes formas isotópicas del hidrógeno (H) incluyen protio (H), deuterio (H) y tritio (^3H). Protio es el isótopo de hidrógeno predominante encontrado en la naturaleza. El enriquecimiento para deuterio puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas, como el aumento de vida media *in vivo* o la reducción de los requerimientos de dosificación, o puede proporcionar un compuesto útil como un estándar para la caracterización de las muestras biológicas. Compuestos isotópicamente enriquecidos dentro de fórmula genérica (I) pueden prepararse sin experimentación indebida mediante técnicas convencionales bien conocidas por los expertos en el estado de la técnica o mediante procedimientos análogos a los descritos

en los Esquemas y Ejemplos en la presente utilizando reactivos y/o intermedios isotópicamente enriquecidos apropiados.

Otros Usos y Ensayos

5 Un compuesto de la fórmula (I) se puede utilizar en los ensayos de screening de compuestos que modulan la actividad de las enzimas glicosidasas, preferentemente la enzima O- GlcNAcase. La capacidad de un compuesto de prueba para inhibir la escisión dependiente de O- GlcNAcase de O- GlcNAc a partir de un sustrato modelo se puede medir utilizando cualquiera de los ensayos, tal como se describe en la presente o conocidos por un experto en
10 la materia. Por ejemplo, se puede utilizar un ensayo basado en fluorescencia o UV conocido en el estado de la técnica. Un "compuesto de prueba" es cualquier compuesto químico de origen natural o derivado de manera artificial. Los compuestos de prueba pueden incluir, sin limitación, péptidos, polipéptidos, moléculas orgánicas sintetizadas, moléculas orgánicas naturales, y moléculas de ácido nucleico. Un compuesto de prueba puede "competir" con un
15 compuesto conocido tal como un compuesto de la fórmula (I), por ejemplo, al interferir con la inhibición de la escisión dependiente de O- GlcNAcase de O- GlcNAc o al interferir con cualquier respuesta biológica inducida por un compuesto de la fórmula (I).

 En general, un compuesto de prueba puede presentar cualquier valor entre 10% y 200%, o más del 500% para modulación en comparación con un compuesto de fórmula (I) u
20 otro compuesto de referencia. Por ejemplo, un compuesto de prueba puede exhibir por lo menos un número entero positivo o negativo desde 10% a 200% de modulación, o por lo menos un número entero positivo o negativo de 30% a 150% de modulación, o por lo menos un número entero positivo o negativo de 60% a 100% de modulación, o cualquier número entero positivo o negativo sobre modulación de 100%. Un compuesto que es un modulador
25 negativo disminuirá en general la modulación en relación con un compuesto conocido, mientras que un compuesto que es un modulador positivo en general aumentará la modulación con relación a un compuesto conocido.

 En general, los compuestos de prueba se identifican a partir de grandes bibliotecas tanto de productos naturales o extractos sintéticos (o semi- sintéticos) o bibliotecas químicas
30 según los métodos conocidos en el estado de la técnica. Los expertos en el campo del descubrimiento y desarrollo de fármacos entenderán que la fuente precisa de extractos o compuestos de prueba no es fundamental para el método de la invención. Por consiguiente, prácticamente cualquier número de extractos o compuestos químicos se pueden seleccionar usando los métodos de ejemplo descritos en la presente. Ejemplos de tales extractos o

compuestos incluyen, pero no se limitan a, extractos vegetales, micóticos, procarióticos o animales, caldos de fermentación, y compuestos sintéticos, así como la modificación de los compuestos existentes. Hay numerosos métodos disponibles para la generación de síntesis aleatoria o dirigida (por ejemplo, semi- síntesis o síntesis total) de cualquier número de

5 compuestos químicos, incluyendo pero sin limitar a compuestos basados en sacáridos, lípidos, péptidos y ácidos nucleicos. Bibliotecas de compuestos sintéticos están disponibles comercialmente. Por otra parte, bibliotecas de compuestos naturales en forma de extractos bacterianos, micóticos, vegetales y animales están disponibles comercialmente a partir de una serie de fuentes, incluyendo Biotics (Sussex, Reino Unido), Xenova (Slough, Reino Unido),

10 Harbor Branch Oceanographic Institute (Ft. Pierce, FL, EE.UU.), y PharmaMar, MA, EE.UU. Además, las bibliotecas naturales y sintéticas se producen, si se desea, según métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante la extracción estándar y métodos de fraccionamiento. Por otra parte, si se desea, cualquier biblioteca o compuesto es fácilmente modificado usando métodos químicos, físicos o bioquímicos estándares.

15 Cuando se encuentra que un extracto crudo modula la inhibición de la escisión dependiente de O- GlcNAcasa de O- GlcNAc, o cualquier respuesta biológica inducida por un compuesto de fórmula (I), fraccionamiento adicional del extracto principal positivo es necesario para aislar los componentes químicos responsables del efecto observado. Por lo tanto, el objetivo del proceso de extracción, fraccionamiento y purificación es la

20 caracterización e identificación cuidadosa de una entidad química dentro del extracto crudo con actividades inhibitorias de O- GlcNAcasa. Los mismos ensayos descritos en la presente para la detección de actividades en las mezclas de los compuestos se pueden utilizar para purificar el componente activo y poner a prueba sus derivados. Los métodos de fraccionamiento y purificación de dichos extractos heterogéneos son conocidos en el estado

25 de la técnica. Si se desea, los compuestos que se muestran como agentes útiles para el tratamiento son químicamente modificados según los métodos conocidos en el estado de la técnica. Los compuestos identificados como de valor terapéutico, profiláctico, diagnóstico, o de otro tipo pueden ser posteriormente analizados usando un modelo animal adecuado, tal como se describe en la presente de conocidos en la técnica.

30 En algunas realizaciones, uno o más de los compuestos son útiles en el desarrollo de modelos animales para el estudio de enfermedades o trastornos relacionados con deficiencias en la O- GlcNAcasa, sobre- expresión de la O- GlcNAcasa, acumulación de O- GlcNAc, depleción de O- GlcNAc, y para estudiar el tratamiento de enfermedades y trastornos relacionados con la deficiencia o sobre- expresión de la O- GlcNAcasa, o acumulación o

depleción de O- GlcNAc. Estas enfermedades y trastornos incluyen enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer y el cáncer.

Varias realizaciones alternativas y ejemplos de la invención se describen en la presente. Estas realizaciones y ejemplos son ilustrativos y no deben interpretarse como una
5 limitación al alcance de la invención.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos sirven para ilustrar las realizaciones de la invención y no se deben interpretar de una manera limitante.

10

Abreviaturas

Abcn = 1,1'-azobis (ciclohexano- carbonitrilo)

AcCl = cloruro de acetilo

AcOH = ácido acético

15

BCl₃ = tricloruro de boro

BnBr = bromuro de bencilo

Boc₂O = dicarbonato de di- terc- butilo

BzCl = cloruro de benzoilo

DAST = dietilaminoazufre trifluoruro

20

DCM = diclorometano

DIPEA = diisopropiletilamina

DMAP = 4- dimetilaminopiridina

DMF = *N, N*- dimetilformamida

DMP = periodinano Dess- Martin

25

Et₃N = trietilamina

Et₂O = éter dietílico

TBDMSCl = cloruro de terc- butildimetilsililo

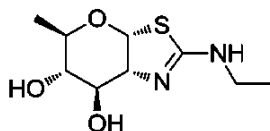
TBAF = tetra- n- butilamonio fluoruro TFA = ácido 2,2,2- trifluoroacético THF = tetrahidrofurano

30

tio- CDI = 1,1'- diimidazol tiocarbonilo

Ejemplo 44

(3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (etilamino)- 5- metil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6,7- diol



A una suspensión de (35.0 g, 141 mmol) en DMF (300 mL) enfriada a 15 ° C, se agregó DIPEA (6.0 ml), Boc₂O (61.5 g, 282 mmol) y metanol (6.0 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, y luego se agregó MeOH (50 mL). La mezcla de reacción se concentró a presión reducida a ~ 35 ° C. El residuo se purificó mediante gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (acetato de etilo/hexanos 1:1, luego MeOH / DCM, 1:5), seguido por la recristalización a partir de AcOE / hexanos, para proporcionar ((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6,7- dihidroxi- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(etil)carbamato de tert- butilo como un sólido blanco (31.5 g, 64% de rendimiento). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 6,12 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,23- 4,22 (m, 1H), 4,17- 4,14 (m, 1H), 3,91- 3,86 (m, 2H), 3,81 3,77 (m, 3H), 3,59- 3,55 (m, 1H), 3,17- 3,16 (m, 1H, OH), 1,53 (s, 9H), 1,16 (t, *J* = 7,Hz, 3H).

A una solución del material anterior (5.0 g, 14.4 mmol) en DMF (25 mL) se agregó imidazol (1.57g, 23.1 mmol) y TBDMSCl (2.82g, 18.7 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 horas, se diluyó con acetato de etilo (100 mL). Los orgánicos se lavaron con NH₄Cl saturado, salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El residuo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía de columna (AcOEt/hexano, 1:1), proporcionando ((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 5- (((tert- butildimetilsilil) oxi)metil)- 6,7- dihidroxi- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(etil)carbamato de tert- butilo como un sólido blanco (5.08 g, 76%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 6,12 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,25 (t, *J* = 6,2 Hz, 1H), 4,16 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,10- 4,04 (m, 2H), 3,91- 3,85 (m, 3H), 3,65- 3,62 (m, 1H), 1,55 (s, 9H), 1,26 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H), 0,89 (s, 9H), 0,08 (s, 6H).

A una solución del material anterior (1.15 g, 2.5 mmol), yoduro de tetrabutil- amonio (0.092 g, 0.25 mmol) en DMF (25 mL) a 0 ° C se agregó NaH (60%, 0.3 g, 7.5 mmol), seguido por cloruro de *p*- metoxibencilo (1.02 ml, 7.5 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas, se diluyó con Et₂O (50 ml) y se enfrió con agua (5 ml). La capa de éter se lavó adicionalmente con NH₄Cl saturado, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. Una mezcla de dos productos, ((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6- ((tert- butildimetilsilil) oxi)- 7- ((4- metoxibencil)oxi)- 5- ((4- metoxifenoxi)metil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(etil)carbamato de tert- butilo y ((3aR, 5R, 6S,

7R,7aR)- 5- (((tert- butildimetilsilil) oxi)metil)- 6,7- bis ((4- metoxibencil) oxi)- 5,6,7,7 tetrahidro - 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il) (etil) carbamato de tert- butilo fue aislado (1.6 g, 66%) en una proporción de 1:2 , respectivamente, como se indicó mediante ¹H NMR.

A una solución de la mezcla anterior (1.58 g, 2.26 mmol) en THF (15 ml) se agregó
5 una solución de 1M TBAF (4.0 ml, 4 mmol) a 0 ° C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Se diluyó con EtOAc (50 ml), la capa orgánica se lavó con NH₄Cl saturado, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El residuo crudo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (AcOE /hexano, 1:2), proporcionando ((3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)- 5- (hidroximetil)- 6,7- bis ((4- metoxibencil) oxi)- 5,6,7,7 a-
10 tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il) carbamato de tert- butilo (0.75 g, 56%) como un sólido gomoso. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7.30 (d, *J* = 8.6, 2H), 7.15 (d, *J* = 8.6, 2H), 6.88- 6.80 (m, 4H), 6.01 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 4.64 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H), 4.59 (d, *J* = 11.8 Hz, 1H), 4.48- 4.45 (m, 1H), 4.37- 4.34 (ddd, *J* = 6.8, 3.6, 1.28 Hz , 1H), 4.27 (d, *J* = 11.2, 1H), 4.24- 4.23 (dd, *J* = 1.8, 1.76 Hz, 1H), 3.87- 3.80 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.77 (s , 3H), 3.70-
15 3.65 (m, 1H), 3.59- 3.56 (dt, *J* = 9.0, 1.44 Hz, 1H), 3.55- 3.49 (m, 1H), 3.41- 3.37 (ddd, *J* = 8.5, 5.3, 2.8 Hz, 1H), 1.78 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H), 1.50 (s, 9H), 1.18 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H).

A una solución de trifenilfosfina (0.179g, 0.68 mmol) en tolueno seco (5 ml) se agregó yodo (0.145g, 0.57 mmol), piridina (0.1 mL, 1.2 mmol) y una solución del material anterior (0.210 g, 0.357 mmol) pre- disuelto en tolueno (3 ml). La mezcla de reacción se agitó
20 a 65 ° C durante 3.5 h. El material amarillento insoluble se filtró y el filtrado se diluyó con EtOAc (50 ml) se lavó con HCl 1N (20 ml), NHCO₃ saturado (20 ml) y salmuera. La capa de EtOAc se separó, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró a un producto crudo que se purificó en gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc / hexano, 3:7), proporcionando ((3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (yodometil)- 6,7- bis((4- metoxibencil)oxi)-
25 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)carbamato de tert- butil- etilo como un sólido blanco (0.23 g, 92.4%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7.33 (d, *J* = 8.4, 2H), 7.18 (d, *J* = 8.4, 2H), 6.89- 6.82 (m, 4H), 6.07 (d, *J* = 7 Hz, 1H), 4.67 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.61 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 4.54- 4.51 (m, 1H), 4.36- 4.31 (m, 2H), 4.19 (t, *J* = 2.64 Hz, 1H), 3.87 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.83 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 3.77 (s, 6H), 3.50- 3.48 (dd, *J* = 6.8, 1.3 Hz, 1H), 3.37-
30 3.34 (m, 1H), 3.23- 3.20 (m, 2H), 1.51 (s, 9H), 1.10 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H).

A una solución del material anterior (0.120 g, 0.172 mmol) en etanol (4 ml) y Et₃N (0.1 ml) se agregó Pd /C (10% en peso, 0.060 g). La mezcla se hidrogenó a 50 psi y a temperatura ambiente durante 24 h. El catalizador se retiró mediante filtración y los solventes

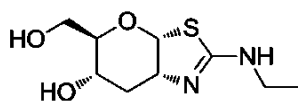
se evaporaron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con 3:0 EtOAc/hexanos para proporcionar ((3aR,5R,6R,7R,7aR)- 6,7- bis((4- metoxibencil)oxi)- 5- metil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(etil)carbamato de tert- butilo (0.077 g, 78.4%) como un sólido

blanco. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,31 (d, $J = 6,8$, 2H), 7,17 (d, $J = 6,8$, 2H), 6,87 a 6,81 (m, 4H), 6,07 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,67 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 4,58 (d, $J = 9,4$ Hz, 1H), 4,50 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 4,34 (m, 1H), 4,27 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H), 4,23- 4,17 (m, 1H), 3,87- 3,84 (m, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,77 (s, 3H), 3,44- 3,39 (m, 1H), 3,30- 3,28 (m, 1H), 1,50 (s, 9H), 1,18 (d, $J = 4,9$ Hz, 3H), 1,10 (t, $J = 5,5$ Hz, 3H).

El material anterior (0.075 g, 0.131 mmol) se disolvió en una solución de 30% TFA/DCM (10 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 2.5 h. La mezcla de reacción se concentró y se co- evaporó con Et_2O (20 ml). Al residuo se agregó una solución 2M NH_3/MeOH (3 ml) y se concentró bajo presión reducida. El producto obtenido se purificó en gel de sílice mediante cromatografía en columna rápido eluyendo con MeOH al 5% en DCM y 94:4:2 DCM- MeOH- NH_4OH (28% en agua) para proporcionar (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)- 2- (etilamino)- 5- metil- 5, 6,7,7 tetrahidro- un- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol como un sólido blanco (0.021 g, 68.7%). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 6,60 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 4,08 (t, $J = 7,04$ Hz, 1H), 3,77 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 3,75- 3,72 (m, 1H), 3,44- 3,38 (ddd, $J = 14,6$, 7,28, 2,08 Hz, 2H), 3,25- 3,20 (dd, $J = 7,7$, 1,12 Hz, 1H), 1,33 (d, $J = 6,2$ Hz, 3H), 1,28 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H), C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ 160. 40, 90.08, 75.69, 75.66, 74.21, 66.27, 55.65, 18.91, 14.51, MS, $m/z = 233$ ($M + 1$).

Ejemplo 2

(3aR,5R,6S,7aR)- 2- (etilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol



A una solución de ((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6,7- dihidroxi- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(etil)carbamato de tert- butilo (1.64 g, 4.73 mmol), DIPEA (1.34 g, 10.4 mmol) y DMAP (0.010 g, 0.082 mmol) en DCM (50 mL), a 0 ° C, se agregó BzCl (1.33 g, 9.50 mmol) lentamente. Después de la adición la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se agregó una solución de NH_4Cl acuoso (50 ml), y la capa orgánica se recolectó. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con DCM (2 x 40

ml). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se separó en gel de sílice mediante cromatografía de columna (EtOAc/hexano, 1:4 a 1:2), proporcionando ((3aR,5R,6S,7R,7aR)-6- (benzoiloxi)- 2- ((*tert*- butoxicarbonil)(etil)amino)- 7- hidroxí- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- il)metil benzoato como un sólido blanco (0,67 g, 26%). ¹H RMN (400 MHz, CDC₃) δ 8,08 (d, *J* = 8,1 Hz, 4H), 7,57- 7,35 (m, 6H), 6,19 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 5,21 (dd, *J* = 2,8, 9,2 Hz, 1H), 4,56- 4,51 (m, 2H), 4,47- 4,42 (m, 2H), 4,14- 4,10 (m, 1H), 3,99- 3,92 (m, 2H), 1,55 (s, 9H), 1,19 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).

Una mezcla del material anterior (0.346 g, 0.623 mmol) y tio- CDI (90% tech, 0.20 g, 1.0 mmol) en tolueno anhidro (10 mL) se agitó a 95 ° C durante 4 horas Después de enfriar el solvente se removió bajo presión reducida, y el residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexano, 2:3), proporcionando benzoato de (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)- 7- ((1H- imidazol- 1- carbonotiol) oxi)- 5- ((benzoiloxi) metil)- 2- ((*tert*- butoxicarbonil)(etil)amino)- 5,6,7,7- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- il como un sólido amarillo (0,343 g, 83%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,76 (s, 1H), 8,08- 7,94 (m, 4H), 7,70 (s, 1H), 7,57- 7,37 (m, 6H), 7,18 (s, 1H), 6,36 (dd, *J* = 1,9, 3,7 Hz, 1H), 6,17 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 5,54 (td, *J* = 1,2, 9,2 Hz, 1H), 4,70- 4,67 (m, 1H), 4,60 (dd, *J* = 3,2, 12,1 Hz, 1H), 4,42 (dd, *J* = 5,1, 12,2 Hz, 1H), 4,11- 4,08 (m, 1H), 4,05- 3,97 (m, 2H), 1,56 (s, 9H), 1,22 (T, *J* = 7,2 Hz, 3H).

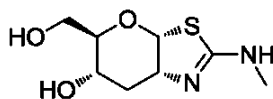
Una mezcla del material anterior (0.343 g, 0.515 mmol), Bu₃SnH (0.291 g, 1.00 mmol) y ABCN (8.0 mg, 0.033 mmol) en tolueno anhidro (10 mL) se agitó a 90 ° C durante 3 horas Después de enfriar el solvente se removió bajo presión reducida, y el residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexano, 1:4), proporcionando benzoato de ((3aR,5R,6S,7aR)- 6- (benzoiloxi)- 2- ((*tert*- butoxicarbonil)(etil)amino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- il)metilo como un sólido blanco (0.141 g, 51%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,03- 7,94 (m, 4H), 7,57- 7,52 (m, 2H), 7,44- 7,35 (m, 4H), 6,07 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 5,44- 5,40 (m, 1H), 4,52- 4,41 (m, 3H), 4,06- 3,96 (m, 3H), 2,70- 2,64 (m, 1H), 2,47- 2,40 (m, 1H), 1,56 (s, 9H), 1,18 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).

Una mezcla del material anterior (0.140 g, 0.260 mmol) y K₂CO₃ (0.030 g, 0.22 mmol) en MeOH anhidro (6 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El solvente se retiró bajo presión reducida, y el residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía

en columna rápida (EtOAc), proporcionando un sólido blanco. El sólido se disolvió en MeOH (3 mL), en el cual se burbujeó HCl (g) durante 30 segundos. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. el solvente se eliminó y el residuo se neutralizó con 1.0 M de NH₃ en MeOH y posteriormente se purificó en gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (1.0 M de NH₃ en MeOH/DCM, 1:8), proporcionando (3aR, 5R, 6S, 7aR)- 2- (etilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7 tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol como un sólido blanco (0.044 g, 73%). ¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 6.20 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H), 4.28- 4.25 (m, 1H), 3.75 (dd, *J* = 2.6, 14.4 Hz, 1H), 3.73- 3.69 (m, 1H), 3.61 (dd, *J* = 6.4, 14.4 Hz, 1H), 3.54- 3.51 (m, 1H), 3.30- 3.22 (m, 2H), 2.16- 2.11 (m, 1H), 2.06- 2.00 (m, 1H), 1.18 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), C RMN (125 MHz, CD₃OD) δ 163.24, 91.35, 77.13, 69.15, 65.79, 63.36, 39.60, 34.75, 14.87, MS, *m/z* = 233 (*M* + 1).

Ejemplo 3

(3aR,5R,6S,7aR)- 5- (hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol



A una suspensión de (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 5- (hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol (1.50 g, 6.40 mmol) y NaHCO₃ (1.01 g, 12.0 mmol) en THF/agua (40 ml, 1, 3) se agregó cloroformato de bencilo (1.70 g, 10.0 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. El disolvente orgánico se removió bajo presión reducida para dar lugar a un precipitado. El sólido precipitado se recolectó mediante filtración, se lavó con Et₂O y se secó al vacío, proporcionando ((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6,7- dihidroxi- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de bencilo como un sólido blanco (1.72 g, 73%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7.44- 7.32 (m, 5H), 6.13 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 5.27- 5.20 (m, 2H), 4.14 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H), 4.02 (t, *J* = 4.9 Hz, 1H), 3.74 (dd, *J* = 2.4, 12.0 Hz, 1H), 3.63 (dd, *J* = 6.1, 12.0 Hz, 1H), 3.53 (dd, *J* = 4.5, 9.2 Hz, 1H), 3.47- 3.43 (m, 1H), 3.39 (s, 3H).

Una mezcla del material anterior (1.50 g, 4.08 mmol), acetalo de dimetilo de benzaldehído (3 ml) y monohidrato del ácido p- toluensulfónico (0.058 g, 0.30 mmol) en DMF (10 mL) se agitó a 50 ° C a vacío leve durante la noche. Después de enfriar la solución se neutralizó con NaHCO₃ sólido, y luego se concentró bajo presión reducida. El residuo se

purificó en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (EtOAc/DCM/hexano, 2:04:01), proporcionando ((3aR, 4aR, 8aS, 9R, 9aR)- 9- hidroxí- 7- fenil- 3a, 4a, un 5,8 9,9, a- hexahidro- [1,3]dioxino[4', 5': 5,6]pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil) carbamato de bencilo como un sólido blanco (0,91 g, 53%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,49- 7,47 (m, 2H),
5 7,40- 7,35 (m, 8H), 6,28 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 5,78 (s, 1H), 5,29- 5,21 (m, 2H), 4,34 (dd, *J* = 5,1, 10,4 Hz, 1H), 4,15- 4,06 (m, 2H), 3,89- 3,84 (m, 1H), 3,76 (t, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,58 (t, *J* = 9,4, 1H), 3,38 (s, 3H), 2,62 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H).

Una mezcla del material anterior (0.700 g, 1.54 mmol) y tio- CDI (90% tech, 0.80 g, 4.04 mmol) en DMF anhidro (20 mL) se agitó a 90 ° C durante la noche. Después de enfriar
10 el solvente se removió bajo presión reducida, y el residuo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (EtOAc/DCM, 2:1), proporcionando O- ((3aR,4aR,8aS,9R,9aR)- 2- (((benciloxi)carbonil)(metil)amino)- 7- fenil- 3a,4a,5,8a,9,9a- hexahidro- [1,3]dioxino[4',5':5,6]pirano[3,2- d]tiazol- 9- il) 1H- imidazol- 1- carbotioato como un sólido amarillo (0.71 g, 81%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,36 (s, 1H), 7,66 (s,
15 1H), 7,42- 7,37 (m, 7H), 7,35- 7,32 (m, 3H), 7,03 (s, 1H), 6,28 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 6,20 (dd, *J* = 7,1, 8,6 Hz, 1H), 5,56 (s, 1H), 5,26 (s, 2H), 4,43 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H), 4,39 (dd, *J* = 5,1, 10,4 Hz, 1H), 4,19- 4,13 (m, 1H), 3,93 (t, *J* = 9,0 Hz, 1H), 3,79 (t, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,32 (s , 3H).

Una mezcla del material anterior (0.560 g, 1.00 mmol), Bu₃SnH (0.87 g, 3.0 mmol) y
20 ABCN (24 mg, 0.10 mmol) en THF anhidro (20 mL) se agitó a reflujo durante 3 h. Después de enfriar el solvente se removió bajo presión reducida, y el residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexanos/DCM, 1:3:1), proporcionando ((3aR,4aR,8aS,9aR)- 7- fenil- 3a,4a,5,8a,9,9a- hexahidro- [1,3]dioxino[4',5':5,6]pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)carbamato de bencil- metilo como un sólido
25 blanco (0.32 g, 73%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,49- 7,47 (m, 2H), 7,39- 7,33 (m, 8H), 6,21 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H), 5,56 (s, 1H), 5,29- 5,20 (m, 2H), 4,52- 4,25 (m, 2H), 4,08- 4,02 (m, 1H), 3,72 (t, *J* = 10,3 Hz, 1H), 3,61- 3,54 (m, 1H), 3,33 (s, 3H) , 2,41- 2,35 (m, 1H), 1,76- 1,68 (m, 1H).

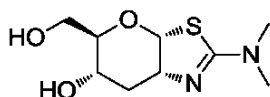
30 A una solución del material anterior (0.20 g, 0.45 mmol) en DCM anhidro (10 mL), enfriada a - 78 °C bajo atmósfera de N₂, se agregó tricloruro de boro en DCM (1.0 M, 2.0 ml, 2.0 mmol). La mezcla se agitó durante 3 horas mientras que la temperatura de reacción se llevó gradualmente a ~0 ° C. La mezcla se enfrió a - 78 °C otra vez, y se agregó

cuidadosamente MeOH (5 mL). Después se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos la mezcla se concentró bajo presión reducida. El residuo se neutralizó con 1.0 M de NH₃ en MeOH, y posteriormente se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (1.0 M de NH₃ en MeOH: DCM, 1:7), proporcionando (3aR,5R,6S,7aR)- 5-

5 (hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7 a- tetrahidro- pirano 3aH- tiazol- 6- ol como un sólido blancuzco (0.070 g, 72%) [3,2- d]. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 6,20 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,27- 4,23 (m, 1H), 3,74 (dd, *J* = 2,5, 12,0 Hz, 1H), 3,71- 3,67 (m, 1H), 3,63 (dd, *J* = 6,2, 12,0 Hz, 1H), 3,54- 3,49 (m, 1H), 2,83 (s, 3H), 2,16- 2,10 (m, 1H), 2,04- 1,97 (m, 1H) ; C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 163.99, 91.81, 77.11, 69.31, 65.82, 63.32, 34.93, 30.49, MS, m/z = 219 (M + 1).

Ejemplo 4

(3aR,5R,6S,7aR)- 5- (hidroximetil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol



15 Una suspensión de (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol (0.800 g, 3.23 mmol) y anhidro ZnCl₂ (1.00 g, 7.35 mmol) en benzaldehído (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se agregó DCM (50 mL) y NaHCO₃ acuoso saturado (50 ml), y la mezcla se agitó durante 20 min. El sólido se filtró, y la capa orgánica se recolectó a partir del filtrado. La
20 capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 50 ml), y el extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (1.0 M de NH₃ en MeOH/DCM, 3:100), proporcionando (3aR,4aR,8aS,9R,9aR)- 2- (dimetilamino)- 7- fenil- 3a,4a,5,8a,9,9a- hexahidro- [1,3]dioxino[4',5':5,6]pirano[3,2- d]tiazol- 9- ol como un sólido
25 amarillo pálido (0.76 g, 70%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,51- 7,48 (m, 2H), 7,40- 7,34 (m, 3H), 6,39 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 5,58 (s, 1H), 4,31 (dd, *J* = 5,1, 10,4 Hz, 1H), 4,10- 4,03 (m, 2H), 3,86 (dd, *J* = 8,2, 9,5 Hz, 1H), 3,76 (t, *J* = 10,4 Hz, 1H), 3,59 (t, *J* = 9,5 Hz, 1H), 3,00 (s, 6H).

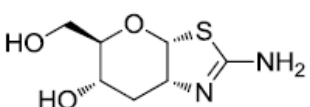
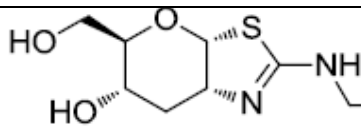
30 Una mezcla del material anterior (0.67 g, 2.0 mmol) y tio- CDI (90% tech, 1.6 g, 8.0 mmol) en DMF anhidro (20 mL) se agitó a 95 ° C durante la noche. Después de enfriar el solvente se eliminó bajo presión reducida, y el residuo se purificó sobre gel de sílice mediante

cromatografía en columna rápida (MeOH/DCM, de 1:100 a 5:100), proporcionando una mezcla que contiene

O- ((3aR, 4aR, 8AS, 9R, 9AR)- 2- (dimetilamino)- 7- fenil- 3a,4a,5,8, 9,9 hexahidro- [1,3]dioxino[4',5':5,6] pirano[3,2- d]tiazol- 9- il) 1H- imidazol- 1- carbotioato. Esta mezcla se disolvió en THF anhidro (30 ml), y Bu₃SnH (1.0 g, 3.4 mmol) y se agregó ABCN (0.060 mg, 0.24 mmol), y la mezcla se agitó a reflujo durante la noche. Luego el solvente se removió bajo presión reducida y el residuo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (1.0 M de NH₃ en MeOH: DCM, 3:100), proporcionando un sólido amarillo pálido que contiene (0.17 g, impuro). El sólido se trató con 2% de HCl en MeOH (10 mL) a temperatura ambiente durante 2 h, y luego se removió el solvente bajo presión reducida. El residuo se neutralizó con 1.0 M de NH₃ en MeOH, y posteriormente se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (1.0 M de NH₃ en MeOH: DCM, 1:10), proporcionando (3aR,5R,6S,7aR)- 5- (hidroximetil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol puro como un sólido blancuzco (0.050 g, rendimiento total de 11%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 6,23 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 4,28- 4,24 (m, 1H), 3,74 (dd, J = 2,5, 12,0 Hz, 1H), 3,70- 3,65 (m, 1H), 3,59 (dd, J = 6,2, 12,0 Hz, 1H), 3,53- 3,48 (m, 1H), 2,99 (s, 6H), 2,14- 2,08 (m, 1H), 2,02 a 1,95 (m, 1H) ; C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 165.60, 92.43, 77.19, 69.67, 65.79, 63.27, 40.15, 34.93, MS, m/z = 255 (M + 23).

Los siguientes ejemplos fueron sintetizados de acuerdo con procedimientos análogos a los esquemas y ejemplos que se describen arriba.

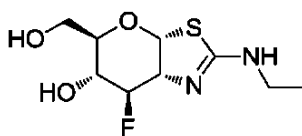
Tabla 2

Ejemplo	Estructura	Nombre
5		(3aR, 5R, 6S, 7aR)- 2- amino- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7- tetrahidro- 3aH pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol
¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 6,44 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 4,56- 4,52 (m, 1H), 3,90- 3,85 (m, 1H), 3,77 (dd, J = 2,5, 12,1 Hz, 1H), 3,63 (dd, J = 6,4, 12,1 Hz, 1H), 3,54- 3,50 (m, 1H), 2,18- 2,10 (m, 2H), C RMN (100 MHz, CD ₃ OD) δ 172.80, 87.98, 77.53, 63.91, 63.25, 59.96, 32.33, MS, m/z = 205 (M + 1).		
6		(3aR, 5R, 6S, 7aR)- 5- (hidroximetil)- 2- (propilamino)- 5,6,7,7 a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 6,18 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H), 4,26- 4,22 (m, 1H), 3,74 (dd, *J* = 2,1, 11,8 Hz, 1H), 3,71- 3,66 (m, 1H), 3,59 (dd, *J* = 6,3, 11,8 Hz, 1H), 3,54- 3,49 (m, 1H), 3,21- 3,12 (m, 2H), 2,14- 2,08 (m, 1H), 2,04- 1,99 (m, 1H), 1,59- 1,53 (m, 2H), 0,93 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H), C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 163.32, 91.40, 77.17, 69.28, 65.94, 63.36, 46.81, 34.81, 23.67, 11.72, MS, *m/z* = 269 (*M* + 23).

Ejemplo 53

(3aR,5R,6R,7R,7aR)- 2- (etilamino)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol



5

A una solución de

((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6- (benzoiloxi)- 2- ((*tert*- butoxicarbonil)(etil)amino)- 7- hidroxil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- il)metil- benzoato (0.49 g, 0.88 mmol) en DCM anhidro (3 ml), a -40 °C bajo atmósfera de N₂, se agregó DAST (1.0 g, 6.2 mmol).

10 Después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después la mezcla de reacción se enfrió de nuevo a -40 °C, se diluyó con DCM (20 mL), y luego se apagó mediante la adición por goteo de NaHCO₃ acuoso saturado. La capa orgánica se recolectó, y el acuoso se extrajo con DCM (2 x 15 ml). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexanos, 1:5 a 2:07), proporcionando

((3aR,5R,6R,7R,7aR)- 6- (benzoiloxi)- 2- ((*tert*- butoxicarbonil)(etil)amino)- 7- fluoro- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- il)metil- benzoato como un sólido blanco (0.14 g, impuro, ~28%).

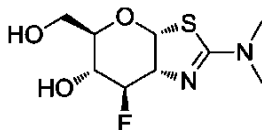
20 La conversión del material anterior al compuesto del título se llevó a cabo mediante la eliminación de los grupos de protección de benzoato y Boc usando K₂CO₃ en MeOH y HCl saturado en MeOH, respectivamente, a través de procedimientos que se describen para el ejemplo 2. Después de la purificación sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna (1.0 M de NH₃ en MeOH/DCM, 1:7), se obtuvo (3aR,5R,6R,7R,7aR)- 2- (etilamino)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol como un sólido blanco (0.051 g, 23% total). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 6,33 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 4,77

25

(td, $J = 5,0, 48,2$ Hz, 1H), 4.344.27 (m, 1H), 3,81 (dd, $J = 2.0, 12.0$ Hz, 1H), 3,77- 3,72 (m, 1H), 3,68 (dd, $J = 5,7, 12,0$ Hz, 1H), 3,63- 3,59 (m, 1H), 3,31- 3,23 (m, 2H), 1,18 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H), C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 163.40, 96.25 (d, $J = 177,7$ Hz), 90.55 (d, $J = 3,9$ Hz), 75.26 (d, $J = 4,6$ Hz), 73.58 (d, $J = 24,5$ Hz), 68.91 (d, $J = 22,8$ Hz), 62.85, 39.54, 14.82, MS, $m/z = 251$ (M + 1).

Ejemplo 54

(3aR,5R,6R,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol



10

A una solución de

(3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol (5.20 g, 21.0 mmol) e imidazol (12.0 g, 176 mmol) en DMF (60 mL) se agregó TBDMSCl (15.0 g, 99.5 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas, y luego se diluyó con salmuera (200 ml). La mezcla se extrajo con Et₂O ((3 x 100 ml). El extracto combinado se lavó con salmuera (100 ml) y agua (100 mL), y luego se secó sobre Na₂SO₄. Después de la filtración el solvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexanos, 1:4 a 1:1), proporcionando (3aR,5R,6R,7R,7aR)- 7- ((tert- butildimetilsilil)oxi)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol como un sólido blanco (5.95 g, 60%). ¹H RMN (500 MHz, CDCH) δ 6,15 (d, $J = 5,8$ Hz, 1H), 4,34- 4,33 (m, 1H), 4,20 (t, $J = 5,0$ Hz, 1H), 3,80- 3,72 (m, 2H), 3,48 (s, br., 2H), 3,01 (s, 6H), 0,90 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 0,13 (s, 3H), 0,12 (s, 3H), 0,07 (s, 6H).

25

A una solución del material anterior (5.95 g, 12.5 mmol) y DMAP (0.12 g, 0.98 mmol) en piridina (50 mL), a 0 ° C, se agregó lentamente BzCl (3.00 g, 21.3 mmol). Después de la adición la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se agregó una solución de NaHCO₃ acuoso saturada (100 mL), y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 100 ml). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el

30

solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexanos, 1:9 a 1:3), proporcionando benzoato de (3aR,5R,6R,7R,7aR)- 7- ((tert- butildimetilsilil)oxi)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 2- (dimetilamino)- 25 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- il como un aceite transparente (6.85 g, 94%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,05- 8,02 (m, 2H), 7,56- 7,52 (m, 1H), 7,43- 7,39 (m, 2H), 6,26 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 5,06- 5,03 (m, 1H), 4,40 (dd, *J* = 2,2, 3,8 Hz, 1H), 3,81- 3,78 (m, 1H), 3,713.70 (m, 2H), 3,03 (s, 6H), 0,88 (s, 9H), 0,85 (s, 9H), 0,17 (s, 3H), 0,13 (s, 3H), 0,02 (s, 3H), 0,00 (3H).

10 A una solución del material anterior (9.30 g, 16.8 mmol) en MeOH seco (100 ml), se burbujeó HCl durante 2 minutos, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de concentración bajo presión reducida, la mezcla se trató con solución de NaHCO₃ acuoso saturada (150 ml), y se extrajo con acetato de etilo (6 x 80 ml). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración el solvente se evaporó bajo presión
15 reducida, produciendo (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 7- hidroxil- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- il- benzoato como un sólido cristalino de color blanco (5.40 g, 96%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,03- 8,01 (m, 2H), 7,58- 7,53 (m, 1H), 7,44- 7,39 (m, 2H), 6,37 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 5,12- 5,09 (m, 1H), 4,41- 4,37 (m, 2H), 3,94- 3,85 (m, 1H),
20 3,78- 3,74 (m, 1H), 3,67 (dd, *J* = 4,9, 12,5 Hz, 1H), 3,00 (s, 6H).

A una solución del material anterior (5.35 g, 15.2 mmol) y DMAP (0.050 g, 0.41 mmol) en piridina (50 mL), a 0 ° C, se agregó lentamente BzCl (2.22 g, 15.8 mmol). Después de la adición la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se agregó solución NaHCO₃ acuoso saturado (100 ml), y la mezcla se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). El extracto
25 combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexanos, 1:1 a 10:1), produciendo ((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6- (benzoiloxi)- 2- (dimetilamino)- 7- hidroxil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- il)metil- benzoato como un sólido blanco (4,45 g, 64%). ¹H
30 RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,04- 8,00 (m, 4H), 7,58- 7,51 (m, 2H), 7,44- 7,37 (m, 4H), 6,38 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 5,23- 5,20 (m, 1H), 4,55 (dd, *J* = 3,2, 12,0 Hz, 1H) 4,48- 4,40 (m, 3H), 4,27- 4,22 (m, 1H), 3,00 (s, 6H).

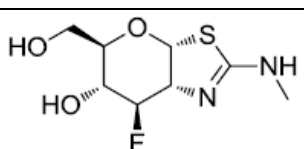
A una solución del material anterior (0.410 g, 0.898 mmol) en DCM anhidro (6 ml),- 7°C en atmósfera de N₂, se agregó DAST (0.87 g, 5.4 mmol). Después de la adición la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió a- 78 °C, se diluyó con DCM (20 mL), y se apagó mediante la adición de NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml). La capa orgánica se recolectó, y el acuoso se extrajo con DCM (2 x 30 ml). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexanos, 1:3 a 1:2), proporcionando

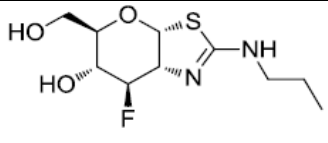
((3aR,5R,6R,7R,7aR)- 6- (benzoiloxi)- 2- (dimetilamino)- 7- fluoro- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- 30 il)metil benzoato) como un sólido blanco (0.380 g, 92%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8.03- 8.00 (m, 4H), 7.58- 7.55 (m, 1H), 7.54- 7.51 (m, 1H), 7.44- 7.41 (m, 2H), 7.39- 7.36 (m, 2H), 6.35 (d, *J* = 5,4 Hz, 1H), 5.47 (dd, *J* = 7,3, 16,3 Hz, 1H), 5.23 (ddd, *J* = 1,1, 2,8, 35,2 Hz, 1H), 4.70- 4.66 (m, 1H), 4.52 (dd, *J* = 2,8, 9,6 Hz), 4.40 (dd, *J* = 4,7, 9,6 Hz, 1H), 4.14- 4.10 (m, 1H), 3.05 (s, 6H).

Una mezcla del material anterior (0.375 g, 0.818 mmol) y K₂CO₃ (0.113 g, 0.818 mmol) en MeOH anhidro (8 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se neutralizó con hielo seco, y el solvente se removió bajo presión reducida. El residuo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna (1.0 M de NH₃ en MeOH/DCM, 1:12), proporcionando (3aR,5R,6R,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol como un sólido blanco (0,190 g, 93%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 6,35 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,74 (dt, *J* = 48.1, 5.0 Hz, 1H), 4,31 (dt, *J* = 13,8, 6,0 Hz, 1H), 3,79 (dd, *J* = 2,0, 12,0 Hz, 1H), 3,76- 3,69 (m, 1H), 3,66 (dd, *J* = 5,8, 12,0 Hz), 3.61- 3.57 (m, 1H), 3,01 (s, 6H); C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 166.25, 96.36 (d, *J* = 176,8 Hz), 91.60 (d, *J* = 3,9 Hz), 75.45 (d, *J* = 4,6 Hz), 73.99 (d, *J* = 24,7 Hz), 68.98 (d, *J* = 22,9 Hz), 62.91, 40.33, MS, (ES, *m/z*) [*M* + *H*] + 251.1.

Los siguientes ejemplos fueron sintetizados según procedimientos análogos a los esquemas y ejemplos descritos anteriormente.

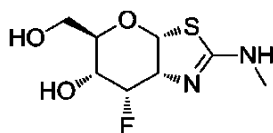
Tabla 3

Ejemplo	Estructura	Nombre
9		(3aR, 5R, 6R, 7R, 7aR)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol

¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 6,33 (d, <i>J</i> = 6,5 Hz, 1H), 4,75 (dt, <i>J</i> = 48,2, 5,1 Hz, 1H), 4,29 (dt, <i>J</i> = 13,9, 5,9 Hz, 1H), 3,81- 3,64 (m, 3H), 3,62- 3,57 (m, 1H), 2,84 (s, 3H), C RMN (100 MHz, CD ₃ OD) δ 164,66, 96,42 (d, <i>J</i> = 177,8 Hz), 91,17 (d, <i>J</i> = 4,0 Hz), 75,37 (d, <i>J</i> = 4,6 Hz), 73,68 (d, <i>J</i> = 24,5 Hz), 69,02 (d, <i>J</i> = 22,8 Hz), 62,92, 30,53. (ES, <i>m/z</i>) [M + H] ⁺ : 237,1.		
Ejemplo	Estructura	Nombre
10		(3aR, 5R, 6R, 7R, 7aR)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 2- (propilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol
¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) δ 6,31 (d, <i>J</i> = 6,4 Hz, 1H), 4,74 (dt, <i>J</i> = 48,2, 4,9 Hz, 1H), 4,31- 4,24 (m, 1H), 3,81- 3,58 (m, 4H), 3,24- 3,15 (m, 2H), 1,60- 1,53 (m, 2H), 0,94 (t, <i>J</i> = 7,4 Hz, 3H), C RMN (100 MHz, CD ₃ OD) δ 163,93, 96,41 (d, <i>J</i> = 177,7 Hz), 90,64 (d, <i>J</i> = 4,0 Hz), 75,38 (d, <i>J</i> = 4,5 Hz), 73,63 (d, <i>J</i> = 24,4 Hz), 69,03 (d, <i>J</i> = 22,8 Hz), 62,96, 46,72, 23,66, 11,53. (S, <i>m/z</i>) [M + H] ⁺ : 265,2.		

Ejemplo 57

(3aR,5R,6R,7S,7aR)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol



5

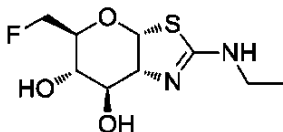
A una solución de ((3aR,5R,6R,7S,7aR)- 5- (((tertbutildimetilsilil)oxi)metil)- 7- fluoro- 6- hidroxil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo (0.200 g, 0.444 mmol) en MeOH seco (6 ml) se burbujeó gas de HCl durante 30 segundos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. Después de que el solvente se evaporó bajo presión reducida, el residuo se neutralizó con 1.0 M de NH₃ en MeOH y se purificó sobre columna de gel de sílice mediante cromatografía rápida (1.0 M de NH₃ en MeOH/DCM, 1:8), seguido por recristalización de MeOH/Et₂O, proporcionando (3aR,5R,6R,7S,7aR)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol como un sólido blanco (0.093 g, 89%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 6,62 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H), 4,89 (td, *J* = 3,5 Hz, 51,0 Hz, 1H), 4,54 (ddd, *J* = 3,5, 6,5, 20,6, 1H), 3,98- 3,94 (m, 1H), 3,90- 3,84 (m, 1H), 3,83- 3,81 (m, 1H), 3,75 (dd, *J* = 5,4, 12,2 Hz, 1H), 2,99 (s, 3H), C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 90,63 (d, *J* = 181,3 Hz), 88,53 (d, *J*

15

= 2,3 Hz), 73.60 (d, $J = 4,3$ Hz), 66.02 (d, $J = 17,3$ Hz), 64.80- 64.50 (m), 62.44, 31.38, MS, (ES, m/z) $[M + H]^+ 237.1$.

Ejemplo 12

5 **(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (etilamino)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol**



Se agregó cloruro de metanosulfonilo (0.038 ml, 0.495 mmol) en porciones a una solución agitada de etil((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 5- (hidroximetil)- 6,7- bis((4- metoxibencil)oxi)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)carbamato de tert- butilo (0.190g, 0.323 mmol) en piridina seca (5 ml) a - 20 ° C. Después de 3 h, la mezcla de reacción se diluyó con DCM (20 mL) y el extracto DCM se lavó con NaHCO₃ saturado, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El residuo de piridina se removió mediante co- evaporación con hexanos. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (3:7 EtOAc/hexanos) para proporcionar ((3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)- 2- ((tert- butoxicarbonil) (etil) amino)- 6,7- bis ((4- metoxibencil) oxi)- 5,6,7,7 a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- il) metil- metanosulfonato (0.215g, el 99.6%) como un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,32 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,17 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 6,91- 6,83 (m, 4H), 6,01 (d, $J = 6,88$ Hz, 1H), 4,66 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 4,60 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 4,52 (d, $J = 11,1$ Hz, 1H), 4,42- 4,36 (m, 2H), 4,27- 4,23 (m, 3H), 3,96- 3,84 (m, 2H), 3,8 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,55 (m, 2H), 2,98 (s, 3H), 1,52 (s, 9H), 1,20 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H).

A una solución del material anterior (0.520 g, 0.78 mmol) en CH₃CN (6 ml) se agregó una solución de fluoruro de tetraetilamonio (0.640 g, 4.28 mmol) en CH₃CN (4 ml) y la mezcla se calentó a reflujo durante 2.5 horas. Después de la evaporación del solvente, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (1:1 EtOAc/hexanos) para proporcionar etil((3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (fluorometil)- 6,7- bis((4- metoxibencil)oxi)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)carbamato de tert- butilo (0.335 g, 72.7%) como un sólido espumoso. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,35 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,20 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 6,93- 6,86 (m, 4H), 6,08 (d, $J = 6,88$ Hz, 1H), 4,72 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H), 4,65 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H), 4,56 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 4,52- 4,51 (m, 1H), 4,41- 4,38 (m,

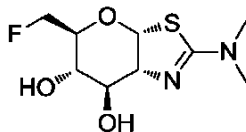
2H), 4,33 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 4,26 (t, $J = 2,88$ Hz, 1H), 3,93- 3,87 (m, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,69- 3,66 (m, 1H), 3,61- 3,50 (m, 1H), 1,55 (s, 9H), 1,15 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H).

El material anterior (0.115g, 0.195 mmol) disuelto en 30% TFA/DCM a 0 ° C se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. TFA/DCM se evaporó por completo y el residuo resultante se suspendió en NH_3/MeOH 2M (3 ml). La solución de amoníaco metanólico se concentró de nuevo y residuo crudo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice con MeOH al 10% en DCM para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (etilamino)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol como un sólido amarillo claro (0.035g, el 72.8%). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) 6,49 (d, $J = 6,48$ Hz, 1H), 4,66 a 4,52 (dt, $J = 47,6, 10,5, 4,3$ Hz, 2H), 4,12 (t, $J = 6,6$ Hz, 1H), 3,90 (t, $J = 6,9$ Hz, 1H), 3,80- 3,73 (m, 2H), 3,55 (dd, $J = 6,3, 3,2$ Hz, 1H), 3,4- 3,3 (m, 2H), 1,23 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H). ^{13}C RMN (100 MHz, MeOD) δ 163.78, 89.63, 83.90 (d, $J_{\text{C}_6,\text{F}}$, 171.8Hz, C- 6), 76.83 (d, $J_{\text{C}_5,\text{F}}$ 17.8Hz, C- 5), 75.43, 69.51 (d, $J_{\text{C}_4,\text{F}}$ 7.0Hz, C- 4), 67.71, 42.13, 14.74. ES/MS: 251.0 [M +1].

15

Ejemplo 59

(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol



A una solución agitada de (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)- 5- (((tert- butildimetilsilil) oxi)metil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol (1.19 g, 3.3 mmol) en DMF (18 mL) a 0 ° C se agregó NaH (60%, 0.5 g, 13 mmol) en pequeñas porciones. Después de 20 minutos, se agregó BnBr (1.17 ml, 9.9 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se diluyó con DCM (100 ml) y el extracto DCM se lavó con NaHCO_3 saturado, salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto crudo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexanos, 1:1), proporcionando (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6,7- bis(benciloxi)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- N,N- dimetil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- amina- metanol como un sólido gomoso (0.805 g, 45%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7,31- 7,16 (m, 10H), 6,19 (d, $J = 6,7$ Hz, 1H), 4,72 (d, $J = 12$ Hz,

30

1H), 4,60 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 4,57 (d, $J = 11,4$ Hz, 1H), 4,37- 4,32 (m, 2H), 4,06- 4,00 (m, 1H), 3,69- 3,62 (m, 2H), 3,60- 3,52 (m, 2H), 2,89 (s, 6H), 0,80 (s, 9H), 0,04 (s, 6H).

A una solución del material anterior (0.80 g, 1.48 mmol) en THF (6 ml) se agregó una solución 1M de TBAF (2.25 ml, 2.25 mmol) a 0 ° C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se diluyó con EtOAc (50 ml), la capa orgánica se lavó con NH₄Cl saturado, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El residuo crudo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna (100% acetato de etilo), proporcionando ((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6,7- bis(benciloxi)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- il)metanol (0.57g, 90%) como un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃), δ 7,38- 7,28 (m, 10H), 6,29 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 4,79 (d, $J = 12,1$ Hz, 1H), 4,69 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H), 4,65 (d, $J = 11,7$ Hz, 1H), 4,55- 4,53 (m, 1H), 4,43 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H), 4,24 (m, 1H), 3,77 (d, $J = 12,1$ Hz, 1H), 3,69- 3,59 (m, 3H), 3,00 (s, 6H).

Se agregó cloruro de metanosulfonilo (0.180 ml, 2.32 mmol) en porciones a una solución agitada de los materiales anteriores (0.673 g, 1.57 mmol) en piridina seca (8 ml) a 20 ° C. Después de 3 horas, la mezcla de reacción se diluyó con DCM (20 mL) y el extracto se lavó con DCM saturado, NaHCO₃ (30 ml), salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El residuo de piridina se removió mediante co- evaporación con hexanos. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo al 100% para proporcionar ((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6,7- bis(benciloxi)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- il)metil metanosulfonato (0.610 g, 76.4%) como un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) 7,32- 7,18 (m, 10H), 6,15 (d, $J = 6,48$ Hz, 1H), 4,68 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 4,57 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 4,53 (d, $J = 11,5$ Hz, 1H), 4,48- 4,45 (dd, $J = 3,8, 2,0$ Hz, 1H), 4,29 (d, $J = 11,4$ Hz, 1H), 4,24- 4,16 (m, 3H), 3,73- 3,69 (m, 1H), 3,53- 3,50 (dt, $J = 8,9, 1,7$ Hz, 1H), 2,91 (s, 6H), 2,90 (s, 3H).

25

A una solución del material anterior (0.7 g, 1.38 mmol) en CH₃CN (15 ml) se agregó una solución de TBAF (1.13 g, 7.59 mmol) en CH₃CN (5 ml) y la mezcla se calentó a reflujo durante 2,5 h. Después de la evaporación del solvente, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (7:3 EtOAc/hexanos) para proporcionar (3aR, 5S, 6S,7R,7aR)- 6,7- bis(benciloxi)- 5- (fluorometilo)- N,N- dimetil- 5,6,7,7a- tetrahidro- un- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- amina (0.567 g, 95%) como un sólido espumoso. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) 7,33- 7,18 (m, 10H), 6,20 (d, $J = 6,5$ Hz, 1H), 4,72 (d, $J = 12$ Hz, 1H), 4,60 (d, $J = 12,6$ Hz, 1H), 4,57 (d, $J = 11,9$ Hz, 1H), 4,46- 4,41 (m, 2H), 4,34- 4,30 (m, 2H), 4,14 (t, $J = 3$ Hz, 1H), 3,74- 3,64 (m, 1H), 3,59- 3,55 (m, 1H), 2,91 (s, 6H).

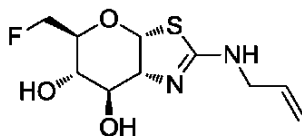
30

A una solución del material anterior (0.56 g, 1.3 mmol) en DCM seco (8 ml) a - 78 °C se agregó una solución de BCl₃ (1.0 M en DCM, 6.5 ml, 6.5 mmol) por goteo. La mezcla se agitó a - 78 °C a 0 °C durante 3 h. La reacción se apagó mediante la adición de una solución de 1:1 DCM- MeOH (5 mL) a - 78 °C. La mezcla se calentó lentamente a temperatura ambiente. Los solventes se evaporaron bajo presión reducida. Se agregó una solución 1.3M NH₃/MeOH (10 ml) al residuo y se evaporó. Esto se repitió una vez más. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con solución 90:10 DCM- MeOH NH₃ 1.3M. para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol como un sólido blanco (0.25 g, 76.7%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) 6,31 (d, *J* = 6,44 Hz, 1H), 4,63- 4,50 (dd, *J* = 44,4, 3,4 Hz, 2H), 4,09 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,92 (t, *J* = 6,9 Hz, 1H), 3,79- 3,69 (m, 1H), 3,55- 3,51 (dd, *J* = 5,4, 4,04 Hz, 1H), 3,01 (s, 6H). ¹³C RMN (100 MHz, MeOD) δ 166.34, 92.58, 84.50 (d, *J*_{C6, f} 171,2 Hz, C- 6), 77.09, 76.56, 76.55, 75.72 (d, *J*_{C5, f} 17,7 Hz, C- 5), 70,73 (d, *J*_{C4, f} 7,12 Hz, C- 4), 40.97. ES/MS: 251,6 [M + 1].

15

Ejemplo 61

(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (alilamino)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol



Una solución de (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (alil(tert- butoxycarbonil)amino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato (1.7 g, 3.0 mmol) en DCM (40 mL) se trató con DAST (2.5 g, 15.4 mmol) durante 30 minutos a 78 °C. Después se agitó durante la noche a temperatura ambiente, la reacción se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (30 ml). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con DCM (3 x 20 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (20 mL), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante una columna de gel de sílice con un 5%- 10% EtOAc en éter de petróleo para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (alil(tertbutoxycarbonil)amino)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil dibenzoato como un sólido blanco (580 mg, 32%). (ES, m/z): [M + H]⁺ 571.0; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,09 (d, *J* = 7,5 Hz, 4H), 7,60 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,45 (t, *J* = 7,8 Hz, 4H), 6,27 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H), 6,08 (s, 1H), 5,86- 5,92 (m, 1H), 5,40 (d, *J* = 9,6

30

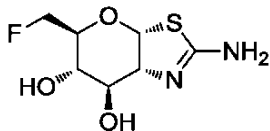
Hz, 1H) , 5,12 (d, $J = 9,3$ Hz, 2H), 4,81- 4,89 (dd, $J = 10,0$, 2.8 Hz, 1H), 4.63- 4.69 (m, 2H), 4,50- 4,54 (m, 2H), 3,82- 3,98 (m, 1H), 1,63 (s, 9H).

Una solución del material anterior (540 mg, 0.94 mmol) en MeOH (10 mL) se trató con K_2CO_3 (26 mg, 0.18 mmol) durante 2 horas a temperatura ambiente, luego se neutralizó con AcOH. Los volátiles se removieron para proporcionar un residuo que se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 5% en DCM para proporcionar alil((3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (fluorometil)- 6,7- dihidroxi- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]thiazol- 2- il)carbamato de tert- butilo como un sólido blanco (310 mg, 86%). (ES, m/z): $[M + H]^+$ 363,0; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6,10 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 5,85- 5,96 (m, 1H), 5,11- 5,18 (m, 2H), 4,61 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 4,43- 4,58 (m, 3H), 4.134.16 (m, 1H), 4,04- 4,07 (m, 1H), 3,53- 3,63 (m, 2H), 1,53 (s, 9H).

Una solución del material anterior (100 mg, 0.27 mmol) en MeOH (6 ml) se burbujó con gas HCl seco a temperatura ambiente hasta saturación. Después de 4 horas más, los volátiles se retiraron para proporcionar un residuo, que se disolvió nuevamente en MeOH (5 mL) y se neutralizó con NH_4OH concentrado, se concentró y se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 5%- 10% en DCM para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (alilamino)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a - tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]thiazol- 6,7- diol como sólido blanco (42.7 mg, 58%). (ES, m/z): $[M + H]^+$ 263.0; 1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 6,29 (d, $J = 6,3$ Hz, 1H), 5,85- 5,96 (m, 1H), 5.195.26 (m, 1H), 5,09- 5,14 (m, 1H), 4,63 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H), 4,47 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 4,07- 4,11 (m, 1H), 3,95- 3,99 (m, 1H), 3.86 a 3.89 (m, 2H), 3,68- 3,79 (m, 1H), 3,51- 3,56 (m, 1H).

Ejemplo 15

(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- amino- 5- (fluorometilo)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]thiazol- 6 ,7- diol



25

A una solución de (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (alil(tert- butoxycarbonil)amino)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]thiazol- 6,7- diil dibenzoato (500 mg, 0.88 mmol) en 1,4- dioxano (30 mL) se agregó $Pd(PPh_3)_4$ (200 mg, 0,17 mmol), HCO_2H (84 mg, 1,76 mmol) y Et_3N (177 mg, 1.76 mmol) a temperatura ambiente bajo atmósfera de N_2 . Después de 20 min a 60 ° C, se agregó HCO_2H adicional (404 mg, 8.8 mmol) a la mezcla de reacción. La reacción se agitó durante 2 horas a 60 ° C, y luego se apagó mediante H_2O (40

30

ml), neutralizó mediante NaHCO_3 , se extrajo con DCM (3 x 50 ml). La capa orgánica combinada se concentró y se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluyendo con 10% EtOAc en éter de petróleo para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (tert-butoxicarbonilamino)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro-

5 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato como un jarabe de color blanco (330 mg, 71%). (ES, m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ 531,0; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,30 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 8,06 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 7,46- 7,66 (m, 5H), 6,46 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 5,85 (s, 1H), 5,53 (d, $J = 6,6$ Hz, 1H), 4,71- 4,79 (m, 2H), 4,62 (t, $J = 2,1$ Hz, 1H), 3,95- 4,03 (m, 1H), 1,57 (s, 9H).

Una solución del material anterior (330 mg, 0.62 mmol) en MeOH (10 mL) se trató con K_2CO_3 (24 mg, 0.17 mmol) durante 2 horas a temperatura ambiente, luego se neutralizó mediante AcOH. Los volátiles se removieron para proporcionar un residuo que se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 2%- 5% en DCM para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (fluorometil)- 6,7- dihidroxi- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- ilcarbamato de tert- butilo como un sólido blanco (170 mg, 85%).

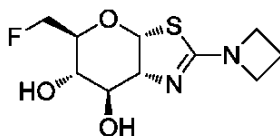
15 (ES, m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ 323,0; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6,22 (d, $J = 6,6$ Hz, 1H), 4,67- 4,79 (m, 1H), 4,57- 4,66 (m, 2H), 3,84 a 3,96 (m, 2H), 3,70 (t, $J = 8,4$ Hz, 1H), 1,52 (s, 9H).

Una solución del material anterior (110 mg, 0.34 mmol) en MeOH (5 ml) se burbujeó con gas HCl seco hasta saturación a temperatura ambiente. Después de 3 horas adicionales, los volátiles se removieron para proporcionar un residuo, el cual se neutralizó con NH_4OH concentrado y se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 10%- 20% en DCM para proporcionar (3aR, 5S, 6S, 7R, 7aR)- 2- amino- 5- (fluorometilo)- 5,6,7,7 un- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol como un sólido blanco (15 mg, 20%). (ES, m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$ 222,9; ^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 6,31 (d, $J = 6,3$ Hz, 1H), 4,63 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H), 4,47 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 4,07 (t, $J = 5,7$ Hz, 1H), 3,93 (t, $J = 4,8$ Hz, 1H), 3,66- 3,80 (m, 2H), 3,51- 3,58 (m, 1H).

25

Ejemplo 16

(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (azetidin- 1- il)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol



30

Una solución de

(3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (azetidin- 1- il)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7atetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato (100 mg, 0.2 mmol) en DCM (10 mL) se trató con DAST (137 mg, 0.8 mmol) durante 30 minutos a - 78 °C. Después de agitar durante la noche a temperatura ambiente, la reacción se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml), se extrajo con DCM (3 x 10 ml), se lavó con salmuera (10 mL), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío para proporcionar el producto crudo como un jarabe de color blanco (80 mg), el cual se disolvió en MeOH (5 mL) y se trató con K₂CO₃ (10 mg, 0.07 mmol) durante 3 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se neutralizó mediante AcOH y se concentró. El residuo se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 5%- 10% en DCM para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (azetidin- 1- il)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol como sólido blanco (10 mg, 17%, dos pasos). (ES, m/z): [M + H]⁺ 263,0; ¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 6,30 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H), 4.49- 4.69 (dd, *J* = 57, 3,3 Hz, 1H), 4.11- 4.15 (m, 1H), 3,93- 4,01 (m, 5H), 3,70- 3,82 (m, 1H), 3,59- 3,69 (m, 1H), 2,24- 2,34 (m, 2H).

Los siguientes ejemplos fueron sintetizados de acuerdo con procedimientos análogos a los esquemas y ejemplos que se describen arriba.

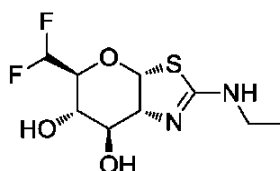
Tabla 4

Ejemplo	Estructura	Nombre
17		(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (fluorometil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol
¹ H RMN (400 MHz, CD ₃ OD) 6,52 (d, <i>J</i> = 6,48 Hz, 1H), 4,66- 4,52 (dt, <i>J</i> = 47.6, 10.4, 4.2 Hz, 2H), 4,15 (t, <i>J</i> = 6,5 Hz, 1H), 3,93 (t, <i>J</i> = 6,9 Hz, 1H), 3,87- 3,76 (m, 1H), 3,59- 3,55 (dd, <i>J</i> = 6,4, 3,12 Hz, 1H), 2,99 (s, 3H). ¹³ C RMN (100 MHz, MeOD) δ 169.32, 90.48, 84.10 (d, <i>J</i> _{C6, F} 171,5 Hz, C- 6), 76.45 (d, <i>J</i> _{C5, F} 17,8 Hz, C- 5), 69.86 (d, <i>J</i> _{C4, F} 6,6 Hz, C- 4), 55.67, 46.07, 32.11. (ES, m/z): [M + H] ⁺ : 237,6.		
18		(3aR, 5S, 6S, 7R, 7aR)- 5- (fluorometilo)- 2- (propilamino)- 5,6,7,7 a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6, 7- diol

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) 6,44 (d, *J* = 6,44 Hz, 1H), 4,67- 4,49 (dt, *J* = 47.5, 10.4, 4.2 Hz, 2H), 4,11 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,91 (t, *J* = 6,1 Hz, 1H), 3,82- 3,72 (m, 1H), 3,52- 3,55 (dd, *J* = 6.0, 3.4 Hz, 1H), 3,27- 3,21 (m, 2H), 1,66- 1,57 (m, 2H), 0,95 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H). ¹³C RMN (100 MHz, MeOD) δ 167.82, 90.26, 84.10 (d, *J*_{C6,F} 171,5 Hz, C- 6), 76.34 (d, *J*_{C5,f} 17,7 Hz, C- 5), 75.80, 75.79, 70.05 (d, *J*_{c4,f} 6,9 Hz, C- 4), 55.67, 23.98, 12.38. (ES, *m/z*): [M + H]⁺: 265,4.

Ejemplo 19

(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (etilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol



5

A una solución de ((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6,7- dihidroxi- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(etil)carbamato de tert- butilo (5.01g, 14.4 mmol) en DMF (25 mL) se agregó imidazol (1.57g, 23.1 mmol) y TBDMSCl (2.82g, 21.7 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 horas se diluyó con acetato de etilo (100 mL). Los orgánicos se lavaron con NH₄Cl saturado, salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El residuo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexanos, 1:1), proporcionando ((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 5- (((tertbutildimetilsilil)oxi)metil)- 6,7- dihidroxi- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(etil)carbamato de tert- butilo como un sólido blanco (5.08 g, 76%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 6,12 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,25 (t, *J* = 6,2 Hz, 1H), 4,16 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,10- 4,04 (m, 2H), 3,913.85 (m, 3H), 3,65- 3,62 (m, 1H), 1,55 (s, 9H), 1,26 (t, *J* = 7 Hz, 3H), 0,89 (s, 9H), 0,08 (s, 6H).

10

15

A una solución del material anterior (1.0 g, 2.2 mmol) en piridina (20 mL), a 0 ° C se agregó DMAP (0.024 g, 0.20 mmol), seguido por BzCl (2.0 ml, 17.6 mmol) lentamente. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La reacción se diluyó con EtOAc (50 ml), se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera. El extracto orgánico se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró bajo presión reducida. La piridina residual se co- evaporó con hexanos y el residuo crudo se separó sobre gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (EtOAc/hexanos, 1:5) para proporcionar (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- ((tert-

20

butoxycarbonil)(etil)amino)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH-
pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diildibenzoato (1.05 g, 71.3%) como un sólido blanco. ¹H RMN
(400 MHz, CDCl₃) δ 8,08 (m, 2H), 7,99 (m, 2H), 7,61- 7,52 (m, 2H), 7,47- 7,38 (m, 4H),
6,12 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 5,89 (dd, *J* = 1,5, 1,4 Hz, 1H), 5,39 (m, 1H), 4,46 (ddd, *J* = 5,5, 2,9,
5 0,96 Hz, 1H), 3,96 (m, 2H), 3,80 (m, 1H), 3,75- 3,70 (m, 2H), 1,54 (s, 9H), 1,18 (t, *J* = 5,5
Hz, 3H), 0,83 (s, 9H), 0,01 (s, 3H), 0,03 (s, 3H).

A una solución del material anterior (3.2 g, 4.8 mmol) en MeOH seco (30 ml) se
agregó AcCl (0.07 ml, 1.0 mmol) a 0 ° C. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura
durante 30 minutos y luego a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción
10 se diluyó con DCM (30 mL) y se neutralizó con una solución 10% de NaHCO₃ saturado. La
capa de DCM se lavó adicionalmente con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El
residuo crudo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (acetato de
etilo/hexano, 3:7) para proporcionar (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- ((tert-
butoxycarbonil)(etil)amino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol-
15 6,7- diil- dibenzoato (2.4 g, 90%) como un sólido espumoso. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ
8,06 (m, 2H), 8,01 (m, 2H), 7,58- 7,53 (m, 2H), 7,47- 7,39 (m, 4H), 6,14 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H),
5,93 (dd, *J* = 1,9, 1,8 Hz, 1H), 5,34 (m, 1H), 4,49 (ddd, *J* = 6,8, 3,6, 0,96 Hz, 1H), 4,03- 3,92
(m, 2H), 3,80- 3,65 (m, 3H), 1,53 (s, 9H), 1,19 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H).

A una solución del material anterior (1.0 g, 1.8 mmol) en DCM seco (25 ml) a 0 ° C
se agregó piridina seca (0.30 mL, 3.7 mmol), seguido por DMP (1.14 g, 2.69 mmol). La
reacción se agitó a 0 ° C durante 10 min y a temperatura ambiente durante las siguientes 1.5
h. La mezcla de reacción se diluyó con Na₂S₂O₃ 1M /NaHCO₃ saturado (30 ml, 1:1) y se
agitó durante 10 min. La capa DCM se separó, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para
25 proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- ((tert- butoxycarbonil)(etil)amino)- 5- formil- 5,6,7,7a-
tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato como un sólido espumoso crudo
(1.0 g de crudo). El producto fue llevado al siguiente paso sin purificación adicional. ¹H
RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 9,71 (s, 1H), 8,04 (m, 4H), 7,58 (m, 2H), 7,47- 7,39 (m, 4H), 6,14
(d, *J* = 6,24 Hz, 1H), 6,01 (dd, *J* = 1,8, 1,3 Hz, 1H), 5,53- 5,51 (m, 1H), 4,38 (ddd, *J* = 6.2,
30 3.2, 1.2 Hz, 1H), 4,27 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 4,0- 3,9 (m, 2H), 1,53 (s, 9H), 1,15 (t, *J* = 6,8 Hz,
3H).

El material anterior (1.0 g, crudo) fue adsorbido en DCM (30 mL) y se enfrió a -78 °
C. Se agregó DAST (1 ml, 7. mmol) por goteo mientras se agitó a 78 °C. Después de la

adición, se retiró el baño de refrigeración y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se diluyó con una solución de NaHCO₃ solución (15 ml). La capa DCM se separó, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel (acetato de etilo/hexanos, 1:4) para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- ((tert- butoxycarbonil)etil)amino)- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato (0.413 g, 40%) como un sólido espumoso. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,08 (m, 2H), 8,0 (m, 2H), 7.60- 7.53 (m, 2H), 7.46- 7.39 (m, 4H), 6,13 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 5,94 (m, 1H), 5,93 (td, *J* = 54,08, 2,9 Hz, 1H), 5.59- 5.56 (m, 1H), 4.55- 4.52 (ddd, *J* = 7.0, 3.4, 1.3 Hz, 1H) , 3,98- 3,86 (m, 3H), 1,55 (s, 9H), 1,17 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H).

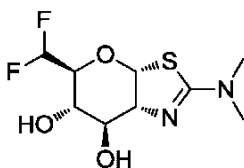
A una solución agitada del material anterior (0.41 g, 0.71 mmol) en MeOH seco (20 ml) se agregó K₂CO₃ (0.050 g, 0.36 mmol) a 0 ° C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó 1.5 horas. Se agregó AcOH (0,5 ml) a la mezcla de reacción y los contenidos se concentraron. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (acetato de etilo/hexanos, 1:1) para proporcionar ((3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 6,7- dihidroxi- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(etil)carbamato de tert- butilo (0.24 g, 91.6%) como un sólido espumoso. ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ 6,03 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 5,93 (td, *J* = 54,5, 2,6 Hz, 1H), 4,19 (m, 1H), 4,11 (t, *J* = 4,3 Hz , 1H), 3.963.87 (m, 2H), 3,82 (dd, *J* = 4,7, 4,4 Hz, 1H), 3,56- 3,47 (m, 1H), 1,53 (s, 9H), 1,16 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H).

El material anterior (0.24 g, 0.65 mmol) se absorbió en 30% TFA/DCM (10 mL) a 0 ° C, se agitó a esta temperatura durante 1 hora y se calentó a temperatura ambiente durante la siguiente hora. La mezcla de reacción se evaporó hasta sequedad. El residuo se neutralizó con 2M NH₃/MeOH (5 ml) y se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel (DCM/MeOH, 95:5) para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (etilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol como un sólido blanco (0.166 g, 95,2%). ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ 6,41 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 6,00 (td, *J* = 54,4, 1,9 Hz, 1H), 4,22 (t, *J* = 5,9 Hz, 1H), 4,01 (t , *J* = 4,6 Hz, 1H), 3,76- 3,70 (m, 2H), 3,37- 3,33 (m, 2H), 1,21 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).). ¹³C RMN (100 MHz, MeOD) δ 167,35, 116.25 (t, J_{C6,F} 242,0 Hz, C- 6), 89.10, 75.42 (t, *J* = 21,0 Hz), 74.74, 71.24, 69.96 (t, *J* = 4,0 Hz, C)- 4, 41.61, 15.09. ES/MS: 269.1 [M +1].

Una muestra del material anterior (13.0 g, 48.5 mmol, 97% purificado mediante LCMS con detección UV a 220 nm) se disolvió en acetato de etilo hirviendo (70 ml) luego se agregó hexano por goteo (aproximadamente 20 ml) hasta que algunos sólidos aparecieron. La solución resultante se dejó enfriar a temperatura ambiente. Los sólidos se recolectaron para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (etilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol (10.6 g, 98.3% purificado mediante LCMS con detección UV a 220 nm). Este material exhibió características espectrales idénticas a las descritas anteriormente para este compuesto.

Ejemplo 20

(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol



A una solución de (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol (0.944 g, 3.8 mmol) en DMF (5 mL) se agregó imidazol (0.8 g, 12 mmol) y TBDMSCl (0.75 g, 4.97 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y se concentró utilizando alto vacío. El residuo crudo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía en columna (DCM/MeOH, 95:5), proporcionando (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 5- (((tert-butildimetilsilil)oxi)metil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol como un sólido blanco (0.76 g, 55.2%). ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ 6,31 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 4,06 (t, *J* = 6,1 Hz, 1H), 3,92- 3,88 (m, 2H), 3,81- 3,76 (dd, *J* = 11,4, 5,7 Hz, 1H), 3,62- 3,58 (m, 1H), 3,52 a 3,48 (dd, *J* = 9,3, 5,5 Hz, 1H), 3,02 (s, 6H), 0,93 (s, 9H), 0,10 (s, 6H).

A una solución del material anterior (0.84 g, 2.31 mmol) en piridina (10 mL), a 0 ° C se agregó DMAP (0.028 g, 0.23 mmol), seguido por BzCl (1.6 ml, 13.8 mmol) lentamente. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La reacción se diluyó con EtOAc (50 ml), se lavó con una solución de NaHCO₃ saturado y salmuera. El extracto orgánico se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró bajo presión reducida. La piridina residual se co- evaporó con hexanos y el residuo crudo se separó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexanos, 2:3) para proporcionar

(3aR,5R,6S,7R,7aR)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- 5 d]tiazol- 6,7- diil dibenzoato (0.9 g, 68.4%) como un sólido blanco espumoso. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,04- 8,01 (m, 4H), 7,53- 7,47 (m, 2H), 7,40- 7,32 (m, 4H), 6,36 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 5,81 (t, *J* = 2,4 Hz, 1H), 5,35- 5,33 (dd, *J* = 7,1, 0,9 Hz, 1H), 4,59 (t, *J* = 4,2 Hz, 1H), 3,92- 3,89 (m, 1H), 3,80- 3,73 (m, 2H), 3,05 (s, 6H), 0,83 (s, 9H), 0,01 (s, 6H).

A una solución del material anterior (0.88 g, 1.54 mmol) en MeOH seco (6 ml) se agregó AcCl (0.054 ml, 0.77 mmol) a 0 ° C. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante 30 minutos y luego a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (30 mL) y se neutralizó con una solución NaHCO₃ 10% acuoso. La capa DCM se lavó adicionalmente con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (acetato de etilo/hexanos, 1:1) para proporcionar (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano- [3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato (0.57 g, 81%) como un sólido espumoso. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,03- 8,01 (m, 4H), 7,55- 7,49 (m, 2H), 7,41- 7,37 (m, 4H), 6,36 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H), 5,84- 5,83 (dd, *J* = 4.3, 3.0 Hz, 1H), 5,32- 5,28 (m, 1H), 4,57 (t, *J* = 5,2 Hz, 1H), 3,92- 3,88 (m, 1H), 3,78- 3,75 (dd, *J* = 12,4, 2,5 Hz, 1H), 3,70- 3,65 (dd, *J* = 12,4, 5,4 Hz, 1H), 3,03 (s, 6H).

A una solución del material anterior (0.57 g, 1.25 mmol) en DCM seco (10 ml) a 0 ° C se agregó DMP (0.8 g, 1.88 mmol). La reacción se agitó a 0 ° C durante 10 min a temperatura ambiente durante las 1.5 horas siguientes cuando el material de partida se consumió por completo. La mezcla de reacción se diluyó 1:1 1M Na₂S₂O₃: NHCO₃ saturado (30 ml) y se agitó durante 10 min. La capa DCM se separó, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para producir crudo que contenía sólido espumoso (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 5- formil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diilo- dibenzoato (0.56 g crudo). El producto crudo se llevó a siguiente reacción sin purificación adicional.

El material anterior (0.56 g, crudo) fue absorbido en DCM (10 mL) y se enfrió a - 78 ° C. Se agregó DAST (0.72 ml, 5.5 mmol) por goteo mientras se agitó a - 78 ° C. Después de la adición, el baño de refrigeración se removió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se diluyó con una solución de NaHCO₃ saturado (15 ml). La capa DCM se separó, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (acetato de etilo /hexanos,

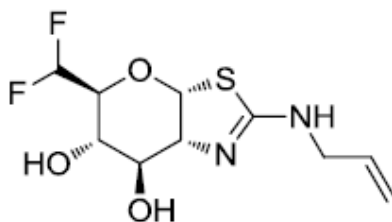
1:4) para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diildibenzoato (0.330 g, 55.2% más de 2 pasos) como un sólido espumoso. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,06- 8,01 (m, 4H), 7,57- 7,53 (m, 2H), 7.44- 7.39 (m, 4H), 6,38 (d, *J* = 5,3 Hz, 1H), 5.99- 5,77 (m, 1H), 5,85 (m, 1H), 5,54 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,66- 4,64 (m, 1H), 4.06- 4.01 (m, 1H), 3,06 (s, 6H).

A una solución agitada del material anterior (0.33 g, 0.69 mmol) en MeOH seco (8 ml) se agregó K₂CO₃ (0.073 g, 0.53 mmol) a 0 ° C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó 1.5 horas. Se agregó AcOH (0.5 ml) a la mezcla de reacción y los contenidos se concentraron. La sal AcOH así obtenida se trató con solución de 2M NH₃/MeOH (8 ml) y se concentró de nuevo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel sílice (DCM/MeOH, 9:1) para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol como un sólido espumoso (0.1 g, 54%). ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ 6,31 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H), 5,98 (td, *J* = 54.1, 2.0 Hz, 1H), 4,20 (t, *J* = 5,6 Hz, 1H), 4,04 (t, *J* = 4,7 Hz, 1H), 3,78- 3,66 (m, 2H), 3,03 (s, 6H). ¹³C RMN (100 MHz, MeOD) δ 166,20, 116,56 (t, Jc6, f 241,2 Hz, C- 6), 91.41, 77.21, 75.57, 75.04 (t, *J* = 21,0 Hz), 70.68 (t, *J* = 3,3 Hz, C- 4), 41.17. ES/MS: 269,1 [M +1].

20

Ejemplo 21

(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (alilamino)- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol



Una mezcla de prop- 2- en- 1- amina (9.2 g, 0.16 mol) y (2S, 3R, 4R, 5S, 6R)- 6- (acetoximetil)- 3- isotiocianatotetrahidro- 2H- piran- 2 ,4,5- triil- triacetato (60 g, 0.154 mol) en DCM (300 mL) se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente, seguido por la adición de TFA (88 g, 0.77 mol). La solución resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente, y se apagó con NaHCO₃ acuoso a pH hasta 8, y se extrajo con DCM (3 x 300 ml). La capa orgánica combinada se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, y se condensó para proporcionar

un residuo que se purificó mediante una columna de gel de sílice con un 1% ~ 2% de MeOH en DCM para proporcionar (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 5- (acetoximetil)- 2- (alilamino)- 5,6,7,7a-tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- diacetato como un líquido amarillo (58 g, 84%). (ES, m/z): [M + H]⁺ 387,0; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6,33 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 5,84- 5,96 (m, 1H), 5,32- 5,44 (m, 4H), 4,98- 5,04 (m, 1H), 4,37 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 4,28- 4,22 (m, 2H), 3,92- 3,95 (m, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 2,11 (s, 3H).

Una solución del material anterior (50 g, 0,13 mol) en MeOH (300 mL) se trató con K₂CO₃ (3,6 g, 0,26 mol) durante la noche a temperatura ambiente, seguido por la adición de Boc₂O (56 g, 0,26 mol) y Et₃N (19,6 g, 0,19 mol). Después de más de 2 horas, la solución resultante se concentró para proporcionar un residuo que se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH al 5% en DCM para proporcionar alil((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6,7- dihidroxi- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)carbamato de tert- butilo como un aceite (42 g, 90% en dos pasos). (ES, m/z): [M + H]⁺ 361,0; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6,14 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 5,84- 5,96 (m, 1H), 5,22- 5,44 (m, 4H), 4,37- 4,38 (m, 1H), 4,22- 4,28 (m, 2H), 3,92- 3,95 (m, 3H), 1,54 (s, 9H).

Una mezcla de TBDMSCl (26 g, 0,17 mmol), DMAP (1,4 g, 0,01 mol), Et₃N (23,5 g, 0,23 mmol) y el material anterior (42 g, 0,12 mol) en DCM (300 ml) se agitó durante la noche a 40 °C. La mezcla de reacción se apagó mediante NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml), y se condensó para proporcionar un residuo que se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluyendo con 1% ~ 2% MeOH en DCM para proporcionar alil((3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)- 5- ((tert- butildimetilsililoxi)metil)- 6,7- dihidroxi- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)carbamato de tert- butilo como un jarabe de color amarillo claro (48 g, 87%). (ES, m/z): [M + H]⁺ 474,9; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6,16 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 5,84- 5,93 (m, 1H), 5,22- 5,32 (m, 4H), 4,65- 4,67 (m, 1H), 4,26- 4,31 (m, 1H), 4,20- 4,22 (m, 1H), 3,84- 3,88 (m, 3H), 1,54 (s, 9H), 0,93 (s, 9H), 0,09 (s, 6H).

Una mezcla de BzCl (11,1 g, 79 mmol), DMAP (322 mg, 2,63 mmol), piridina (20,8 g, 263 mmol) y el material anterior (12,5 g, 26,3 mmol) en DCM (150 ml) a 0 °C se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (200 ml), se extrajo con DCM (3 x 100 ml), se lavó con salmuera (3 x 50 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se condensó para proporcionar un residuo que se purificó mediante una columna de gel de sílice con 10% EtOAc en éter de petróleo para proporcionar

(3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (alil(tert- butoxycarbonil)amino)- 5- ((tert- butil- dimetilsililoxi)metil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato como un sólido blanco (16.5 g, 78%). (ES, m/z): [M + H]⁺ 683,1; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,05- 8,10 (m, 4H), 7,56- 7,61 (m, 2H), 7,42- 7,47 (m, 4H), 6,27 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 5,99- 6,02 (m, 2H), 5,86- 5,92 (m, 1H), 5,43- 5,46 (m, 1H), 5,10- 5,18 (m, 2H), 4,81- 4,89 (m, 1H), 4,56- 4,62 (m, 2H), 3,76- 3,87 (m, 3H), 1,56 (s, 9H), 0,88 (s, 9H), 0,04 (s, 6H).

Una solución del material anterior (7.0 g, 10.3 mmol) en MeOH (50 mL) se trató con AcCl (0.5 ml, 0.07 mmol) durante 3 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (10 mL) y agua (200 ml), se extrajo con DCM (3 x 50 ml), se secó sobre MgSO₄ anhidro y se concentró al vacío para proporcionar un residuo que se purificó mediante una columna de gel de sílice con un 10% EtOAc en éter de petróleo para proporcionar (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (alil(tert- butoxycarbonil)amino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato como un jarabe de color blanco (1,7 g, 29%). (ES, m/z): [M + H]⁺ 569,0; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,06- 8,09 (m, 4H), 7,60- 7,63 (m, 2H), 7,43- 7,58 (m, 4H), 6,26 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 6,06- 6,27 (m, 2H), 5,37- 5,41 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 5,11- 5,28 (m, 2H), 4,82- 4,84 (m, 1H), 4,56- 4,62 (m, 2H), 3,71- 3,86 (m, 3H), 1,56 (s, 9H).

Una solución del material anterior (1.5 g, 2.6 mmol) en DCM (30 mL) se trató con DMP (1.7 g, 4.0 mmol) durante 2 horas a temperatura ambiente. La solución resultante se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml) y Na₂S₂O₃ acuoso saturado (10 ml), se extrajo con DCM (3 x 50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío para proporcionar un residuo que se purificó mediante una columna corta de gel de sílice con EtOAc al 30% en petróleo para proporcionar un aldehído crudo (1.3 g), el cual se disolvió en DCM (20 mL) y se trató con DAST (1.5 g, 9.3 mmol) a 78 °C. Después de agitar durante la noche a temperatura ambiente, la solución resultante se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (50 ml), se extrajo con DCM (3 x 50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío para proporcionar un residuo, el cual se purificó mediante una columna de gel de sílice con 10% EtOAc en petróleo para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (alil(tert- butoxycarbonil)amino)- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato como un sólido blanco (650 mg, 43%). (ES, m/z) [M + H]⁺ 589,0, ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃), δ 8,03- 8,13 (m, 4H), 7,56- 7,61 (m, 2H), 7,48- 7,51 (m, 4H),

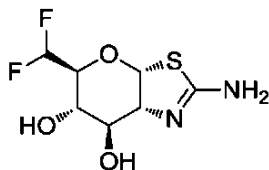
6.116.14 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 5,95- 6,09 (td, $J = 54,3$ Hz, 2,8 Hz, 1H), 5.19- 5.25 (m, 2H), 4.44- 4.45 (m, 2H), 4.31- 4.36 (m, 2H), 4,10- 4,18 (m, 2H), 1.53 (s, 9H).

Una solución del material anterior (200 mg, 0.34 mmol) en MeOH (15 mL) se trató con K_2CO_3 (10 mg, 0,07 mmol) durante 3 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se neutralizó mediante ácido acético, y se condensó para proporcionar un residuo, el cual se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluyendo con MeOH 1% ~ 2% en DCM para proporcionar alil(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 6,7- dihidroxi- 5,6,7,7a-tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 2- il)carbamato de tert- butilo de un aceite amarillo (150 mg, 76%). (ES, m/z): $[M + H]^+$ 381,0; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6,13 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H), 5,95- 6,09 (m, 1H), 5.19- 5.25 (m, 2H), 4,44- 4.45 (m, 2H), 4.31- 4.36 (m, 2H), 4,10- 4,18 (m, 2H), 1,53 (s, 9H).

Una solución del material (150 mg, 0.39 mmol) en DCM (18 mL) se trató con TFA (1.8 ml) durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se condensó para proporcionar un residuo, el cual se neutralizó mediante NH_4OH (0.5 ml, 25% ~ 28%, w/v) para la purificación mediante HPLC preparativa bajo las siguientes condiciones [(Agilent 1200 HPLC preparativa, columna: Sun Fire C18, 19 * 50 mm 5 μ m; Fase móvil: agua con 0,03% NH_4OH y CH_3CN (10% CH_3CN hasta 45% en 10 min; Detector: UV 220 nm) para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (alilamino)- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol como un sólido blanco (16.6 mg, 15%) $[M + H]^+$ 281,0; 1H RMN (300 MHz, D_2O) δ 6,20 (d, $J = 6,3$ Hz, 1H), 06.14- 06.16 (m, 1H), 5.74- 5.78 (t, $J = 2,7$ Hz, 1H), 5,04- 5,10 (m, 2H), 4,20 a 4,24 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 4,04- 4,07 (t, $J = 4,2$ Hz, 1H), 3,66- 3,86 (m, 4H).

Ejemplo 22

(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- amino- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6,7- diol



A una solución de (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (alil(tert- butoxycarbonil)amino)- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato (900 mg, 1.53 mmol) en 1,4- dioxano (30 mL) se agregó $Pd(PPh_3)_4$ (347 mg, 0.30 mmol), HCO_2H (384

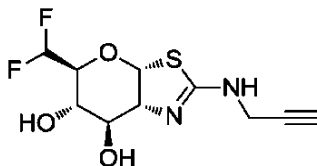
mg, 8.35 mmol) y Et₃N (846 mg, 8.38 mmol) bajo atmósfera de N₂ a 10 °C. Después de 20 minutos a 60 °C, se agregó HCO₂H adicional (1.4 g, 30.3 mmol). Después se agitó durante la noche a 60 °C, la mezcla de reacción se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado, se extrajo con DCM (3 x 30 ml), se secó mediante MgSO₄ anhidro y se concentró bajo presión reducida para proporcionar un residuo, el cual se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluyendo con 10% EtOAc en hexano para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (tert- butoxycarbonilamino)- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato como un jarabe de color blanco (600 mg, 72%). (ES, m/z): [M + H]⁺ 549,0; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,07- 8,14 (m, 4H), 7,60- 7,65 (m, 2H), 7,51 7,59 (m, 4H) , 6,34 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 5.82- 6.20 (td, J = 54,0 Hz, 2,7 Hz, 1H), 5,83- 5,85 (m, 1H), 5,61- 5,64 (m, 1H), 4.59- 4,63 (m, 1H), 4.5- 4.18 (m, 1H), 1,53 (s, 9H).

Una solución del material anterior (600 mg, 1,1 mmol) en MeOH (50 mL) se trató con K₂CO₃ (45 mg, 0.33 mmol) durante 3 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se neutralizó mediante la adición de AcOH, y se condensó para proporcionar un residuo, el cual se purificó mediante una columna de gel de sílice eluyendo con 1% ~ 5% de MeOH en DCM para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 6,7- dihidroxi- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- ilcarbamato de tert- butilo como un sólido (300 mg, 81%). (ES, m/z): [M + H]⁺ 341,0; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 6,17 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 5,85- 6,21 (td, J = 51,6 Hz, 2,7 Hz , 1H), 3,84- 4,16 (m, 4H), 1,56 (s, 9H).

Una solución del material anterior (135 mg, 0.4 mmol) en DCM (10 mL) se trató con TFA (1 ml) durante la noche a temperatura ambiente. La eliminación de los solventes proporcionó un residuo que se disolvió en MeOH (5 mL) y se neutralizó mediante NH₄OH concentrado (0.5 ml, 25% ~ 28%, w/v). se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa en las siguientes condiciones [(Agilent 1200): Columna, X- Bridge C18; fase móvil, 50 mmol /L NH₄HCO₃ en agua con 0.05% NH₄OH y CH₃CN (CH₃CN 5% - 20% en 10 minutos) ; Detector UV 220 nm] proporcionando (3aR, 5S, 6S, 7R, 7aR)- 2- amino- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7 tetrahidro- un- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol como un sólido blanco (26.7 mg, 27%). (ES, m/z): [M + H]⁺ 240,9; ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 6,28 (d, J = 6,3 Hz, 1H), 5,50- 6,14 (td, J = 54,3 Hz, 2,1 Hz , 1H), 4.164.20 (m, 1H), 4,02- 4,05 (t, J = 4,5 Hz, 1H), 3,74- 3,80 (m, 1H), 3,63- 3,71 (m, 1H).

Ejemplo 23

(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (prop- 2- inilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol



Una solución de (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (tert- butoxycarbonlamino)- 5-
5 (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato (800 mg, 1,46 mmol) y 3- bromoprop- 1- ino (538 mg, 4,56 mmol) en DMF (15 mL) se trató con K_2CO_3 (125 mg, 0,91 mmol) durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se apagó con NH_4Cl acuoso saturado (30 ml), se extrajo con DCM (3 x 10 ml), se lavó con salmuera (3 x 10 ml), se secó sobre $MgSO_4$, y se condensó para proporcionar un residuo, el
10 cual se purificó mediante una columna de gel de sílice con un 10% EtOAc en éter de petróleo para proporcionar una mezcla que contiene (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (tert- butoxycarbonil(prop- 2- inil)amino)- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato como un sólido de color amarillo claro (210 mg), el cual se utilizó en el paso siguiente sin purificación
15 adicional. (ES, m/z): $[M + H]^+ 587.0$.

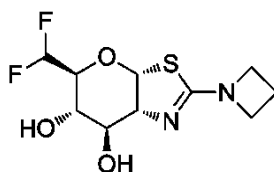
Una solución de la mezcla anterior (210 mg, 0.36 mmol) en MeOH (10 mL) se trató con K_2CO_3 (14.8 mg, 0.11 mmol) durante 2 horas a 25 °C, seguido por una neutralización con AcOH. La eliminación de compuestos volátiles proporcionó un residuo, el cual se purificó
20 mediante una columna de gel de sílice con 20% EtOAc en éter de petróleo para proporcionar una mezcla que contiene (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 6,7- dihidroxi- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il(prop- 2- inil)carbamato de tert- butilo (125 mg). (ES, m/z): $[M + H]^+ 379.0$.

Una solución de la mezcla anterior (50 mg, 0.1 mmol) en THF (10 mL) se trató con
25 $MeMgCl$ (0.3 ml, 1 mmol, 3 M en THF) durante la noche a 10 °C. La reacción se apagó con NH_4Cl acuoso saturado de (1 ml), y se condensó para proporcionar un residuo, el cual se disolvió en MeOH al 10% en DCM y se filtró a través de una columna corta de gel de sílice. Se concentró y se purificó mediante HPLC preparativa bajo las siguientes condiciones [(Agilent 1200 HPLC preparativa): Columna, Sun Fire de preparación C18 * 50 mm 5 um;
30 fase móvil, H_2O con CH_3CN (40% CH_3CN hasta un 60% en 5 min), Detector, UV, 220 nm] proporcionó (3aR, 5S, 6S, 7R, 7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (Prop- 2- inilamino)- 5,6,7,7 a-

tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6 ,7- diol (22 mg, isómero de movimiento más rápido mediante HPLC). (ES, m/z): [M + H]⁺ 279,0; ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7,37 (1H amplio), 6,21 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H), 5,76- 6,28 (td, *J* = 53,7 Hz, 2,1 Hz, 1H), 5,27 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 4,96 a 4,98 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H), 4,05- 4,09 (m, 1H), 3,85- 3,99 (m, 3H), 3,51- 3,60 (m, 2H), 3,13 (s, 1H).

Ejemplo 24

(3aR, 5S, 6S, 7R, 7aR)- 2- (azetidin- 1- il)- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7- tetrahidro- 3aH pirano[3,2- d]tiazol- 6 ,7- diol



10

Una mezcla de Et₃N (18.7 g, 185 mmol), clorhidrato de azetidina (12 g, 129 mmol) y (2S,3R,4R,5S,6R)- 6- (acetoximetil)- 3- isotiocianatotetrahidro- 2H- pirano- 2,4,5- triil- triacetato (48 g, 123 mmol) en DCM (500 mL) se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente, seguido por la adición de TFA (56 g, 493 mmol). La solución resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente, se neutralizó mediante NaHCO₃, se extrajo con DCM (3 x 100 ml), se secó sobre Na₂SO₄, y se condensó para proporcionar un residuo, el cual se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 30% en petróleo para proporcionar (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 5- (acetoximetil)- 2- (azetidin- 1- il)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- diacetato como un jarabe de color amarillo claro (36 g, 75%). (ES, m/z): [M + H]⁺: 386,9; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6,29 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 5,44- 5,47 (m, 1H), 4,95- 4,99 (m, 1H), 4,36 (t, *J* = 5,4 Hz, 1H), 4,05- 4,18 (m, 6H), 3,86- 3,92 (m, 1H), 2,34- 2,44 (m, 2H), 02.07- 02.14 (m , 9H).

Una disolución del material anterior (36 g, 93 mmoles) en MeOH (200 mL) se trató con K₂CO₃ (5.14 g, 37 mmol) durante 4 horas a temperatura ambiente. La solución resultante se filtró a través de una columna corta de gel de sílice para producir (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (azetidin- 1- il)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]thiazol- 6,7- diol como un jarabe de color amarillo claro (21 g, 87%). (ES, m/z): [M + H]⁺: 261,0; ¹H NMR (300 MHz, DMSO) δ 6,27 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H), 3,94 (t, *J* = 6,3 Hz, 1H), 3,85 (t, *J* = 7,5 Hz, 4H), 3,70 (t, *J* = 4,8 Hz, 1H), 3,55- 3,59 (m, 1H), 3,33- 3,42 (m, 3H), 2,21- 2,51 (m, 2H) .

A una solución del material anterior (34 g, 131 mmol), Et₃N (20.2 g, 0.2 mol) y DMAP (0.5 g, 4 mmol) en DCM (200 ml) se agregó TBDMSCl (21.6 g, 143 mmol) .

Después se agitó durante la noche a 15 ° C, la mezcla de reacción se apagó mediante la adición de NaHCO₃ acuoso saturado (200 ml), se extrajo con DCM (3 x 100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío para proporcionar un residuo que se purificó sobre una columna de gel de sílice con 2% de MeOH en DCM para proporcionar (3aR,5R,6S,7R,7aR)-
5 2- (azetidin- 1- il)- 5- ((tert- butildimetilsililoxi)metil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol como un sólido (32 g, 65%). (ES, m/z): [M + H]⁺: 375,0; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 6,38 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H), 4,24 (t, *J* = 6,3 Hz, 1H), 4,04- 4,09 (m, 5H), 3,85 (d, *J* = 3,6 Hz, 2H), 3,70 a 3,78 (m, 1H), 3,66- 3,69 (m, 1H), 2,33- 2,43 (m, 2H), 0,91 (s, 9H), 0,09 (s, 6H).

10 Una solución del material anterior (3.0 g, 8.0 mmol) en DMF (40 mL) se trató con NaH (1.5 g, 37.50 mmol) a temperatura ambiente durante 30 minutos, seguido por la adición de BzCl (3.36 g, 24 mmol). La solución resultante se agitó durante la noche a 15 ° C, se apagó con agua /hielo (100 ml), se extrajo con DCM (3 x 50 ml), se lavó con salmuera (3 x 20 ml), se secó sobre Na₂SO₄, y se condensó para proporcionar un residuo, el cual se purificó
15 mediante una columna de gel de sílice con 10% EtOAc en éter de petróleo para proporcionar (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (azetidin- 1- il)- 5- ((tert- butildimetilsililoxi)metil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato como el aceite de color amarillo (1.38 g, 30%). (ES, m/z): [M + H]⁺: 583,0; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8,05- 8,09 (m, 4H), 7,54- 7,59 (m, 2H), 7,28- 7,39 (m, 4H), 6,43 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H), 5,84- 5,96 (m, 1H), 5,37
20 (dd, *J* = 2,1, 1,5 Hz, 1H), 4,59- 4,61 (m, 1H), 4,04- 4,09 (m, 5H), 3,78- 3,93 (m, 2H), 2,38- 2,43 (m, 2H), 0,91 (s, 9H), 0,09 (s, 6H).

Una solución del material anterior (1.3 g, 2.2 mmol) en MeOH (10 mL) se trató con AcCl (1 ml, 0.45 mmol) durante la noche a los 15 °C. La reacción se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (20 ml), se extrajo con DCM (3 x 40 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se
25 concentró al vacío para proporcionar un residuo, el cual se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluyendo con 20% EtOAc en éter de petróleo para proporcionar (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (azetidin- 1- il)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato como un sólido (0.42 g, 40%). (ES, m/z): [M + H]⁺: 469,0; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8,04- 8,11 (m, 4H), 7,55- 7,62 (m, 2H), 7,42- 7,48 (m, 4H), 6,48 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 5,92 (t, *J* = 3,6 Hz, 1H), 5,35 (dd, *J* = 8,0, 3,6 Hz, 1H), 4,63 (t, *J* = 5,4 Hz, 1H), 4,11- 4,18 (m, 4H), 3,92- 3,96 (m, 1H), 3,80- 3,84 (m, 1H), 3,69- 3,68 (m, 1H), 2,38- 2,48 (m, 2H).
30

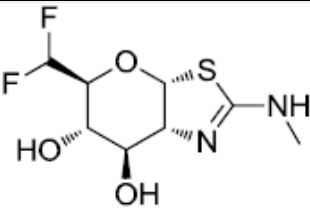
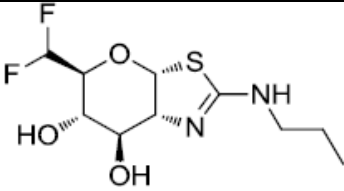
Una solución del material anterior (400 mg, 0.85 mmol) en DCM (20 mL) se trató con DMP (600 mg, 1.41 mmol) a 0 ° C durante 10 minutos, y 2 horas más a 25 °C. La solución resultante se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml) y Na₂S₂O₃ acuoso saturado (10 ml), se extrajo con DCM (3 x 20 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío para proporcionar un residuo que se disolvió en DCM (20 mL) y se trató con DAST (5 ml, 4.48 mmol) a - 78 °C. La solución resultante se agitó durante la noche a 15 ° C, y se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml). La capa orgánica se separó y el acuoso resultante se extrajo con DCM (2 x 20 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante una columna de gel de sílice con 20% EtOAc en éter de petróleo para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (azetidin- 1- il)- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diil- dibenzoato como un aceite de color amarillo (240 mg, 46%). (ES, m/z): [M + H]⁺: 488,9; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8.03- 08.13 (m, 4H), 7.56- 7.63 (m, 2H), 7.42- 7.49 (m, 4H), 6.48 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 5.94- 5.96 (m, 2H), 5.58 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 4.73 (s, 1H), 4.07- 4.17 (m, 4H), 2.43- 2.51 (m, 2H).

Una solución del material anterior (110 mg, 0.23 mmol) en MeOH (10 mL) se trató con K₂CO₃ (20 mg, 0.14 mmol) durante 2 horas a 25 ° C, y luego neutralizó mediante AcOH. La eliminación de volátiles proporcionó un residuo, el cual se purificó mediante una columna de gel de sílice con MeOH al 10% en DCM para proporcionar (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (azetidin- 1- il)- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol como un sólido blanco (24 mg, 22%). (ES, m/z): [M + H]⁺: 280,9; ¹H RMN (300 MHz, D₂O) δ 6.29 (d, J = 6,3 Hz, 1H), 5.82- 6.00 (td, J = 54,0 Hz, 1,8 Hz, 1H), 4.24 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 3.97- 4.04 (m, 5H), 3.82- 3.87 (m, 1H), 3.69- 3.80 (m, 1H), 2.29 (m, 2H) .

Los siguientes ejemplos fueron sintetizados según procedimientos análogos a los esquemas y ejemplos descritos anteriormente.

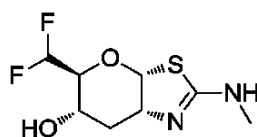
Tabla 5

Ejemplo	Estructura	Nombre
---------	------------	--------

25		(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7- tetrahidro- 3aH pirano[3,2- d]tiazol- 6 ,7- diol
¹ H RMN (400 MHz, MeOD) δ 6,45 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 6,01 (td, J = 54,2, 2,2 Hz, 1H), 4,23 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 4,00 (t, J = 4,8 Hz, 1H), 3,82- 3,73 (m, 2H), 2,95 (s, 3H). ¹³ C RMN (100 MHz, MeOD) δ 168,82, 116,17 (t, J _{C6,F} 241,5 Hz, C- 6), 89.26, 75.42 (t, J = 21,2 Hz), 74.75, 69.87 (t, J = 3,3 Hz, C- 4), 55.64, 32.20. (ES, m/z): [M + H] ⁺ : 255,0.		
Ejemplo	Estructura	Nombre
26		(3aR, 5S, 6S, 7R, 7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (Propilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3H- pirano[3,2- d]tiazol- 6 ,7- diol
¹ H RMN (400 MHz, MeOD) δ 6,44 (d, J = 6,5 Hz, 1H), 6,01 (td, J = 54,2, 1,8 Hz, 1H), 4,23 (t, J = 5,9 Hz, 1H), 4,03 (t, J = 4,6 Hz, 1H), 3,79- 3,72 (m, 2H), 3,32- 3,23 (m, 2 h), 1,69- 1,60 (m, 2H), 0,98 (t, J = 7,3 Hz, 3H). ¹³ C RMN (100 MHz, MeOD) δ 167,42, 116,25 (t, J _{C6,F} 241,4 Hz, C- 6), 89.12, 75.41 (t, J = 21,4 Hz), 74.78, 69.99 (t, J = 3,2 Hz, C- 4), 55.64, 48.47, 23.98, 12.36. (ES, m/z): [M + H] ⁺ : 283,1.		

Ejemplo 27

(3aR,5S,6S,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol



5

Una mezcla de ((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6- (benzoiloxi)- 2- ((tert-butoxicarbonil)(metil)amino)- 7- hidroxil- 5, 6,7,7 tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- il) benzoato de metilo (5.00 g, 9.24 mmol) y tio- CDI (90% tech, 3.40 g, 19.1 mmol) en DMF anhidro (30 mL) se agitó a 95 ° C durante 4 horas Después de enfriar el solvente se eliminó bajo presión reducida, y el residuo se purificó sobre gel de sílice por cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexano, 1:10 a 2:3), proporcionando (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)- 7- ((1H- imidazol- 1- carbonotioil) oxil)- 5- ((benzoiloxi) metil)- 2- ((tert-

10

butoxicarbonil) (metil) amino)- 5,6,7,7- tetrahidro- un 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- il benzoato como un sólido de color amarillo pálido (5.60 g, 93%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,76 (s, 1H), 8,03- 8,01 (m, 2H), 7,97- 7,95 (m, 2H), 7,64- 7,60 (m, 1H), 7,54- 7,50 (m, 1H), 7,45 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H), 7,34 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H), 7,02 (s, 1H), 6,38- 6,37 (m, 1H), 6,15 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 5,56 (td, *J* = 1.2, 9.2 Hz, 1H), 4,70- 4,67 (m, 1H), 4,58 (dd, *J* = 3,2, 12,1 Hz, 1H), 4,42 (dd, *J* = 5.1, 12.1 Hz, 1H), 4,08- 4,03 (m, 1H), 3,43 (s, 3H), 1,56 (s, 9H).

Una mezcla del material anterior (5.60 g, 8.59 mmol), Bu₃SnH (5.84 g, 17,0 mmol) y ABCN (0.15 g, 0.60 mmol) en la mezcla de tolueno anhidro/THF (50/50 ml) se agitó a 90 ° C durante 16 horas. Después de enfriar el solvente se eliminó bajo presión reducida, y el residuo se purificó sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexanos, 1:10 a 1:2), proporcionando ((3aR,5R,6S,7aR)- 6- (benzoiloxi)- 2- ((tert-butoxicarbonil)(metil)amino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- il)metilbenzoato como un sólido blanco (3,20 g, 70%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,03- 7,98 (m, 4H), 7,58- 7,49 (m, 2H), 7,44- 7,40 (m, 4H), 6,08 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 5,44- 5,40 (m, 1H), 4,49- 4,40 (m, 3H), 4,07- 4,03 (m, 1H), 3,35 (s, 3H), 2,64- 2,59 (m, 1H), 2,44- 2,37 (m, 1H), 1,56 (s, 9H).

Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 32, el material anterior (3.20 g, 6.10 mmol) fue benzoilo- desprotegido utilizando K₂CO₃. Después de la purificación sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (MeOH/DCM, 1:50 a 1:20), se obtuvo ((3aR,5R,6S,7aR)- 6- hidroxil- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato- tert- butilo como un sólido blanco (1.82 g, 94%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 5,91 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 4,36- 4,32 (m, 1H), 3,89- 3,85 (m, 1H), 3,81- 3,75 (m, 1H), 3,65- 3,59 (m, 1H), 3,38- 3,34 (m, 1H), 3,33 (s, 3H), 2,48- 2,43 (m, 1H), 2,32 (d, *J* = 10,7 Hz, 1H), 2,17 a 2,11 (m, 1H), 1,84 (t, *J* = 6,3 Hz, 1H), 1,54 (s, 9H).

Siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 32, el material anterior (1,82 g, 5,74 mmoles) fue mono- TBDMS protegido. Después de la purificación sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexano, 1:10 a 1:2), ((3aR,5R,6S,7aR)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 6- hidroxil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo se obtuvo como un aceite incoloro pegajoso (2.30 g, 93%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 5,92 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,31- 4,28 (m, 1H), 3,92- 3,90 (m, 1H), 3,73 (d, *J* = 4,6 Hz, 2H), 3,35- 3,31 (m, 1H), 3,33 (s, 3H), 2,41 (d, *J* = 9,4 Hz, 1H), 2,41- 2,36 (m, 1H), 2,18- 2,12 (m, 1H), 1,54 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 0,06 (s, 6H).

Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 32, el material anterior (2.78 g, 6.45 mmol) fue bencilo- protegido utilizando BnBr. Después de la purificación sobre gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexano, 1:10- 01:04), ((3aR,5R,6S,7aR)- 6- (benciloxi)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo se obtuvo como un aceite incoloro pegajoso (2,7 g, 80%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,36- 7,27 (m, 5H), 6,02 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 4,67 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 4,40 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 4,34- 4,30 (m, 1H), 3,83- 3,78 (m, 1H), 3,77- 3,69 (m, 2H), 3,53- 3,50 (m, 1H), 3,29 (s, 3H), 2,44- 2,39 (m, 1H), 2,14- 2,08 (m, 1H), 1,52 (s, 9H), 0,88 (s, 9H), 0,04 (s, 6H).

Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 32, el material anterior (2.70 g, 5.30 mmol) fue sililo- desprotegido utilizando TBAF. Después de la purificación sobre gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida se obtuvo (EtOAc/hexanos, 1:5 a 1:1), ((3aR,5R,6S,7aR)- 6- (benciloxi)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo como una espuma pegajosa incolora (2,0 g, 93%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,37- 7,27 (m, 5H), 6,01 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 4,69 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 4,40 (d, *J* = 11,6 Hz, 1H), 4,36-4,34 (m, 1H), 3,77- 3,72 (m, 2H), 3,62- 3,54 (m, 2H), 3,30 (s, 3H), 2,53- 2,48 (m, 1H), 2,09- 2,02 (m, 1H), 1,71 (t, *J* = 6,3 Hz, 1H), 1,53 (s, 9H).

Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 32, el material anterior (0.663 g, 1,62 mmol) se oxidó a aldehído utilizando DMP. Después de la purificación en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (EtOAc /hexanos, 1:10 a 2:3), ((3aR,5S,6S,7aR)- 6- (benciloxi)- 5- formil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo se obtuvo como una espuma blanca (0,57 g, 86%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 9,63 (s, 1H), 7,36- 7,27 (m, 5H), 6,04 (d, *J* = 4,3 Hz, 1H), 4,69 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 4,50 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 4,43- 4,39 (m, 1H), 4,07 (d, *J* = 6,4 Hz), 4,02- 3,99 (m, 1H), 3,29 (s, 3H), 2,64- 2,59 (m, 1H), 2,10 a 2,03 (m, 1H), 1,53 (s, 9H).

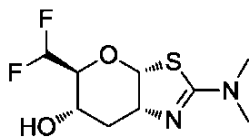
Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 32, el material anterior (0,550 g, 1,35 mmol) se trató con DAST. Después de la purificación en gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexanos, 1:10- 01:3), ((3aR,5S,6S,7aR)- 6- (benziloxi)- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo se obtuvo como un aceite pegajoso de color amarillo pálido (0,48 g, 83%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,34- 7,27 (m, 5H), 6,04 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 5,79 (dt, *J* = 2,2, 54,7 Hz, 1H), 4,67 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H), 4,43 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H), 4,43-

3,40 (m, 1H), 4,01- 3,97 (m, 1H), 3,82- 3,73 (m, 1H), 3,27 (s, 3H), 2,59- 2,54 (m, 1H), 2,10- 2,05 (m, 1H), 1,53 (s, 9H).

Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 32, el material anterior (0,480 g, 1,12 mmol) se desprotegió con BCl_3 . Después de la purificación en gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (1,0 M de NH_3 en MeOH/DCM , 1: 12.), se obtuvo (3aR,5S,6S,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6- ol como un sólido pegajoso amarillo pálido (0.24 g, 87%). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 6,17 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H), 5,91 (dt, $J = 2,6, 54,4$ Hz, 1H), 4,38- 4,34 (m, 1H), 4,03- 3,98 (m, 1H), 3,64- 3,61 (m, 1H), 2,84 (s, 3H), 2,16 a 2,13 (m, 2H), ^{13}C RMN (100 MHz, CD_3OD) δ 163,35, 116,00 (t, $J = 241,0$ Hz), 91,12, 74,97 (t, $J = 42,7$ Hz), 70,00, 64,54 (t, $J = 3,6$ Hz), 34,19, 30,79, MS, $m/z = 239,0$ ($M + 1$).

Ejemplo 28

(3aR,5S,6S,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6- ol



15

A una solución de (3aR,5R,6R,7R,7aR)- 7- ((tert- butildimetilsilil)oxi)- 5- (((tertbutildimetilsilil)oxi)metil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6- ol (4,26 g, 8,95 mmol) en DMF anhidro (30 ml) se agregó BnBr (1,68 g, 9,84 mmol) y yoduro de tetrabutilamonio (0,330 g, 0,895 mmol). Se agregó NaH a 0°C (60%, 0,430 g, 10,744 mmol) en porciones y luego la reacción se agitó a esta temperatura durante 2 h. La mezcla se diluyó con agua (200 ml), se extrajo con Et_2O (2 ml x 100). El extracto combinado se lavó con salmuera (100 ml) y se secó sobre Na_2SO_4 . El solvente se evaporó a presión reducida para proporcionar una mezcla que contiene aproximadamente un 80% de (3aR,5R,6R,7R,7aR)- 6- (benciloxi)- 7- ((tert- butildimetilsilil)oxi)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- N,N- dimetil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 2- amina (5,06 g, 100%), que fue inseparable en columna de gel de sílice. Esta mezcla se sometió directamente a la siguiente reacción.

A una solución del material anterior (9,89 g, 17,5 mmol) en MeOH (100 mL) a 0°C se agregó AgCl (6,21 mL, 87,4 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El solvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó en una columna de gel de sílice, eluida con 2%- 5% solución de NH_3 MeOH 2M en DCM para proporcionar

(3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6- (benziloxi)- 2- (dimetilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a-tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 7- ol (4,58 g, 78%). MS m/z 339,1 (M+1, 100%).

A una solución del material anterior (4,58 g, 13,6 mmol) e imidazol (2,76 g, 40,7 mmol) en DMF anhidro (30 ml) a 0 ° C se agregó TBDMSCl (2,45 g, 16,3 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 21 h. La reacción se diluyó con agua (200 ml), se extrajo con Et₂O (2 x 100 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (100 ml) y se secaron sobre Na₂SO₄. El solvente se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó en una columna de gel de sílice, eluida con 1%- 3% solución de NH₃ MeOH 2M en DCM para proporcionar (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)- 6- (benziloxi)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano [3,2- d]tiazol- 7- ol (5,80 g, 95%). MS m/z 453,2 (M+1, 100%); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,27- 7,37 (m, 5H), 6,37 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 4,88 (d, J = 11,4 Hz, 1H), 4,63 (d, J = 11,4 Hz, 1H), 4,22 (t, J = 6,4 Hz, 1H), 4,09 a 4,13 (m, 1H), 3,80- 3,82 (m, 2H), 3,74 3,78 (m, 1H), 3,64 (dd, J = 8,7 Hz, 6,4 Hz, 1H), 2,98 (s, 6H), 0,897 (s, 9H), 0,90 (s, 9H), 0,052 (s, 3H), 0,056 (s, 3H).

Una mezcla de los materiales anteriores (5,80 g, 12,8 mmol) y tio- CDI (90% tech, 4,57 g, 23,1 mmol) en DMF anhidro (30 mL) se agitó a 90 ° C durante 2,5 horas. Después de enfriar, la mezcla se diluyó con agua (200 ml), y se extrajo con Et₂O (2 x 100 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera (100 ml) y se secaron sobre Na₂SO₄. El solvente se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó en una columna de gel de sílice, eluida con acetato de etilo 30%- 100% en hexanos para proporcionar O- (((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6- (benziloxi)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 7- il)- 1H- imidazol- 1- carbotioato (6,51 g, 90%). MS m/z 563,2 (M 1, 100%); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,30 (s, 1H), 7,59 (s, 1H), 7,23- 7,34 (m, 5H), 7,03 (s, 1H), 6,36 (BRS, 1H), 6,31 (d, J = 6,7 Hz, 1H), 4,91 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 4,62 (m, 1H), 4,58 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 3,85 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 3,64- 3,74 (m, 3H), 3,03 (s, 6H), 0,82 (s, 9H), 0,02 (s, 3H), 0,00 (s, 3H).

Una mezcla de los materiales anteriores (6,51 g, 11,6 mmol), hidruro de tributilestaño (7,47 g, 25,7 mmol) y ABCN (0,313 g, 1,28 mmol) en THF anhidro (100 mL) se calentó a reflujo durante 17 h. Después de enfriar el solvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, eluida con acetato de etilo 50% y 80% en hexanos para proporcionar (3aR,5R,6S,7aR)- 6- (benziloxi)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- N,N- dimetil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- amina como un sólido blanco (4,07 g, 81%). MS m/z 437,2 (M+1, 100%); ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,24- 7,37 (m, 5H), 6,25 (d, J = 6,6 Hz, 1H), 4,71 (d, J = 11,6 Hz, 1H), 4,42

(d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 4.34 a 4.39 (m, 1H), 3.65- 3.80 (m, 4H), 2.99 (s, 6H), 2.25 (BRS, 1H), 2.10 hasta 2.16 (m, 1H), 0.89 (s, 9H), 0.05 (s, 6H).

A una solución del material anterior (4,07 g, 9,33 mmol) en MeOH (50 mL) a 0°C se agregó AgCl (1,33 mL, 18,7 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h.
5 El solvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó en una columna de gel de sílice, eluida con solución de MeOH NH_3 3%- 5% 2M en DCM para proporcionar ((3aR,5R,6S,7aR)- 6- (benciloxi)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- il)metanol (2,78 g, 91%). MS m/z 323,1 (M+1, 100%); ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7.25- 7.36 (m, 5H), 6.22 (d, $J = 6,6$ Hz, 1H), 4.70 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 4.42 (d, $J =$
10 11,6 Hz, 1H), 4.32- 4.37 (m, 1H), 3.71- 3.79 (m, 2H), 3.60- 3.67 (m, 2H), 2.97 (s, 6H), 2.19- 2.25 (m, 1H), 2.09- 2.15 (m, 1H), 1.86 (br s, 1H).

A una solución de DMSO (0,875 g, 11,2 mmol) en DCM anhidro (15 ml) a -78°C bajo N_2 se agregó cloruro de oxalilo (1,316 g, 10,36 mmol) por goteo. La mezcla se agitó a $\sim 30^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos y se enfrió de nuevo a -78°C . Una solución de los materiales
15 anteriores (1,39 g, 4,32 mmol) en DCM anhidro (15 ml) se agregó por goteo. Luego de agitar a $\sim 30^{\circ}\text{C}$ durante 2 horas, la mezcla de reacción se enfrió de nuevo a -78°C , y Et_3N (1,74 g, 17,3 mmol). La mezcla se agitó a $\sim 30^{\circ}\text{C}$ durante otros 30 minutos, y después se apagó con agua (50 ml). La capa orgánica se recogió, y el acuoso se extrajo con DCM (2 x 20 ml). Los extractos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 . El solvente se evaporó bajo presión reducida
20 para proporcionar (3aR,5S,6S,7aR)- 6- (benciloxi)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- carbaldehído crudo (1,24 g) como una espuma amarilla. MS m/z 353,1 (M+23, 100%).

A una solución del material crudo anterior (200 mg) en DCM anhidro (5 mL) a 0°C se agregó trifluoruro de bis- (2- metoxietil)aminosulfuro (0,553 g, 2,50 mmol). La mezcla se
25 agitó a temperatura ambiente durante 27 h. La reacción se apagó con NaHCO_3 acuoso saturado (10 ml), y se extrajo con acetato de etilo (2 x 10 ml). El extracto combinado se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. Los solventes se evaporaron a presión reducida, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel (acetato de etilo/hexano, 2:1 a 5:1) para proporcionar (3aR,5S,6S,7aR)- 6- (benciloxi)- 5- (difluorometil)- N,N- dimetil- 5,6,7,7a-
30 tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- amina como una espuma de color amarillo pálido (0,050 g, 23%, a 2 pasos). MS m/z 343,1 (M+1, 100%).

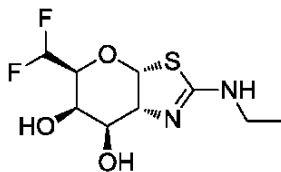
A una solución del material anterior (0,049 g, 0,14 mmol) en DCM (2 ml) a -78°C se agregó una solución de BCl_3 en DCM (1,0 M, 0,19 ml, 0,19 mmol). La mezcla se calentó lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 18 h. La reacción se enfrió a -78°C y

una mezcla de 1:1 de metanol- DCM (2 ml) se agregó por goteo para detener la reacción. Los solventes se evaporaron y el residuo se trató con MeOH durante tres veces más. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice, eluida con una solución de MeOH NH₃ en DCM 1%- 2% 2M para proporcionar el producto

- 5 (3aR,5S,6S,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol (0,0193 g, 53%) como un sólido blanco. MS m/z 253,1 (M+1, 100%); ¹H RMN (400 MHz, MeOD) 5 6,22 (d, J = 6,5 Hz, 1H), 5,93 (td, J = 54,4 Hz, 2,6 Hz, 1H), 4,36- 4,40 (m, 1H), 3,99- 4,03 (m, 1H), 3,59- 3,68 (m, 1H), 3,03 (s, 6H), 2,12 a 2,16 (m, 2H), ¹³C RMN (100 MHz, MeOD) 5 165,06, 115,86 (t, J = 192,8 Hz), 91.48, 74.91 (t, J = 17,1 Hz), 70.02, 64.40 (t, J = 2,8 Hz), 40.31, 34.09.

Ejemplo 29

(3aR,5S,6R,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (etilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol



15

- Una solución de ((3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluoromethyl)- 6,7- dihydroxy- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(etil)carbamato de tert- butilo (500 mg, 1,3 mmol) e imidazol (277 mg, 4 mmol) en DMF (20 mL) se trató con TBDMSCl (611 mg, 4 mmol) durante 3 horas a 40 ° C. La solución resultante se enfrió a temperatura ambiente, apagó por NaHCO₃ acuoso saturado (50 ml), se extrajo con DCM (3x20 ml), se lavó con salmuera (3x10 ml), se secó sobre MgSO₄ anhidro y se concentró a vacío para proporcionar un residuo que se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluida con 5 %- 10% EtOAc en éter de petróleo para proporcionar tert- butyl(3aR,5S,6R,7R,7aR)- 7- (tert- butildimetilsililo)- 5- (difluorometil)- 6- hidroxil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il(etil)carbamato como un jarabe de color amarillo claro (420 mg, 64%). (ES, m/z): [M +1]⁺ 483,0; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 5,87 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 5,98 (td, J = 55,2 Hz, 3,6 Hz, 1H), 4,10- 3,91 (m, 5H), 3,77- 3,70 (m, 1H), 1,56 (s, 9H), 1,21 (t, J = 6,9 Hz, 3H), 0,94 (s, 9H), 0,19 (s, 3H), 0,15 (s, 3H).

- Una solución de dicho material (440 mg, 0,9 mmol) en DCM (20 mL) se trató con DMP (587 mg, 1,4 mmol) durante 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se apagó mediante una mezcla de NaHCO₃ acuoso saturado (5 ml) y se agregó hiposulfito de

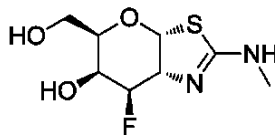
sodio (5 ml). La capa orgánica se recogió y la capa acuosa se extrajo con DCM (3x20 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 mL) y se secó sobre MgSO₄. Después de la filtración, los filtrados se concentraron para proporcionar un residuo que se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluida con 5% de acetato de etilo en éter de petróleo para proporcionar tert- butil(3aR,5S,7R,7aR)- 7- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- (difluorometil)- 6- oxo- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il(etil)carbamato como un jarabe de color blanco (370 mg, 84%). (ES, m/z): [M +1]⁺ 481,0; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 6,20 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 6,08 (td, J = 52,8 Hz, 1,5 Hz 1H), 4,69 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 4,63 (dd, J = 6,9 Hz, 3,9 Hz, 1H), 4,16- 4,09 (m, 1H), 3,98 a 3.89 (m, 2H), 1,57 (s, 9H), 1,14 (t, J = 6,9 Hz, 3H), 0,93 (s, 9H), 0,20 (s, 3H), 0,13 (s, 3H).

Una solución de dicho material (400 mg, 0,8 mmol) en MeOH (5 mL) se trató con NaBH₄ (63 mg, 1,7 mmol) durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se enfrió con agua (20 ml) y se extrajo con DCM (3x10 ml). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (10 mL), se secó sobre MgSO₄ anhidro y se concentró a vacío para proporcionar un residuo que se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluida con 10% EtOAc en éter de petróleo para proporcionar tert- butil(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 7- (tert- butildimetilsililoxi)- 5- (difluorometil)- 6- hidroxil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il(etil)carbamato como un jarabe de color blanco (103 mg, 25%). (ES, m/z): [M +1]⁺ 483,0; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 6,04 (d, J = 6,3 Hz, 1H), 6,06 (td, J = 70,2 Hz, 6,6 Hz, 1H), 4,37- 4,31 (m, 1H), 0,25- 0,20 (m, 1H), 4,12- 4,06 (m, 1H), 4,01- 3,92 (m, 2H), 3,87 (m, 1H), 3,85- 3,76 (m, 1H), 1,56 (s, 9H), 1,21 (t, J = 6,9 Hz, 3H), 0,96 (s, 9H), 0,22 (s, 3H), 0,18 (s, 3H).

A una solución del material anterior (20 mg, 0,04 mmol) en MeOH (10 ml) se burbujeó con gas HCl seco hasta que se saturó a 0 °C. La solución resultante se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. La eliminación de volátiles proporcionó un residuo que se disolvió en MeOH (2 mL) y se neutralizó con NH₄OH concentrado (1 ml). Después de concentrar a presión reducida, el producto bruto se purificó mediante una columna corta de gel de sílice, eluida con MeOH al 10% en DCM para proporcionar (3aR,5S,6R,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (etilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol como un sólido blanco (10 mg, 90%). (ES, m/z): [M +1]⁺ 269,0; ¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ 6,31 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 5,97 (td, J = 56,1, 6,3Hz, 1H), 4,12 (t, J = 6,3 Hz, 1H), 4,03 (t, J = 3,0 Hz, 1H), 3,95 a 3,90 (m, 1H), 3,88-3,85 (m, 1H), 3,32 a 3,21 (m, 2H), 1,17 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

Ejemplo 30

(3aR,5R,6S,7R,7aR)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol

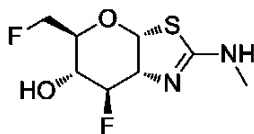


A una solución de ((3aR,5R,7R,7aR)- 5- (((tertbutildimetilsilil)oxi)metil)- 7- fluoro- 6- oxo- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo (2,57 g, 5,72 mmol) en MeOH seco (50 ml), a 0 ° C, se agregó NaBH₄ (0,295 g, 7,80 mmol). Después que la mezcla se agitó a 0 ° C durante 20 minutos, se agregó un pedazo de hielo seco, y el solvente se evaporó. El residuo se disolvió en DCM (50 mL) y se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado (50 ml). La capa orgánica se recolectó, y el acuoso se extrajo con DCM (2 x 30 ml). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía de columna (EtOAc/hexano, 01:10 a 01:03), para proporcionar tert- butilo de ((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 7- fluoro- 6- hidroxil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato (0,95 g, 37%), como un aceite pegajoso. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 6,11 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,84 (ddd, *J* = 3,2, 6,7, 48,2 Hz, 1H), 4,45 (td, *J* = 6,7, 16,6 Hz, 1H), 4,32- 4,29 (m, 1H), 4,00- 3,93 (m, 2H), 3,90- 3,86 (m, 1H), 3,36 (s, 3H), 3,19 (s, br., 1H, (OH)), 1,53 (s, 9H), 0,90 (s, 9H), 0,093 (s, 3H), 0,087 (s, 3H).

A una solución del material anterior (0,110 g, 0,244 mmol) en MeOH seco (4 ml) se hizo burbujear gas HCl durante 30 segundos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Después de que el solvente se evaporó bajo presión reducida, el residuo se neutralizó con NH₃ en MeOH 1.0 M y se purificó en gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (1,0 M de NH₃ en MeOH/DCM, 1:9) proporcionando (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol como un sólido blanco (0,043 g, 89%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 6,38 (dd, *J* = 1.0, 6.7 Hz, 1H), 4,65 (ddd, *J* = 3,3, 7,8, 48,2 Hz, 1H), 4,30- 4,22 (m, 1H), 4,15- 4,11 (m, 1H), 4,01- 3,98 (m, 1H), 3,78- 3,72 (m, 2H), 2,83 (s, 3H), ¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 164.87, 94.77 (d, *J* = 182,5 Hz), 91.73 (d, *J* = 7,8 Hz), 75.66 (d, *J* = 5,8 Hz), 69.89 (d, *J* = 21,0 Hz), 67.01 (d, *J* = 27,6 Hz), 61.81 (d, *J* = 3,1 Hz), 30.30, MS, (ES, *m/z*) [*M* + *H*]⁺ 237.1.

Ejemplo 31

(3aR,5S,6R,7R,7aR)- 7- fluoro- 5- (fluorometil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol



A una suspensión de (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 5- (hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol (80,00 g, 341,6 mmol) en DMF (500 mL) se agregó DIPEA (8 ml), MeOH (8 ml) y Boc₂O (100,0 g, 458,7 mmol) en secuencia. La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas, y se convirtió en una solución clara. Después de que el volumen de la solución se redujo a presión reducida a temperatura ambiente a cerca de 100 ml para eliminar MeOH y terc- butanol, la solución se enfrió con un baño de enfriamiento de hielo, e imidazol (92,9 g, 1,36 mol), y TBDMSCl (155 g, 1,03 mol) en secuencia. Después de agitar a temperatura ambiente durante la noche, la mezcla se diluyó con salmuera (1,5 L). La extracción se realiza con Et₂O tres veces (500 ml y 2 x 300 ml). El extracto de éter combinado se lavó con salmuera (1 litro) y se secó sobre Na₂SO₄. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo de los dos lotes se combinó y se purificó en gel de sílice mediante cromatografía en columna rápida (EtOAc/hexanos, 02:11) para proporcionar tert- butilo de ((3aR,5R,6R,7R,7aR)- 7- ((tert- butildimetilsilil)oxi)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 6- hidroxil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato como un sólido cristalino blanco (136 g, 71%). ¹H RMN (500 MHz, CDCl₃) δ 6,15 (d, J = 6,2 Hz, 1H), 4,29 (s, br. 1H), 4,06- 4,05 (m, 1H), 3,81- 3,75 (m, 2H), 3,71- 3,68 (m, 1H), 3,47- 3,43 (m, 1H), 3,36 (s, 3H), 1,54 (s, 9H), 0,915 (s, 9H), 0,893 (s, 9H), 0,161 (s, 3H) , 0,149 (s, 3H), 0,068 (s, 6H).

A 0 ° C, a una solución del material anterior (94,30 g, 167,5 mmol) y DMAP (0,50 g, 4,1 mmol) en piridina (350 ml) se agregó BzCl (28,3 g, 201 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se agregó otra porción de BzCl (6,90 g, 49,1 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 h. Se agregó MeOH (20 ml) y la mezcla se agitó durante otros 30 minutos. La mezcla se diluyó con salmuera (1 litro) y se extrajo con una mezcla de acetato de etilo/hexano tres veces (1:4, 600 ml, 200 ml y 100 ml). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo combinado de los tres lotes se trató con HCl en MeOH 1,5 M (1,0 L) a temperatura ambiente durante 16 h. Se eliminó el solvente a temperatura ambiente bajo presión reducida para proporcionar un sólido blanco. Al sólido

blanco con DCM (1,6 h) se agregó DIPEA (100 ml) y Boc₂O (109 g, 500 mmol) en secuencia. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. La mezcla de reacción se lavó con NH₄Cl acuoso saturado (1 L) y salmuera (1 L), y se secó sobre Na₂SO₄. (El lavado acuoso combinado se basificó a pH = ~ 9 con solución de Na₂CO₃ acuosa saturada y se extrajo con DCM (5 x 150 ml). Los extractos de DCM combinados se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración de la solución, se trató con Boc₂O (30 g) durante 5 h. Después de lavar con sat. NH₄Cl acuoso (1 l) y salmuera (1 litro), y se secó sobre Na₂SO₄). Todos los extractos DCM se combinaron. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (EtOAc/hexano, 01:04- 03:02), para proporcionar benzoato de (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- ((tert- butoxicarbonil)(metil)amino)- 7- hidroxi- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ilo como un sólido blanco (56,5 g, 77%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,00- 7,98 (m, 2H), 7,59- 7,54 (m, 1H), 7,44- 7,40 (m, 2H), 6,20 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 5,15- 5,12 (m, 1H), 4,55- 4,50 (m, 1H), 4,4- 4,39 (m, 1H), 3,80- 3,76 (m, 1H), 3,70- 3,66 (m, 1H), 3,49 (s, br., 1H), 3,34 (s, 3H), 1,56 (s, 9H).

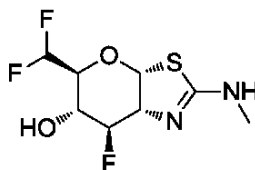
A una solución del material anterior (500 mg, 1,1 mmol) en DCM (15 mL) se agregó DAST (1,1 g, 6,8 mmol) a- 78 ° C bajo atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante una noche a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (30 ml), se extrajo con DCM (3x15 ml), se secó sobre Na₂SO₄, y se condensó para proporcionar un residuo que se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluida con acetato de etilo al 10%- 30% en éter de petróleo para proporcionar benzoato de (3aR,5S,6R,7R,7aR)- 2- (tert- butoxicarbonil(metil)amino)- 7- fluoro- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ilo (370 mg, 73%) como aceite de color amarillo claro. (ES, *m/z*): [M + H]⁺ 443,0; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 8,02- 8,01 (m, 2H), 7,64- 7,62 (m, 1H), 7,59- 7,44 (m, 2H), 6,19 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 5,44- 5,26 (m, 2H), 4,62- 4,60 (m, 2H), 4,58- 4,46 (m, 1H), 3,90- 3,80 (m, 1H), 3,39 (s, 3H), 1,58 (s, 9H).

Una solución de dicho material (170 mg, 0,4 mmol) en THF (10 mL) se trató con MeMgCl (3 mmol, 1 ml, 3 M en THF) durante 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se apagó con NH₄Cl acuoso saturado (30 ml), se extrajo con acetato de etilo (3x20 ml), se lavó con salmuera (10 mL), se secó sobre Na₂SO₄, y se condensó para proporcionar un residuo que se purificó mediante una columna de gel de sílice, eluida con MeOH 2% a 5% en DCM para proporcionar (3aR,5S,6R,7R,7aR)- 7- fluoro- 5- (fluorometil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aHpirano[3,2- d]tiazol- 6- ol como un sólido blanco (35 mg, 38%). (ES, *m/z*): [M + H]⁺ 239,0; ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ 6,27 (d, *J* = 6,3 Hz, 1H), 5,14 (td, *J* =

45,6 Hz, 2,1 Hz, 1H), 4,70- 4,44 (m, 3H), 3,90- 3,79 (m, 1H), 3,73- 3,61 (m, 1H), 2,95 (s, 3H).

Ejemplo 32

(3aR,5S,6R,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 7- fluoro- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol



A una suspensión de (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (metilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol (8,50 g, 37,0 mmol) en DMF (60 mL) se agregó DIPEA (2,0 ml), Boc₂O (23,0 g, 105 mmol) y metanol (2,0 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h, y después se agregó MeOH (50 mL). La mezcla de reacción se concentró a presión reducida a 35 ° C ~. El residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (MeOH/DCM, 1:8), seguido por la recrystalización de EtOAc/hexanos, para proporcionar ((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6,7- dihidroxi- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo como un sólido blanco (11,8 g, 96%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 6,14 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 4,20 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 4,11 (d, J = 5,6 Hz, 1H), 3,85- 3,70 (m, 2H), 3,63- 3,55 (m, 1H), 3,31 (s, 3H), 1,53 (s, 9H).

A una solución del material anterior (11,7 g, 35,1 mmol), DIPEA (10,3 g, 80,0 mmol) y DMAP (0,040 g, 0,33 mmol) en DCM (180 ml), a 0 ° C, se agregó BzCl (10,1 g, 72,0 mmol) lentamente. Después de la adición la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. Se agregó solución acuosa saturada de NH₄Cl (100 ml), y la capa orgánica se recolectó. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con DCM (3 x 50 ml). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se separó en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (EtOAc/hexano, 1:4 a 1:1), proporcionando benzoato de ((3aR,5R,6S,7R,7aR)- 6- (benzoiloxi)- 2- ((tertbutoxicarbonil)(metil)amino)- 7- hidroxil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- il)metil como un sólido blanco (4,20 g, 22%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,01- 7,99 (m, 4H), 7,60- 7,55 (m, 1H), 7,54- 7,50 (m, 1H), 7,45- 7,41 (m, 2H), 7,37- 7,35 (m, 2H), 6,21 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 5,23- 5,20 (m, 1H), 4,55- 4,51 (m, 2H), 4,48- 4,42 (m, 2H), 4,15- 4,07 (m, 2H), 3,36 (s, 3H), 1,56 (s, 9H).

A una solución del material anterior (7,91 g, 14,6 mmol) en DCM anhidro (100 ml) a-
78°C en atmósfera de N², se agregó DAST (11,8 g, 73,0 mmol). Después de la adición, la
mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 72 h. La mezcla de reacción se enfrió a-
78°C, se diluyó con DCM (100 ml), y después se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (150
5 ml). La capa orgánica se recolectó, y el acuoso se extrajo con DCM (2 x 100 ml). El extracto
combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el solvente se evaporó
bajo presión reducida y el residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía de
columna rápida (EtOAc/hexano, 1:10- 01:04), proporcionando benzoato de
((3aR,5R,6R,7R,7aR)- 6- (benzoiloxi)- 2- ((tert- butoxicarbonil)(metil)amino)- 7- fluoro-
10 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 5- il)metil como un sólido blanco (6,10 g,
77%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,01- 7,98 (m, 4H), 7,60- 7,56 (m, 1H), 7,56- 7,52 (m,
1H), 7,45 a 7,41 (m, 2H), 7,38 a 7,35 (m, 2H), 6,19 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 5,52- 5,46 (m, 1H),
5,40- 5,28 (m, 1H), 4,61- 4,56 (m, 1H), 4,52 (dd, *J* = 3,6, 12,0 Hz, 1H), 4,43 (dd, *J* = 5,7,
12,0 Hz, 1H), 4,03- 3,99 (m, 1H), 3,36 (s, 3H), 1,56 (s, 9H).

15 Una mezcla del material anterior (6,10 g, 11,2 mmol) y K₂CO₃ (1,00 g, 7,25 mmol) en
MeOH anhidro (50 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El hielo seco se agregó,
y se eliminó el solvente a presión reducida. El residuo se purificó en gel de sílice mediante
cromatografía de columna rápida (EtOAc/hexano, 1:1 a 10:1), produciendo
((3aR,5R,6R,7R,7aR)- 7- fluoro- 6- hidroxil- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH-
20 pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo como un sólido blanco (3,25 g,
86%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 6,06 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 5,15 (ddd, *J* = 2,4, 4,4, 45,7
Hz, 1H), 4,46- 4,41 (m, 1H), 3,96 a 3,89 (m, 1H), 3,83 (dd, *J* = 3,2, 11,8 Hz, 1H), 3,73 (dd, *J*
= 5,4, 11,8 Hz, 1H), 3,46-3,42 (m, 1H), 3,32 (s, 3H), 1,54 (s, 9H).

25 A 0 °C, a una solución del material anterior (0,880 g, 2,61 mmol) e imidazol (0,354 g,
5,20 mmol) en DMF anhidro (15 ml) se agregó TBDMSCl (0,452 g, 3,00 mmol). La mezcla
se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas y se diluyó con Et₂O (100 ml) y salmuera
(100 ml). La capa orgánica se recolectó, y el acuoso se extrajo con Et₂O (50 ml). El extracto
combinado se lavó con agua (50 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. Después de la filtración, el
solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó en gel de sílice mediante
30 cromatografía de columna rápida (EtOAc/hexano, 01:10 a 01:03), proporcionando
((3aR,5R,6R,7R,7aR)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 7- fluoro- 6- hidroxil- 5,6,7,7a-
tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo como una espuma
blanca (1,10 g, 93%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 6,06 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 5,19 a 5,02 (m,

1H), 4,43- 4,38 (m, 1H), 3,98- 3,93 (m, 1H), 3,85 (dd, $J = 5,0, 10,6$ Hz, 1H), 3,73 (dd, $J = 5,2, 10,6$ Hz, 1H), 3,45- 3,43 (m, 1H), 3,34 (s, 3H), 1,54 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 0,08 (s, 6H).

A 0 ° C, a una solución del material anterior (1,06 g, 2,35 mmol) y Bu₄NI (0,087 g, 0,24 mmol) en DMF anhidro (15 ml) se agregó NaH (60% en aceite mineral, 0,118 g, 2,94 mmol). Después de la adición de NaH, a la mezcla de reacción se agregó BnBr (0,703 g, 4,11 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas y se diluyó con Et₂O (60 ml) y NH₄Cl saturado (50 ml). La capa orgánica se recolectó, y el acuoso se extrajo con Et₂O (2 x 30 ml). El extracto combinado se lavó con salmuera (40 mL) y se secó sobre Na₂SO₄. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (EtOAc/hexano, 01:10 a 01:04), proporcionando ((3aR,5R,6R,7R,7aR)- 6- (benciloxi)- 5- (((tert- 15 butildimetilsilil)oxi)metil)- 7- fluoro- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo como un aceite pegajoso (1,22 g, 96%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,37 a 7,27 (m, 5H), 6,10 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 5,30- 5,16 (m, 1H), 4,80 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H) , 4,55 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 4,48- 4,42 (m, 1H), 3,88- 3,80 (m, 1H), 3,78- 3,69 (m, 2H), 3,46- 3,44 (m, 1H), 3,31 (s, 3H), 1,53 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 0,04 (s, 6H).

A 0 ° C, a una solución del material anterior (1,22 g, 2,25 mmol) en THF (15 ml) se agregó TBAF (1,0 M en THF, 5,0 ml, 5,0 mmol). Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se diluyó con acetato de etilo (20 ml) y salmuera (50 mL). La capa orgánica se recolectó y el acuoso se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (EtOAc/hexano, 1:5 a 1:2), proporcionando ((3aR,5R,6R,7R,7aR)- 6- (benciloxi)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- 25 pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo como un sólido blanco (0,96 g, 100%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,377.29 (m, 5H), 6,09 (d, $J = 6,7$ Hz, 1H), 5,32 (ddd, $J = 1,8, 3,6, 45,4$ Hz, 1H), 4,80 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 4,55 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 4,53- 4,48 (m, 1H), 3,81- 3,72 (m, 2H), 3,61- 3,55 (m, 1H), 3,49- 3,45 (m, 1H), 3,31 (s, 3H), 1,53 (s, 9H).

A una solución del material anterior (1,50 g, 3,52 mmol) en DCM (40 mL) se agregó DMP (2,20 g, 5,20 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, la mezcla de reacción se diluyó con Et₂O (20 ml), y luego se concentró hasta sequedad. Se agregó NaHCO₃ acuoso saturado (30 ml) con Na₂S₂O₃ (2 g), y la mezcla se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó en gel de sílice

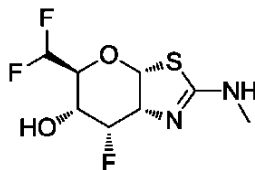
mediante cromatografía de columna rápida (EtOAc/hexano, 1:5 a 1:2), proporcionando ((3aR,5S,6R,7R,7aR)- 6- (benciloxi)- 7- fluoro- 5- formil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo como un sólido blanco (1,02 g, 68%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 9,60 (s, 1H), 7,35 a 7,29 (m, 5H), 6,12 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 5,39 a 5,27 (m, 1H), 4,78 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H), 4,66 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H), 4,57- 4,51 (m, 1H), 4,00 a 3,95 (m, 2H), 3,31 (s, 3H), 1,53 (s, 9H).

A una solución del material anterior (0,156 g, 0,367 mmol) en DCM anhidro (6 ml) a- 78°C bajo atmósfera de N₂, se agregó DAST (0,354 g, 2,20 mmol). Después de la adición la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla de reacción se enfrió a- 78 °C, se diluyó con DCM (10 mL), y después se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml). La capa orgánica se recolectó, y el acuoso se extrajo con DCM (2 x 15 ml). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (EtOAc/hexano, 1:10- 01:04), proporcionando ((3aR,5S,6R,7R,7aR)- 6- (benciloxi)- 5- (difluorometil)- 7- fluoro- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo como un aceite amarillo pálido (0,125 g, 76%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,38- 7,29 (m, 5H), 6,11 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 5,79 (dt, *J* = 2,4, 54,4 Hz, 1H), 5,37- 5,25 (m, 1H), 4,78 (d, *J* = 11,3 Hz, 1H), 4,59 (d, *J* = 11,3 Hz, 1H), 4,58- 4,53 (m, 1H), 4,00- 3,92 (m, 1H), 3,72- 3,63 (m, 1H), 3,29 (s, 3H), 1,53 (s, 9H).

A una solución del material anterior (0,240 g, 0,537 mmol) y pentametilbenceno (0,26 g, 1,7 mmol) en DCM anhidro (10 ml) a- 78 °C en atmósfera de N₂, se agregó BO₃ (1,0 M en DCM, 1,6 ml, 1,6 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h aproximadamente mientras que la temperatura de la trampa de enfriamiento alcanzaba 0 ° C. La mezcla de reacción se enfrió a- 78 °C, se apagó con una mezcla de MeOH/DCM, y luego se concentró a sequedad. El residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (1,0 M de NH₃ en MeOH/DCM, 1, 15), proporcionando (3aR,5S,6R,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 7- fluoro- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol como un sólido blanco (0,104 g, 76%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 6,30 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 5,96 (dt, *J* = 2,4, 54,1 Hz, 1H), 4,89 (td, *J* = 3,9, 46,5 Hz, 1H), 4,48- 4,42 (m, 1H), 4,02- 3,94 (m, 1H), 3,72- 3,63 (m, 1H), 2,85 (s, 3H), ¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 164,08 (d, *J* = 2,3 Hz), 115,63 (dt, *J* = 7,9, 241,6 Hz), 94,73 (d, *J* = 177,6 Hz), 89,90 (d, *J* = 2,0 Hz), 74,04 (d, *J* = 26,1 Hz), 72,92 (dt, *J* = 3,9, 21,3 Hz), 67,87 (td, *J* = 3,8, 25,0 Hz), 30,74; MS, *m/z* = 257,0 (*M* + 1).

Ejemplo 33

((3aR,5S,6R,7S,7aR)- 5- (difluorometil)- 7- fluoro- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol



A 0 ° C, a una solución de ((3aR,5R,6R,7R,7aR)- 7- fluoro- 6- hidroxil- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo (18,7 g, 55,5 mmol) e imidazol (11,4 g, 167 mmol) en DMF anhidro (150 ml) se agregó TBDMSCl (9,19 g, 61,0 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, se diluyó con Et₂O (300 ml) y se lavó con salmuera (2 x 300 ml). La capa orgánica se recolectó, y el acuoso se extrajo con Et₂O (2 x 150 ml). El extracto combinado se lavó con salmuera (100 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (EtOAc/hexano, 1:10- 01:03), proporcionando ((3aR,5R,6R,7R,7aR)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 7- fluoro- 6- hidroxil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo como una espuma blanca (24,1 g, 96%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 6,06 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 5,19- 5,02 (m, 1H), 4,43- 4,38 (m, 1H), 3,98- 3,93 (m, 1H), 3,85 (dd, *J* = 5,0, 10,6 Hz, 1H), 3,73 (dd, *J* = 5,2, 10,6 Hz, 1H), 3,45- 3,43 (m, 1H), 3,34 (s, 3H), 1,54 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 0,08 (s, 6H).

A una solución del material anterior (9,28 g, 20,6 mmol) en DCM (150 ml) DMP (13,1 g, 30,9 mmol). Después se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, la reacción se diluyó con Et₂O (400 ml). La suspensión resultante se filtró a través de la torta de Celite, y el filtrado se concentró hasta sequedad a temperatura ambiente. El residuo se cargó en una columna por capas de NaHCO₃/sílica gel, y el producto se eluyó con (EtOAc/hexano, 1:4), proporcionando ((3aR,5R,7R,7aR)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 7- fluoro- 6- oxo- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo como un sólido cristalino de color blanco (8,96 g, 97%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 6,29 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 5,09 (dd, *J* = 4,7, 48,4 Hz, 1H), 4,75- 4,69 (m, 1H), 4,12- 4,05 (m, 2H), 3,96- 3,93 (m, 1H), 3,28 (s, 3H), 1,54 (s, 9H), 0,86 (s, 9H), 0,056 (s, 3H), 0,050 (s, 3H).

A una solución del material anterior (8,96 g, 20,0 mmol) en MeOH seco (250 ml) se agregó NaH (60% en aceite mineral, 0,158 g, 3,95 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. La mezcla de reacción se enfrió a 0 ° C, y se agregó NaBH₄ (1,32 g, 34,9 mmol). Después de agitar la mezcla a 0 ° C durante 20 minutos, se agregó un chip de

hielo seco y el solvente se evaporó. El residuo anterior se disolvió en DCM (100 ml), y se lavó con NH₄Cl acuoso saturado (100 mL). La capa orgánica se recolectó, y el acuoso se extrajo con DCM (2 x 50 ml). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (EtOAc/hexano, 01:10 a 02:05), proporcionando ((3aR,5R,6R,7S,7aR)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 7- fluoro- 6- hidroxil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo como una espuma blanca (6,84 g, 76% más de 2 pasos). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 6,06 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 5,01 (td, *J* = 4,3, 46,8 Hz, 1H), 4,49- 4,44 (m, 1H), 4,17- 4,13 (m, 1H), 3,80- 3,79 (m, 2H), 3,66- 3,63 (m, 1H), 3,38 (s, 3H), 2,72 (s, br., 1H, (OH)), 1,54 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 0,062 (S, 3H), 0,057 (s, 3H).

A 0 ° C, a una solución del material anterior (1,30 g, 2,89 mmol) y Bu₄NI (0,107 g, 0,290 mmol) en DMF anhidro (12 ml) se agregó NaH (60% en aceite mineral, 0,145 g, 3,63 mmol). Después de la adición de NaH, se agregó BnBr (0,989 g, 5,78 mmol). Después de agitar a 0 ° C durante 30 minutos y luego a temperatura ambiente durante la noche, la mezcla se diluyó con Et₂O (100 ml). La mezcla se lavó con NH₄Cl acuoso saturado (2 x 50 ml). La capa acuosa se extrajo con Et₂O (2 x 40 ml). El extracto combinado se lavó con salmuera (50 mL) y se secó sobre Na₂SO₄. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (EtOAc/hexano, 1:20- 01:04), proporcionando ((3aR,5R,6R,7S,7aR)- 6- (benciloxi)- 5- (((tert- butildimetilsilil)oxi)metil)- 7- fluoro- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo como un aceite pegajoso (1,44 g, 92%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,36- 7,27 (m, 5H), 6,21 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 5,30- 5,16 (m, 1H), 4,80 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H), 4,56 (d, *J* = 11,4 Hz, 1H), 4,50- 4,42 (m, 1H), 3,95- 3,78 (m, 4H), 3,44 (s, 3H), 1,54 (s, 9H), 0,89 (s, 9H), 0,049 (s, 6H).

A 0 ° C, a una solución del material anterior (1,44 g, 2,66 mmol) en THF (25 ml) se agregó TBAF (1,0 M en THF, 3,5 ml, 3,5 mmol). Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se diluyó con salmuera (50 mL). La mezcla se extrajo con EtOAc (2 x 40 ml). El extracto combinado se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (EtOAc/hexano, 1:2 a 1:1), proporcionando ((3aR,5R,6R,7S,7aR)- 6- (benciloxi)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo como un sólido blanco (1,08 g, 95%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,37- 7,27 (m, 5H), 6,18 (d, *J* =

7,4 Hz, 1H), 5,17- 5,04 (m, 1H), 4,84 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H) , 4,55 (d, $J = 11,6$ Hz, 1H), 4,50- 4,43 (m, 1H), 3,95- 3,91 (m, 1H), 3,88- 3,82 (m, 1H), 3,79- 3,75 (m, 1H), 3,71- 3,67 (m, 1H), 3,37 (s, 3H), 1,53 (s, 9H).

A una solución del material anterior (2,57 g, 6,03 mmol) en DCM (60 mL) a 0 ° C se
5 agregó DMP (3,82 g, 9,00 mmol). Después se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, la
mezcla de reacción se diluyó con Et₂O (100 ml). La suspensión resultante se filtró a través de
una torta de Celite y el filtrado se concentró hasta sequedad a temperatura ambiente. El
residuo se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml), y el sólido se separó mediante filtración. El
extracto se lavó y mezcló con NaHCO₃ acuoso saturado (30 ml) y Na₂S₂O₃ (5 ml). El
10 extracto se recolectó y se secó sobre MgSO₄. Después de la filtración, el solvente se evaporó
bajo presión reducida para proporcionar ((3aR,5S,6R,7S,7aR)- 6- (benciloxi)- 7- fluoro- 5-
formil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2- il)(metil)carbamato de tert- butilo
de aldehído crudo. Este material crudo se utilizó en el paso siguiente sin purificación
adicional. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 9,65 (s, 1H), 7,39- 7,29 (m, 5H), 6,04 (d, $J = 7,0$
15 Hz, 1H), 5,08 (td, $J = 4,2, 46,7$ Hz, 1H) , 4,84 (d, $J = 11,4$ Hz, 1H), 4,64 (d, $J = 11,4$ Hz, 1H),
4,55- 4,49 (m, 1H), 4,31 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 4,19- 4,15 (m, 1H), 3,30 (s, 3H), 1,52 (s, 9H).)

A una solución del material anterior (0,19 g, ~ 80% de pureza, ~ 0,36 mmol) en DCM
anhidro (6 ml) a- 78 °C bajo atmósfera de N₂, se agregó DAST (0,37 g, 2,3 mmol). Después
de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. La mezcla de reacción
20 se enfrió a- 78 °C, y se apagó con NaHCO₃ acuoso saturado (10 ml). La capa orgánica se
recolectó, y el acuoso se extrajo con DCM (2 x 10 ml). El extracto combinado se secó sobre
Na₂SO₄ anhidro. Después de la filtración, el solvente se evaporó bajo presión reducida y el
residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida
(EtOAc/hexano, 01:20 a 01:04), proporcionando ((3aR,5S,6R,7S,7aR)- 6- (benciloxi)- 5-
25 (difluorometil)- 7- fluoro- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 2-
il)(metil)carbamato de tert- butilo como una espuma blanca (0,097 g, 60%). ¹H RMN (500
MHz, CDCl₃) δ 7,37- 7,28 (m, 5H), 6,12 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 5,85 (dt, $J = 1,6, 54,5$ Hz, 1H),
5,11 (td, $J = 4,0, 47,3$ Hz, 1H), 4,83 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H), 4,57 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H), 4,55-
4,50 (m, 1H), 4,12- 4,04 (m, 2H), 3,28 (s, 3H), 1,52 (s, 9H).

30 A una solución del material anterior (0,097 g, 0,22 mmol) y pentametilbenceno (0,050
g, 0,34 mmol) en DCM anhidro (3 ml) a- 78 °C en atmósfera de N₂, se agregó BO₃ (1,0 M en
DCM, 1,0 ml , 1,0 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante ~ 5 h, mientras
que la temperatura de la trampa de enfriamiento alcanzaba la temperatura ambiente. La
mezcla de reacción se enfrió a- 78 °C, se apagó con una mezcla de MeOH/DCM, y luego se

concentró hasta sequedad. El residuo se purificó en gel de sílice mediante cromatografía de columna rápida (1,0 M de NH₃ en MeOH/CH₂Cl₂, 1:12), proporcionando

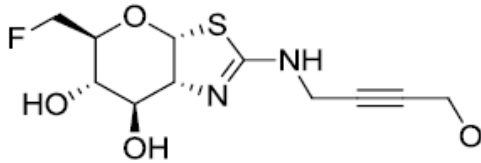
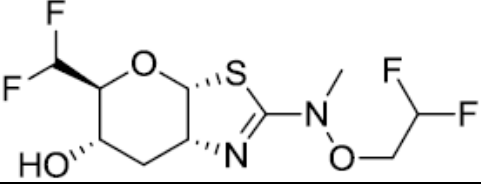
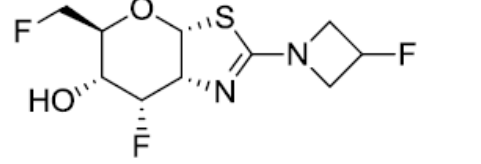
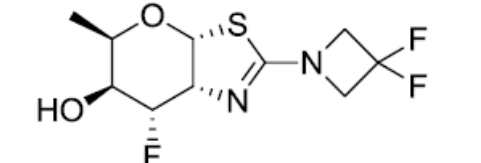
(3aR,5S,6R,7S,7aR)- 5- (difluorometil)- 7- fluoro- 2- (metilamino)- 5,6,7,7atetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol como un sólido blanco (0,041 g, 72%). ¹H RMN (400 MHz,

5 CD₃OD) 5 6,37 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 6,04 (dt, *J* = 1,5, 54 0,0 Hz, 1H), 4,86 (td, *J* = 3,3, 50,9 Hz, 1H) , 4,39 (ddd, *J* = 3,8, 6,6, 20,9 Hz, 1H), 4,05- 3,95 (m, 2H), 2,86 (s, 3H), ¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ 165,00, 115,89 (t, *J* = 242,6 Hz), 90.65 (d, *J* = 185,7 Hz), 90.25 (d, *J* = 3,5 Hz), 72.22- 71.71 (m), 71.71 (d, *J* = 16,1 Hz), 66,22- 65,97 (m), 30,48; MS, *m/z* = 257,1 (*M* + 1).

10 Los siguientes ejemplos pueden sintetizarse según los procedimientos análogos a los esquemas y ejemplos que descritos anteriormente.

Tabla 6

Ejem plo	Estructura	Nombre
34		(3aR,5R,6R,7S,7aR)- 2- (etilamino)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol
35		(3aR,5R,6R,7S,7aR)- 2- (dimetilamino)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol
36		(3aR,5R,6R,7S,7aR)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 2- (propilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol
37		(3aR,5R,6R,7S,7aR)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 2- (isobutilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol
38		(3aR,5S,6R,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 7- fluoro- 2- (((E)- 3- fluoro- 2- metilalil)amino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol

39		(3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (fluorometil)- 2- ((4- hidroxibut- 2- in- 1- il)amino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazole- 6,7- diol
40		(3aR,5S,6S,7aR)- 2- ((2,2- difluoroetoxi)(metil)amino)- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol
41		(3aR,5S,6R,7S,7aR)- 7- fluoro- 2- (3- fluoroazetidin- 1- il)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol
42		(3aR,5R,6S,7S,7aR)- 2- (3,3- difluoroazetidin- 1- il)- 7- fluoro- 5- metil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol

Actividad biológica

5 Ensayo para la determinación de valores K_I para la inhibición de la actividad de la O- GlcNAcase

Procedimiento experimental para el análisis cinético: Las reacciones enzimáticas se llevaron a cabo en una reacción que contenía NaH_2PO_4 50mM, NaCl 100mM y 0.1% de BSA (pH 7.0), usando como sustrato 4- metilumbeliferil N- acetil- β - D- glucosamina dihidrato (SigmaM2133) 2mM disuelto en ddH₂O. La cantidad de enzima O- GlcNAcase usada en las reacción fue 0.7 nM. El compuesto a evaluar, de concentración variada, se adicionó a la enzima antes de la iniciación de la reacción. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente en una placa de 96 pozos y se inició con la adición del sustrato. La producción de un producto fluorescente se determinó cada 60 segundos por 45 minutos en un lector de placas Tecan Infinite M200 con excitación a 355nm y emisión detectada a 460nm, se usó 4- metilumbeliferona (SigmaM1381) para producir una curva estándar. Se determinó y graficó para cada concentración del compuesto evaluado la pendiente de la producción del producto, usando algoritmos estándares de ajuste de curvas para curvas de dosis- respuesta sigmoideas. Se determinaron los valores de ajuste de curva logística de cuatro parámetros.

Los valores K_I fueron determinados usando la ecuación Cheng- Prusoff; el K_m del O- GlcNAcasa como sustrato fue de 0.2mM.

- 5 Los Ejemplos 1 a 33 fueron evaluados en el ensayo descrito anteriormente y exhibieron valores K_I para la inhibición de O- GlcNAcasa en el rango entre 0.1nM- 10 μ M.

Ensayo para la determinación de los valores K_I para la inhibición de la actividad de β -hexosaminidasa

10

Procedimiento experimental para el análisis cinético: las reacciones enzimáticas fueron llevadas a cabo en una reacción que contenía NaH₂PO₄ 50mM, NaCl 100mM y 0.1% de BSA (pH 7.0), usando como sustrato 4- metilumbeliferil N- acetil- β - D- glucosamina dihidrato (SigmaM2133) 2mM disuelto en ddH₂O. La cantidad de enzima β hexosaminidasa humana purificada usada en la reacción fue 24 nM. El compuesto a evaluar, de concentración
15 variada, se adicionó a la enzima antes de la iniciación de la reacción. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente en una placa de 96 pozos y se inició con la adición del sustrato. La producción de un producto fluorescente se determinó cada 60 segundos por 45 minutos en un lector de placas Tecan Infinite M200 con excitación a 355nM y emisión detectada a
20 460nM, se usó 4- metilumbeliferona (SigmaM1381) para producir una curva estándar. Se determinó y graficó para cada concentración del compuesto evaluado la pendiente de la producción del producto, usando algoritmos estándares de ajuste de curvas para curvas de dosis- respuesta sigmoideas. Se determinaron los valores de ajuste de curva logística de cuatro parámetros.

25

Los valores K_I fueron determinados usando la ecuación Cheng- Prusoff.

Al momento de ser ensayados, varios de los compuestos exhibieron valores K_I para la inhibición de β - hexosaminidasa en el rango de 10nM a más de 100 μ M.

30

La razón de selectividad para la inhibición de O- GlcNAcasa por encima de la β -hexosaminidasa se define como:

$$K_I (\beta\text{-hexosaminidasa})/K_I (\text{O- GlcNAcasa})$$

En general, los compuestos aquí descritos exhibieron una razón de selectividad en el rango entre aproximadamente 10 a 100000. Así, muchos de los compuestos de la invención exhiben una mayor selectividad por la inhibición de O- GlcNAcase sobre la β -hexosaminidasa.

Ensayo para la determinación de actividad celular para los compuestos que inhiben la actividad de O- GlcNAcase

La inhibición de O- GlcNAcase, que remueve la O- GlcNAc de las proteínas celulares, resulta en un incremento en el nivel de proteínas O- GlcNAcadas en las células. Un incremento en las proteínas O- GlcNAcadas puede ser medido a través de un anticuerpo, tal como RL- 2, que se une a la proteína O- GlcNAcada. La interacción proteína O- GlcNAcada:anticuerpo RL- 2 puede ser medida a través de ensayos por inmunoabsorción ligados a enzimas (ELISA).

Pueden ser utilizadas una variedad de líneas celulares de cultivos tisulares que expresan niveles endógenos de O- GlcNAcase; los ejemplos incluyen PC- 12 de rata, U- 87 humano, o células SK- N- SH. En este ensayo, células PC- 12 fueron introducidas en placas de 96 pozos junto con aproximadamente 10,000 células/ pozo. Los compuestos a examinar fueron disueltos en DMSO, o con 2 o 10mM de la solución stock, y luego diluidos con DMSO y agua en un proceso de dos pasos usando la estación de trabajo Tecan. Las células fueron tratadas con los compuestos diluidos durante 24h (5.4 μ L en 200 μ L volumen de 1 pozo) hasta alcanzar una concentración final del inhibidor necesaria para medir la respuesta dependiente de la concentración del compuesto, típicamente, para determinar la curva concentración respuesta se usaron diez pasos de dilución 3 veces, comenzando en 10 μ M. Para preparar un lisado celular se removió el medio de las células tratadas con el compuesto, las células fueron lavadas una vez con buffer fosfato salino (PBS) y luego se lisaron por 5 minutos a temperatura ambiente en 50 μ L de reactivo Phosphosafe (Novagen Inc, Madison, WI) junto con inhibidores de proteasa y PMSF. Se recolectó el lisado celular y se transfirió a una nueva placa, que estaba o recubierta a placas para el ensayo directamente o congelada a - 80° C hasta ser usada en el procedimiento ELISA. Si se desea, la concentración total de proteína de las muestras se determinó usando 20 μ L de la muestra y el método BCA.

La porción ELISA del ensayo se realizó en un Maxisorp negro de placas de 96 pozos que fue cubierto durante la noche a 4° C con 100µL/pozo del lisado celular (1:10 dilución del lisado con PBS que contiene inhibidores de proteasa, inhibidores de fosfatasa, y PMSF). El día siguiente se lavaron los pozos 3 veces con 300µL/pozo de buffer de lavado (Buffer Tris salino con 0.1% de Tween 20). Los pozos fueron bloqueados con buffer de bloqueo (Buffer Tris salino w/0.05% Tween 20 y 2.5% de albúmina de suero bovino). Cada pozo se lavó dos veces con 300µL/pozo of buffer de lavado. Se adicionó 100µL por pozo de anticuerpo anti-O- GlcNAc RL- 2 (Abcam, Cambridge, MA), diluido en un buffer de bloqueo 1:1000. La placa se selló e incubó a 37° C por 2 horas con agitación suave. Los pozos fueron entonces lavados 3 veces con 300µL/pozo de buffer de lavado. Para detectar la cantidad de RL- 2 unido se adicionó 100µL/pozo de anticuerpo anti- ratón secundario de cabra conjugado con peroxidasa de rábano (diluido 1:3000 en buffer bloqueador). La placa fue incubada 60min a 37° C con agitación suave. Cada pozo fue entonces lavado 3 veces con 300µL/pozo de buffer de lavado. El reactivo de detección se adicionó, 100µL/pozo de reactivo Amplex Ultra RED (preparado adicionando 30µL de solución stock de Amplex Ultra Red de 10mM a 10mL de PBS con 18µL de peróxido de hidrógeno H₂O₂ al 3%). La reacción de detección se incubó por 15 minutos a temperatura ambiente y luego fue leída con excitación a 530nm y emisión a 590nm.

La cantidad de proteína O- GlcNAcilada, como se detecta mediante el ensayo ELISA, se graficó para cada concentración de los compuestos ensayados usando algoritmos estándares de ajuste de curvas para curvas de dosis- respuesta sigmoideas. Se determinaron los valores de ajuste de curva logística de cuatro parámetros, siendo el punto de inflexión en la curva el valor de potencia para el compuesto examinado.

25

Ensayo para la determinación de permeabilidad aparente (P_{app})

El transporte bidireccional se evaluó en células LLC- PK1 con el fin de determinar la permeabilidad aparente (P_{app}). Las células LLC- PK1 pueden formar una monocapa impermeable y por lo tanto pueden ser usadas para valorar el transporte vectorial de los compuestos desde lo basolateral a lo apical (B→A) y desde lo apical a lo basolateral (A→B).

30

Para determinar P_{app}, las células LLC- PK1 fueron cultivadas en placas de 96 pozos transwell (Milipore). Las soluciones que contienen los compuestos a evaluar (1µM) se prepararon en

Solución Salina Balanceada de Hank junto con Hepes 10mM. El sustrato de la solución (150µL) se adicionó bien sea al compartimiento apical (A) o basolateral (B) de la placa de cultivo, y la solución buffer (150µL) se adicionó al compartimiento opuesto a aquel que contiene el compuesto. A un t = 3h, 50µL de las muestras fueron removidos de ambos lados de la monocapa dosificada con el compuesto de prueba y fue puesto en las placas de 96 pozos, se adicionó el centelleo (200µL) o un estándar interno (100µL labetolol 1µL) a las muestras y se determinó la concentración mediante centelleo líquido, contando en un contador de centelleo MicroBeta Wallac TRilux (Perkin Elmer Life Sciences, Boston, MA) o mediante LCMS/MS (Espectrómetro de Masas triple cuádruple Applied Biosystems Sciex API 5000), usando [³H]Verapamilo (1µL) como control positivo. El experimento se realizó por triplicado.

La permeabilidad aparente P_{app} se calculó mediante la siguiente fórmula para muestras tomadas a un t = 3h:

15

$$P_{app} = \frac{\text{Volumen de la Cámara Receptora (mL)}}{[\text{Área de la membrana (cm}^2\text{)}][\text{Concentración Inicial (µM)}]} \times \frac{\Delta \text{ de Concentración (µM)}}{\Delta \text{ de Tiempo (s)}}$$

En donde: el Volumen de la Cámara Receptora fue 0.15 mL; el Área de la membrana fue 0.11 cm²; la Concentración inicial es la suma de la concentración determinada en la concentración de donantes plus calculado en los compartimentos receptores a un t = 3h; Δ de Concentración es la concentración en el compartimiento receptor a las 3h; y Δ de tiempo es el tiempo de incubación (3 x 60 x 60 = 10800 s). P_{app} fue expresado como 10⁻⁶ cm/s. El P_{app} (células LLC- PK1) es el promedio del P_{app} para el transporte desde A a B y el P_{app} del transporte desde B a A, a un t = 3h:

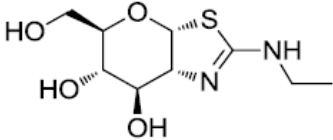
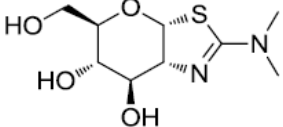
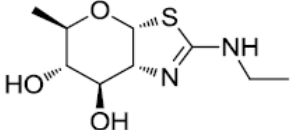
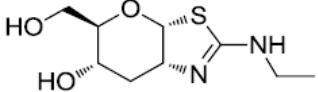
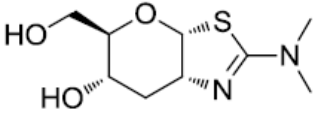
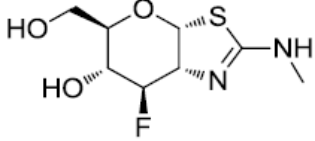
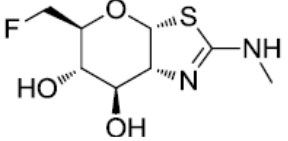
25

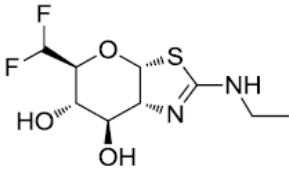
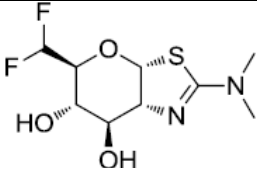
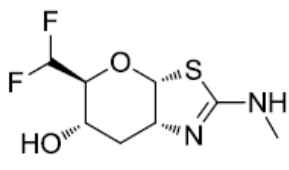
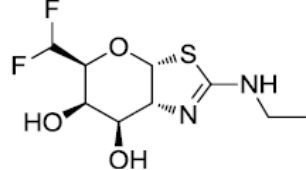
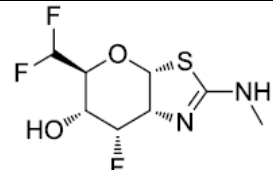
$$P_{app}(\text{Células LLC-PK1}) = \frac{P_{app}(A \rightarrow B) + P_{app}(B \rightarrow A)}{2}$$

Los datos representativos de los ensayos de unión, basados en células y permeabilidad descritos anteriormente se muestran en la siguiente tabla. Ciertos compuestos de la invención exhibieron una potencia o permeabilidad superior en uno o más de estos ensayos al compararse con los compuestos divulgados en WO 2006/092049 y WO 2008/025170. En comparación, las dos primeras entradas de la tabla muestran los datos de los compuestos (3aR,5R,7R,6S,7R,7aR)- 2- (etilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahydro- 3aH-

pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol y (3aR,5R,7R,6S,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol, divulgados en WO 2008/025170:

5

Ejemplo	Estructura	ELISA basado en células EC ₅₀ (nM)	Fluorescencia basado en hOGA Ki (nM)	P _{app} en células LLC- PK1 (10 ⁻⁶ cm/s)
N/A		13	0.4	< 1.0
N/A		10	0.3	< 1.0
1		ND	70	ND
2		365	44	3.8
4		358	13	ND
9		307	1.3	ND
17		34	0.5	7.1

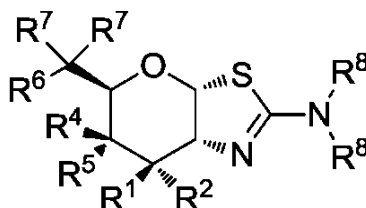
19		53	5.7	6.0
20		6.0	1.4	13.7
27		ND	28	24.0
29		ND	164	ND
33		ND	13	20.1

La presente invención ha sido descrita respecto a una o más modalidades. Sin embargo, sería aparente para una persona versada en la materia que un número de variaciones y modificaciones pueden ser hechas sin apartarse del alcance de la invención como se ha

5 definido en las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES:

1. Un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



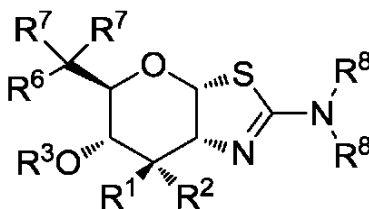
(I)

donde

- 5 R^1 y R^2 son H, o R^1 es H y R^2 es F, o R^1 es F y R^2 es H, o R^1 es OR^3 y R^2 es H;
cada R^3 es independientemente H o C_{1-6} acilo;
 R^4 es H, y R^5 es OR^3 , o R^4 es OR^3 y R^5 es H;
 R^6 es H, F, u OR^3 ;
cada R^7 es independientemente H o F;
10 cada R^8 se selecciona independientemente del grupo que consiste de: H, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo y C_{1-6} alcoxi, donde el C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo, o C_{1-6} alcoxi son opcionalmente sustituidos desde uno hasta el número máximo de sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o metilo, o
los dos grupos R^8 están conectados entre sí con el átomo de nitrógeno al que están
15 unidos para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente desde uno hasta el número máximo de sustituyentes con uno o más entre flúor, OH, o un metilo,
con la condición de que cuando R^6 es OR^3 , cada R^7 es H, y
con la condición de que tanto R^1 como R^6 es distinto de OR^3 .
20
2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde:
 R^1 y R^2 son H, o R^1 es H y R^2 es F, o R^1 es F y R^2 es H, o R^1 es OH y R^2 es H;
 R^4 es H;
 R^5 es OH;
25 R^6 es H u OH; y
cada R^8 se selecciona independientemente del grupo que consiste de: H, CH_3 , CH_2CH_3 , $(CH_2)_2CH_3$, $CH_2CH=CH_2$, y $CH_2C=CH$, o NR^8_2 es azetidin- 1- il,
con la condición de que cuando R^6 es OH, cada R^7 es H;
con la condición de que tanto R^1 como R^6 es diferente a OH.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde al menos uno de R^1 , R^2 , R^6 y R^7 es F.

4. Un compuesto de fórmula (Ia) o una sal farmacéuticamente aceptable:



(Ia)

5 donde

R^1 y R^2 son H y R^6 es F, o R^1 es H y R^2 es F y R^6 es H, F, u OR^3 , o R^1 es F y R^2 es H y R^6 es H, F u OR^3 , o R^1 es OR^3 y R^2 es H y R^6 es F;

cada R^3 es independientemente H o acilo de C_{1-6} ;

cada R^7 es independientemente H o F;

10 cada R^8 se selecciona independientemente del grupo que consiste de: H, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo y C_{1-6} alcoxi, donde C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo, o C_{1-6} alcoxi son opcionalmente sustituidos desde uno hasta el número máximo de sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o un grupo metilo, o

15 los dos grupos R^8 están conectados entre sí con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente desde uno hasta el número máximo de sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o un grupo metilo,

con la condición de que cuando R^6 es OR^3 , cada R^7 es H.

20 5. El compuesto de la reivindicación 1 en donde el compuesto es un compuesto descrito en la Tabla 1.

6. El compuesto de la reivindicación 1 en donde el compuesto se selecciona de los siguientes grupos:

25 (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 2- (etilamino)- 5- metil- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol;

(3aR,5R,6S,7aR)- 2- (etilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol;

- (3aR,5R,6S,7aR)- 5- (hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6- ol;
- (3aR,5R,6S,7aR)- 2- (dimetilamino)- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6- ol;
- 5 (3aR,5R,6S,7aR)- 2- amino- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro - 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6- ol;
- (3aR,5R,6S,7aR)- 5- (hidroximetil)- 2- (propilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6- ol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- amino- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6,7- diol;
- 10 (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (dimetilamino)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (alilamino)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6,7- diol;
- 15 (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- amino- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6,7- diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (azetidin- 1- il)- 5- (fluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (fluorometil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6,7- diol;
- 20 (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (fluorometil)- 2- (propilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (etilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6,7- diol;
- 25 (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (alilamino)- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6,7- diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- amino- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-d]tiazol- 6,7- diol;
- 30 (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (prop- 2- in- 1- ilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 2- (azetidin- 1- il)- 5- (difluorometil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol;

- (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- 15
pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol;
- (3aR,5S,6S,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (propilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH-
pirano[3,2- d]tiazol- 6,7- diol;
- 5 (3aR,5S,6S,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-
d]tiazol- 6- ol;
- (3aR,5S,6S,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (dimetilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-
d]tiazol- 6- ol;
- (3aR,5S,6R,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 2- (etilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH- pirano[3,2-
10 d]tiazol- 6,7- diol;
- (3aR,5R,6S,7R,7aR)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH-
pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol;
- (3aR,5S,6R,7R,7aR)- 7- fluoro- 5- (fluorometil)- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH-
pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol;
- 15 (3aR,5S,6R,7R,7aR)- 5- (difluorometil)- 7- fluoro- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro-
3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol;
- (3aR,5S,6R,7S,7aR)- 5- (difluorometil)- 7- fluoro- 2- (metilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH-
pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol;
- (3aR,5R,6R,7S,7aR)- 2- (etilamino)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro- 3aH-
20 pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol;
- (3aR,5R,6R,7S,7aR)- 2- (dimetilamino)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 5,6,7,7a- tetrahidro-
3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol;
- (3aR,5R,6R,7S,7aR)- 7- fluoro- 5- (hidroximetil)- 2- (propilamino)- 5,6,7,7a- tetrahidro-
3aH- pirano[3,2- d]tiazol- 6- ol;
- 25 o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los compuestos anteriores.

7. El compuesto de la reivindicación 1 en donde el compuesto es un profármaco.
8. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en donde el compuesto
30 inhibe selectivamente una O- glicoproteína 2- acetamido- 2- deoxi- β - D- glucopiranosidasa
(O- GlcNAcase).
9. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde el compuesto se une
selectivamente a una O- GlcNAcase.

10. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en donde el compuesto inhibe selectivamente la división de 2- acetamido- 2- desoxi- β - D- glucopiranosido (O- GlcNAc).

5

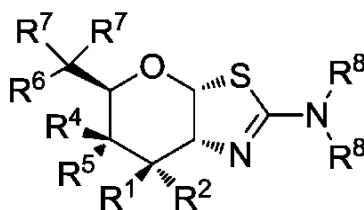
11. El compuesto de la reivindicación 9, en donde el O- GlcNAc es una O- GlcNAc de mamífero.

12. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en donde el compuesto no
10 inhibe sustancialmente una β - hexosaminidasa de mamífero.

13. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15

14. Un método de inhibir selectivamente una O- GlcNAc en un sujeto que lo necesita, el método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(I)

20

donde

R¹ y R² son H, o R¹ es H y R² es F, o R¹ es F y R² es H, o R¹ es OR³ y R² es H

cada R es independientemente H o acilo C₁₋₆;

R⁴ es H, y R⁵ es OR³, o R⁴ es OR³ y R⁵ es H;

R⁶ es H, F, u OR³;

25

cada R⁷ es independientemente H o F;

cada R⁸ se selecciona independientemente del grupo que consiste de: H, C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆ alquenilo, C₃₋₆ alquinilo y C₁₋₆ alcoxi, donde C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆ alquenilo, C₃₋₆ alquinilo

, o C₁₋₆ alcoxi opcionalmente sustituidos desde uno hasta el número máximo de sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o un grupo metilo, o

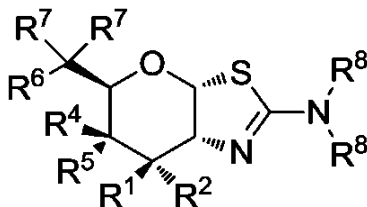
los dos grupos R⁸ están conectados entre sí con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente

5 desde uno hasta el número máximo de sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o un grupo metilo,

con la condición de que cuando R⁶ es OR³, cada R⁷ es H, y

con la condición de que tanto R¹ como R⁶ es distinto a OR³.

10 15. Un método de elevar el nivel de O- GlcNAc en un sujeto que lo necesita, el método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(I)

donde

15 R¹ y R² son H, o R¹ es H y R² es F, o R¹ es F y R² es H, o R¹ es OR³ y R² es H;

cada R es independientemente H o acilo de C₁₋₆;

R⁴ es H, y R⁵ es OR³, o R⁴ y R⁵ es OR³ es H, R⁶ es H, F, u OR³;

cada R⁷ es independientemente H o F;

cada R⁸ se selecciona independientemente del grupo que consiste de: H, C₁₋₆ alquilo,

20 C₃₋₆ alqueno, C₃₋₆ alquino y C₁₋₆ alcoxi, donde C₁₋₆ alquilo, C₃₋₆ alqueno, C₃₋₆ alquino, o C₁₋₆ alcoxi son opcionalmente sustituidos desde uno hasta el número máximo de sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o un grupo metilo, o

los dos grupos R⁸ están conectados entre sí con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente

25 desde uno hasta el número máximo de sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o un grupo metilo,

con la condición de que cuando R⁶ es OR³, cada R⁷ es H, y

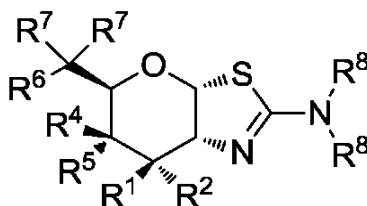
con la condición de que R¹ o R⁶ es distinto de OR³.

16. Un método para tratar una condición que es modulada por una O- GlcNAcasa, en un sujeto que lo necesita, el método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:
- donde
- 5 R^1 y R^2 son H, o R^1 es H y R^2 es F, o R^1 es F y R^2 es H, o R^1 es OR^3 y R^2 es H;
- Cada R es independientemente H o acilo de C_{1-6} ;
- R^4 es H, y R^5 es OR^3 , o R^4 es OR^3 y R^5 es H, R^6 es H, F, o OR^3 ;
- cada R^7 es independientemente H o F;
- cada R^8 se selecciona independientemente del grupo que consiste de: H, C_{1-6} alquilo,
- 10 C_{3-6} alquénilo, C_{3-6} alquínilo y C_{1-6} alcoxi, donde C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquénilo, C_{3-6} alquínilo, o alcoxi C_{1-6} son opcionalmente sustituidos desde uno hasta el número máximo de sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o un grupo metilo, o
- los dos grupos R^8 están conectados entre sí con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente
- 15 desde uno hasta el número máximo de sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o un grupo metilo,
- con la condición de que cuando R^6 es OR^3 , cada R^7 es H, y
- con la condición de que tanto R^1 como R^6 es distinto a OR^3 .
- 20 17. El método de la reivindicación 16 en donde la condición se selecciona a partir de uno o más del grupo que consiste de una enfermedad inflamatoria, una alergia, asma, rinitis alérgica, las enfermedades de hipersensibilidad pulmonar, neumonitis por hipersensibilidad, neumonía eosinofílica, hipersensibilidad de tipo retardado, aterosclerosis, enfermedad pulmonar intersticial (EPI), fibrosis pulmonar idiopática, EPI asociados con la artritis
- 25 reumatoide, lupus eritematoso sistémico, espondilitis anquilosante, esclerosis sistémica, el síndrome de Sjögren, polimiositis o dermatomiositis, anafilaxia o reacción de hipersensibilidad, alergia a medicamentos, alergia a la picadura de insectos, enfermedades autoinmunes, artritis reumatoide, artritis psoriásica, esclerosis múltiple, síndrome de Guillain- Barré, lupus eritematoso sistémico, miastenia grave, glomerulonefritis, tiroiditis
- 30 autoinmune, rechazo de injertos, rechazo de aloinjertos, enfermedad injerto vs. huésped, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, espondiloartropatías, esclerodermia, psoriasis, psoriasis mediada por células T, dermatosis inflamatoria, dermatitis, eczema, dermatitis atópica, dermatitis alérgica de contacto, urticaria, vasculitis, necrosis cutánea, y vasculitis por hipersensibilidad, eosinofílica miotitis, fascitis

eosinofílica, rechazo de trasplante de órganos sólidos, rechazo de trasplante de corazón, rechazo de trasplante de pulmón, rechazo de trasplante hepático, rechazo de trasplante de riñón, rechazo de trasplante de páncreas, aloinjerto de riñón, aloinjerto de pulmón, epilepsia, dolor, fibromialgia, accidentes cerebrovasculares, neuroprotección.

5

18. Un método para tratar una condición seleccionada del grupo que consiste de una enfermedad neurodegenerativa, una taupatía, cáncer y estrés, en un sujeto que lo necesita, el método comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



10

donde

R^1 y R^2 son H, o R^1 es H y R^2 es F, o R^1 es F y R^2 es H, o R^1 es OR^3 y R^2 es H;

cada R^3 es independientemente H o acilo de C_{1-6} ;

R^4 es H, y R^5 es OR^3 , o R^4 es OR^3 y R^5 es H;

15

R^6 es H, F, o OR^3 ;

cada R^7 es independientemente H o F;

cada R^8 se selecciona independientemente del grupo que consiste de: H, C_{1-6} alquilo,

C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo y C_{1-6} alcoxi, donde C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo, o C_{1-6} alcoxilo son opcionalmente sustituidos desde uno hasta el número máximo de

20

sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o un grupo metilo, o

los dos grupos R^8 están conectados entre sí con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente desde uno hasta el número máximo de sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o un grupo metilo,

25

con la condición de que cuando R^6 es OR^3 , cada R^7 es H, y

con la condición de que tanto R^1 como R^6 es distinto de OR^3 .

19. El método de la reivindicación 18 en donde la condición se selecciona una o más de los del grupo que consiste la enfermedad de Alzheimer, la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), esclerosis lateral amiotrófica con deterioro cognitivo (ALSci), la demencia

30

argirofílica granulosa, enfermedad de Bluit, degeneración corticobasal (CDB), demencia pugilística, ovillos neurofibrilares difusos con calcificación, síndrome de Down, demencia británica familiar, demencia danés familiar, demencia frontotemporal con parkinsonismo ligado al cromosoma 17 (FTDP- 17), enfermedad de Gerstmann- Straussler- Scheinker, 5 parkinsonismo guadalupe, enfermedad de Hallevorden- Spatz (neurodegeneración con acumulación cerebral de hierro tipo1), atrofia sistémica múltiple, distrofia miotónica, enfermedad de Niemann- Pick (tipo C), degeneración pálido- ponto- nigral, complejo parkinsonismo- demencia de Guam, enfermedad de Pick (PID), parkinsonismo postencefálico (PEP), enfermedades priónicas (incluyendo la enfermedad de Creutzfeldt- Jakob (CJD), 10 enfermedad de Creutzfeldt- Jakob variante (vCJD), insomnio familiar fatal, y Kuru), gliosis supercortical progresiva, parálisis supranuclear progresiva (PSP), el síndrome de Richardson, panencefalitis esclerosante subaguda, demencia de senil del tipo ovillo neurofibrilar, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, esquizofrenia, deterioro cognitivo leve (MCI), neuropatía (incluyendo neuropatía periférica, neuropatía autonómica, neuritis y 15 neuropatía diabética), o glaucoma.

20. El método de la reivindicación 18 en donde el estrés es un trastorno cardíaco.

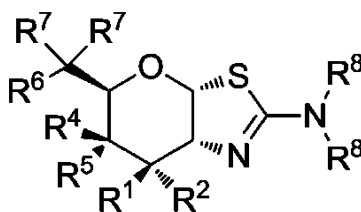
21. El método de la reivindicación 20 en donde la enfermedad cardíaca se selecciona a 20 partir de uno o más de los del grupo que consiste de la isquemia, hemorragia, choque hipovolémico, infarto de miocardio, un procedimiento de cardiología intervencionista, cirugía de derivación cardíaca, terapia fibrinolítica, angioplastia y colocación de stent.

22. El método de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 21 en el que se ha seleccionado 25 el compuesto del grupo que consiste de uno o más de los compuestos descritos en la Tabla 1.

23. El método de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 22 donde dicha administración aumenta el nivel de O- GlcNAc en el sujeto.

30 24. El método de cualquiera de las reivindicaciones 14 a 23 donde el sujeto es un ser humano.

25. El uso de un compuesto de una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(I)

donde

R^1 y R^2 son H, o R^1 es H y R^2 es F, o R^1 es F y R^2 es H, o R^1 es OR^3 y R^2 es H;

cada R es independientemente H o acilo de C_{1-6} ;

5 R^4 es H, y R^5 es OR^3 , o R^4 es OR^3 y R^5 es H, R^6 es H, F, o OR^3 ;

cada R^7 es independientemente H o F;

cada R^8 se selecciona independientemente del grupo que consiste de: H, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo y C_{1-6} alcoxi, donde C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo, o C_{1-6} alcoxi son opcionalmente sustituidos desde uno hasta el número máximo de

10 sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o un grupo metilo, o

los dos grupos R^8 están conectados entre sí con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente desde uno hasta el número máximo de sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o un grupo metilo,

15 con la condición de que cuando R^6 es OR^3 , cada R^7 es H, y

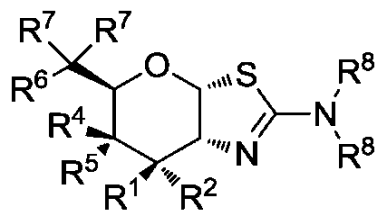
con la condición de que tanto R^1 como R^6 es distinto a OR^3 , en la preparación de un medicamento.

26. El uso de la reivindicación 25 en el que dicho medicamento es para la inhibición selectiva de una O- GlcNAcase, para aumentar el nivel de O- GlcNAc, para tratar una condición modulada por una O- GlcNAcase, o para el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, una taupatía, un cáncer, o estrés.

27. Un método para la detección de un inhibidor selectivo de una O- GlcNAcase, que comprende el método:

a) colocar en contacto una primera muestra con un compuesto de prueba;

b) colocar en contacto una segunda muestra con un compuesto de fórmula (I)



(I)

donde

R^1 y R^2 son H, o R^1 es H y R^2 es F, o R^1 es F y R^2 es H, o R^1 es OR^3 y R^2 es H;

cada R^3 es independientemente H o acilo de C_{1-6} ;

5 R^4 es H, y R^5 es OR^3 , o R^4 es OR^3 y R^5 es H;

R^6 es H, F, u OR^3 ;

cada R^7 es independientemente H o F;

cada R^8 se selecciona independientemente del grupo que consiste en: H, C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo y C_{1-6} alcoxi, donde C_{1-6} alquilo, C_{3-6} alquenilo, C_{3-6} alquinilo, o C_{1-6} alcoxi opcionalmente sustituidos desde uno hasta el número máximo de sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o un grupo metilo, o

los dos grupos R^8 están conectados entre sí con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un anillo, dicho anillo opcionalmente sustituido independientemente desde uno hasta el número máximo de sustituyentes con uno o más de flúor, OH, o un grupo metilo,

con la condición de que cuando R^6 es OR^3 , cada R^7 es H, y

con la condición de que tanto R^1 como R^6 es distinto a OR^3 ;

c) determinar el nivel de inhibición de la O- GlcNAcase en la primera y segunda muestra, en donde el compuesto de ensayo es un inhibidor selectivo de la O- GlcNAcase si la sustancia de ensayo presenta inhibición igual o mayor de la O- GlcNAcase en comparación con el compuesto de la fórmula (I).

INHIBIDORES SELECTIVOS DE LA GLUCOSIDASA Y USOS DE LOS MISMOS

RESUMEN

La invención proporciona compuestos con aumento de la permeabilidad de la inhibición selectiva de glicosidasas, profármacos de los compuestos y composiciones farmacéuticas que incluyen los compuestos o profármacos de los compuestos. La invención también proporciona métodos para tratar enfermedades y trastornos relacionados con la deficiencia o la sobreexpresión de la O- GlcNAcase, acumulación o deficiencia de O- GlcNAc.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY REPORT ON PATENTABILITY

(Chapter I of the Patent Cooperation Treaty)

(PCT Rule 44bis)

Applicant's or agent's file reference 101485AW-90	FOR FURTHER ACTION		See item 4 below
International application No. PCT/CA2011/001397	International filing date (<i>day/month/year</i>) 21 December 2011 (21.12.2011)	Priority date (<i>day/month/year</i>) 23 December 2010 (23.12.2010)	
International Patent Classification (8th edition unless older edition indicated) See relevant information in Form PCT/ISA/237			
Applicant ALECTOS THERAPEUTICS, INC.			

1. This international preliminary report on patentability (Chapter I) is issued by the International Bureau on behalf of the International Searching Authority under Rule 44 bis.1(a).

2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.

In the attached sheets, any reference to the written opinion of the International Searching Authority should be read as a reference to the international preliminary report on patentability (Chapter I) instead.

3. This report contains indications relating to the following items:

- | | | |
|-------------------------------------|--------------|---|
| ☒ | Box No. I | Basis of the report |
| ☒ | Box No. II | Priority |
| ☒ | Box No. III | Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability |
| ☐ | Box No. IV | Lack of unity of invention |
| ☒ | Box No. V | Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement |
| ☐ | Box No. VI | Certain documents cited |
| ☐ | Box No. VII | Certain defects in the international application |
| ☐ | Box No. VIII | Certain observations on the international application |

4. The International Bureau will communicate this report to designated Offices in accordance with Rules 44bis.3(c) and 93bis.1 but not, except where the applicant makes an express request under Article 23(2), before the expiration of 30 months from the priority date (Rule 44bis .2).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. +41 22 338 82 70		Date of issuance of this report 25 June 2013 (25.06.2013) Authorized officer Athina Nickitas-Etienne e-mail: pt04.pct@wipo.int
---	--	--

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
CHATTERJEE, ALAKANANDA
c/o Borden Ladner Gervais LLP
1200 Waterfront Centre
200 Burrard Street, P.O. Box 48600
VANCOUVER, British Columbia
Canada, V7X 1T2

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing 12 March 2012 (12-03-2012)
(day/month/year)

Applicant's or agent's file reference
101485AW-90

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/CA2011/001397

International filing date (day/month/year)
21 December 2011 (21-12-2011)

Priority date (day/month/year)
23 December 2010 (23-12-2010)

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
IPC: **C07H 9/06** (2006.01) , **A61K 31/7056** (2006.01) , **C07D 513/04** (2006.01) , **C12Q 1/34** (2006.01)

Applicant
ALECTOS THERAPEUTICS, INC. ET AL

1. This opinion contains indications relating to the following items :

- | | |
|---|--|
| ☒ Box No. I | Basis of the opinion |
| ☒ Box No. II | Priority |
| ☒ Box No. III | Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability |
| ☐ Box No. IV | Lack of unity of invention |
| ☒ Box No. V | Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement |
| ☐ Box No. VI | Certain documents cited |
| ☐ Box No. VII | Certain defects in the international application |
| ☐ Box No. VIII | Certain observations on the international application |

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA/CA
Canadian Intellectual Property Office
Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT
50 Victoria Street
Gatineau, Quebec K1A 0C9
Facsimile No.: 001-819-953-2476

Date of completion of this opinion
28 February 2012 (28-02-2012)

Authorized officer
Wendy Young (819) 934-0477

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/CA2011/001397

Box No. I

Basis of this opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:

 ☒ the international application in the language in which it was filed

 ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43*bis*.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
 - a. (means)

 ☐ on paper

 ☐ in electronic form
 - b. (time)

 ☐ the international application as filed.

 ☐ together with the international application in electronic form

 ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments :

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/CA2011/001397

Box No. II Priority

- 1 ☒ The validity of the priority claim has not been considered because the International Searching Authority does not have in its possession a copy of the earlier application whose priority has been claimed or, where required, a translation of that earlier application. This opinion has nevertheless been established on the assumption that the relevant date (Rules 43bis.1 and 64.1) is the claimed priority date.

- 2 ☐ This opinion has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid (Rules 43bis.1 and 64.1). Thus for the purposes of this opinion, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.

3. Additional observations, if necessary :

Subsequent to Form PCT/RO/132, it is advised that the priority documents have not been received by the Authority.

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/CA2011/001397

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of :

- ☐ the entire international application
☒ claim Nos. 16-24

because:

- ☒ the said international application, or the said claim Nos. 16-24
relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*) :

Claims 16-24 directed to methods of treating a condition modulated by an O-GlcNAcase are methods of medical treatment which are not required to be searched by this Authority. Nevertheless, the Authority has performed a search on the alleged therapeutic effects derived from the compounds as selective glycosidase inhibitors.

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claim Nos.
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*) :

- ☐ the claims, or said claims Nos.
are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☐ no international search report has been established for said claims Nos.

- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

- ☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it;
- ☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it;
- ☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rule 13ter.1(a) or (b).

- ☐ See Supplemental Box for further details.

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims <u>1-27</u>	YES
	Claims <u>none</u>	NO
Inventive step (IS)	Claims <u>1-27</u>	YES
	Claims <u>none</u>	NO
Industrial applicability (IA)	Claims <u>1-27</u>	YES
	Claims <u>none</u>	NO

2. Citations and explanations :

- 1) CA2661582 (VOCADLO, D et al.) 6 March 2008 (2008-03-06)
- 2) CA2599843 (MACAULEY, M et al.) 8 September 2006 (2006-09-08)
- 3) "Mechanism, Structure and Inhibition of O-GlcNAc Processing Enzymes"
Gloster, TM et al. *Curr Signal Transduct Ther.* **January 2010**, 5(1), 74-91
- 4) "Increasing O-GlcNAc levels: An overview of small-molecule inhibitors"
Macauley, MS et al. *Biochimica et Biophysica Acta* **2010**, 1800, 107-121
- 5) "A potent mechanism-inspired O-GlcNAcase inhibitor that blocks phosphorylation of tau in vivo"
Yuzwa, SA et al. *Nature Chemical Biology*, **2008**, 4(8), 483-490
- 6) "Enzymatic characterization and inhibition of the nuclear variant of human O-GlcNAcase"
Macauley, MS et al. *Carbohydrate Research* **2009**, 244, 1079-1084
- 7) "Analysis of PUGNAc and NAG-thiazoline as Transition State Analogues for Human O-GlcNAcase: Mechanistic and Structural Insights into inhibitor Selectivity and Transition State Poise"
Whitworth, GE et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 635-644
- 8) "O-GlcNAcase Uses Substrate-assisted Catalysis" Macauley, MS et al. *Journal of Biological Chemistry* **2005**, 280(27), 25313-25322
- 9) "Tautomeric Modification of GlcNAc-Thiazoline" Knapp, S et al. *Organic Letters* **2007**, 9(12), 2321-2324

NOVELTY

Claims 1-27 are novel and do comply with Article 33(2) of the PCT.

The exemplary compounds in CA2661582 correspond to the present compounds of formula (I), but the proviso provided in the present claims (see, for example, claim 1) preclude the citation of this prior art.

The compounds in CA2599843 have the same core structures comprising a pyranose condensed with a thiazole as do the present compounds. However, the compounds in this prior art do not have the N(R⁸)₂ substituent possessed by the present compounds; indeed, the compounds in the prior art lack any N-linked substituent to the thiazole ring.

The known glycosidase inhibitor, "Thiamet-G" which is featured in *Curr Signal Transduct Ther.* by Gloster, TM et al., *Biochimica et Biophysica Acta* by Macauley, MS et al., in *Nature Chemical Biology* by Yuzwa, SA et al. respectively, is within the scope of the compounds of formula (I) in the present application.

However, the proviso provided in the present claims (see, for example, claim 1) preclude the citation of this prior art.

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of: Box V

In *Curr Signal Transduct Ther.* by Gloster, TM et al., *Carbohydrate Research* by Macauley, MS et al. and *Biochimica et Biophysica Acta* by Macauley, MS et al. respectively, the known glycosidase inhibitors "NbutGT" and "NAG-thiazoline" are shown. Despite having the same core structure of a pyranose condensing with a thiazole as do the present compounds of formula (I), each of the 2 known inhibitors lacks the $N(R^8)_2$ substituent possessed by the present compounds.

In *J. Am. Chem. Soc.* by Whitworth, GE, *Journal of Biological Chemistry* by Macauley, MS et al. and Knapp, S et al. *Organic Letters* respectively, the known glycosidase inhibitor "NAG-thiazoline" and its various analogues are featured. Specifically, these analogues have the same core structures as the parent "NAG-thiazoline", but have different substituents attached to the thiazole ring. None of the analogues have a N-linked substituent, let alone the $N(R^8)_2$ substituent possessed by the present compounds.

INVENTIVE STEP

Claims 1-27 do comply with Article 33(3) of the PCT.

The subject matter of claim is considered to involve an inventive step since the prior art either does not fairly suggest the inventive feature of the condensed core structure in addition to the $N(R^8)_2$ substituent as seen by the present compounds, or that the prior art compounds are excluded because of the proviso provided in the claims.

INDUSTRIAL APPLICABILITY

The subject matter of claims 1-27 is considered to be industrially applicable and thus complies with the requirements of Article 33(4) of the PCT.

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:
CHATTERJEE, ALAKANANDA
c/o Borden Ladner Gervais LLP
1200 Waterfront Centre
200 Burrard Street, P.O. Box 48600
VANCOUVER, British Columbia
Canada, V7X 1T2

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing 12 March 2012 (12-03-2012)
(day/month/year)

Applicant's or agent's file reference
101485AW-90

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/CA2011/001397

International filing date (day/month/year)
21 December 2011 (21-12-2011)

Priority date (day/month/year)
23 December 2010 (23-12-2010)

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
IPC: **C07H 9/06** (2006.01) , **A61K 31/7056** (2006.01) , **C07D 513/04** (2006.01) , **C12Q 1/34** (2006.01)

Applicant
ALECTOS THERAPEUTICS, INC. ET AL

1. This opinion contains indications relating to the following items :

- | | |
|---|--|
| ☒ Box No. I | Basis of the opinion |
| ☒ Box No. II | Priority |
| ☒ Box No. III | Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability |
| ☐ Box No. IV | Lack of unity of invention |
| ☒ Box No. V | Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement |
| ☐ Box No. VI | Certain documents cited |
| ☐ Box No. VII | Certain defects in the international application |
| ☐ Box No. VIII | Certain observations on the international application |

2. **FURTHER ACTION**

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA/CA
Canadian Intellectual Property Office
Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT
50 Victoria Street
Gatineau, Quebec K1A 0C9
Facsimile No.: 001-819-953-2476

Date of completion of this opinion
28 February 2012 (28-02-2012)

Authorized officer
Wendy Young (819) 934-0477

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/CA2011/001397

Box No. I

Basis of this opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:

 ☒ the international application in the language in which it was filed

 ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43*bis*.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
 - a. (means)

 ☐ on paper

 ☐ in electronic form
 - b. (time)

 ☐ the international application as filed.

 ☐ together with the international application in electronic form

 ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments :

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/CA2011/001397

Box No. II Priority

1 ☒ The validity of the priority claim has not been considered because the International Searching Authority does not have in its possession a copy of the earlier application whose priority has been claimed or, where required, a translation of that earlier application. This opinion has nevertheless been established on the assumption that the relevant date (Rules 43bis.1 and 64.1) is the claimed priority date.

2 ☐ This opinion has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid (Rules 43bis.1 and 64.1). Thus for the purposes of this opinion, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.

3. Additional observations, if necessary :

Subsequent to Form PCT/RO/132, it is advised that the priority documents have not been received by the Authority.

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/CA2011/001397

Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of :

- ☐ the entire international application
☒ claim Nos. 16-24

because:

- ☒ the said international application, or the said claim Nos. 16-24
relate to the following subject matter which does not require an international search (*specify*) :

Claims 16-24 directed to methods of treating a condition modulated by an O-GlcNAcase are methods of medical treatment which are not required to be searched by this Authority. Nevertheless, the Authority has performed a search on the alleged therapeutic effects derived from the compounds as selective glycosidase inhibitors.

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claim Nos.
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*) :

- ☐ the claims, or said claims Nos.
are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☐ no international search report has been established for said claims Nos.

- ☐ a meaningful opinion could not be formed without the sequence listing; the applicant did not, within the prescribed time limit:

- ☐ furnish a sequence listing on paper complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it;
- ☐ furnish a sequence listing in electronic form complying with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions, and such listing was not available to the International Searching Authority in a form and manner acceptable to it;
- ☐ pay the required late furnishing fee for the furnishing of a sequence listing in response to an invitation under Rule 13ter.1(a) or (b).

- ☐ See Supplemental Box for further details.

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims <u>1-27</u>	YES
	Claims <u>none</u>	NO
Inventive step (IS)	Claims <u>1-27</u>	YES
	Claims <u>none</u>	NO
Industrial applicability (IA)	Claims <u>1-27</u>	YES
	Claims <u>none</u>	NO

2. Citations and explanations :

- 1) CA2661582 (VOCADLO, D et al.) 6 March 2008 (2008-03-06)
- 2) CA2599843 (MACAULEY, M et al.) 8 September 2006 (2006-09-08)
- 3) "Mechanism, Structure and Inhibition of O-GlcNAc Processing Enzymes"
Gloster, TM et al. *Curr Signal Transduct Ther.* **January 2010**, 5(1), 74-91
- 4) "Increasing O-GlcNAc levels: An overview of small-molecule inhibitors"
Macauley, MS et al. *Biochimica et Biophysica Acta* **2010**, 1800, 107-121
- 5) "A potent mechanism-inspired O-GlcNAcase inhibitor that blocks phosphorylation of tau in vivo"
Yuzwa, SA et al. *Nature Chemical Biology*, **2008**, 4(8), 483-490
- 6) "Enzymatic characterization and inhibition of the nuclear variant of human O-GlcNAcase"
Macauley, MS et al. *Carbohydrate Research* **2009**, 244, 1079-1084
- 7) "Analysis of PUGNAc and NAG-thiazoline as Transition State Analogues for Human O-GlcNAcase: Mechanistic and Structural Insights into inhibitor Selectivity and Transition State Poise"
Whitworth, GE et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 635-644
- 8) "O-GlcNAcase Uses Substrate-assisted Catalysis" Macauley, MS et al. *Journal of Biological Chemistry* **2005**, 280(27), 25313-25322
- 9) "Tautomeric Modification of GlcNAc-Thiazoline" Knapp, S et al. *Organic Letters* **2007**, 9(12), 2321-2324

NOVELTY

Claims 1-27 are novel and do comply with Article 33(2) of the PCT.

The exemplary compounds in CA2661582 correspond to the present compounds of formula (I), but the proviso provided in the present claims (see, for example, claim 1) preclude the citation of this prior art.

The compounds in CA2599843 have the same core structures comprising a pyranose condensed with a thiazole as do the present compounds. However, the compounds in this prior art do not have the N(R⁸)₂ substituent possessed by the present compounds; indeed, the compounds in the prior art lack any N-linked substituent to the thiazole ring.

The known glycosidase inhibitor, "Thiamet-G" which is featured in *Curr Signal Transduct Ther.* by Gloster, TM et al., *Biochimica et Biophysica Acta* by Macauley, MS et al., in *Nature Chemical Biology* by Yuzwa, SA et al. respectively, is within the scope of the compounds of formula (I) in the present application.

However, the proviso provided in the present claims (see, for example, claim 1) preclude the citation of this prior art.

Supplemental Box

In case the space in any of the preceding boxes is not sufficient.

Continuation of: Box V

In *Curr Signal Transduct Ther.* by Gloster, TM et al., *Carbohydrate Research* by Macauley, MS et al. and *Biochimica et Biophysica Acta* by Macauley, MS et al. respectively, the known glycosidase inhibitors "NbutGT" and "NAG-thiazoline" are shown. Despite having the same core structure of a pyranose condensing with a thiazole as do the present compounds of formula (I), each of the 2 known inhibitors lacks the $N(R^8)_2$ substituent possessed by the present compounds.

In *J. Am. Chem. Soc.* by Whitworth, GE, *Journal of Biological Chemistry* by Macauley, MS et al. and Knapp, S et al. *Organic Letters* respectively, the known glycosidase inhibitor "NAG-thiazoline" and its various analogues are featured. Specifically, these analogues have the same core structures as the parent "NAG-thiazoline", but have different substituents attached to the thiazole ring. None of the analogues have a N-linked substituent, let alone the $N(R^8)_2$ substituent possessed by the present compounds.

INVENTIVE STEP

Claims 1-27 do comply with Article 33(3) of the PCT.

The subject matter of claim is considered to involve an inventive step since the prior art either does not fairly suggest the inventive feature of the condensed core structure in addition to the $N(R^8)_2$ substituent as seen by the present compounds, or that the prior art compounds are excluded because of the proviso provided in the claims.

INDUSTRIAL APPLICABILITY

The subject matter of claims 1-27 is considered to be industrially applicable and thus complies with the requirements of Article 33(4) of the PCT.

PATENT COOPERATION TREATY
PCT
INTERNATIONAL SEARCH REPORT
(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 101485AW-90	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below	
International application No. PCT/CA2011/001397	International filing date (<i>day/month/year</i>) 21 December 2011 (21-12-2011)	(Earliest)Priority date (<i>day/month/year</i>) 23 December 2010 (23-12-2010)
Applicant ALECTOS THERAPEUTICS, INC. ET AL		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 5 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

☒ the international application in the language in which it was filed

☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I

2. ☒ **Certain claims were found unsearchable** (see Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III)

4. With regard to the **title**,

☒ the text is approved as submitted by the applicant

☐ the text has been established by this Authority to read as follows :

5. With regard to the **abstract**,

☒ the text is approved as submitted by the applicant

☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No.

☐ as suggested by the applicant

☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure

☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention

b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of the first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons :

1. ☒ Claim Nos. : 16-24
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely :

Claims 16-24 directed to methods of treating a condition modulated by an O-GlcNAcase are methods of medical treatment which are not required to be searched by this Authority. Nevertheless, the Authority has performed a search on the alleged therapeutic effects derived from the compounds as selective glycosidase inhibitors.
2. ☐ Claim Nos. :
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically :
3. ☐ Claim Nos. :
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows :

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claim Nos. :
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim Nos. :

- Remark on Protest** ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CA2011/001397

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC: **C07H 9/06** (2006.01) , **A61K 31/7056** (2006.01) , **C07D 513/04** (2006.01) , **C12Q 1/34** (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07H 9/06 , A61K 31/7056, C07D 513/04, C12Q 1/34

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used)

STN, Intellect (Canadian Patent Database), Total Patent, PubMed, ScienceDirect, Google Scholar, American Chemical Society publication search.

keywords: glycosidase, glycosidase inhibitors, OGlcNAcase inhibitors, inhibition, applicant search.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CA2661582 (VOCADLO, D et al.) 6 March 2008 (2008-03-06) whole document	1-27
A	CA2599843 (MACAULEY, M et al.) 8 September 2006 (2006-09-08) whole document	1-27
A	"Mechanism, Structure and Inhibition of O-GlcNAc Processing Enzymes" Gloster, TM et al. <i>Curr Signal Transduct Ther.</i> January 2010 , 5(1), 74-91 whole document	1-27
A	"Increasing O-GlcNAc levels: An overview of small-molecule inhibitors" Macauley, MS et al. <i>Biochimica et Biophysica Acta</i> 2010 , 1800, 107-121 whole document	1-27
A	"A potent mechanism-inspired O-GlcNAcase inhibitor that blocks phosphorylation of tau in vivo" Yuzwa, SA et al. <i>Nature Chemical Biology</i> , 2008 , 4(8), 483-490	1-27

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C.

[X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search

20 February 2012 (20-02-2012)

Date of mailing of the international search report

12 March 2012 (12-03-2012)

Name and mailing address of the ISA/CA
Canadian Intellectual Property Office
Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT
50 Victoria Street
Gatineau, Quebec K1A 0C9
Facsimile No.: 001-819-953-2476

Authorized officer

Wendy Young (819) 934-0477

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CA2011/001397

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	"Enzymatic characterization and inhibition of the nuclear variant of human O-GlcNAcase" Macauley, MS et al. <i>Carbohydrate Research</i> 2009 , 244, 1079-1084 whole document	1-27
A	"Analysis of PUGNAc and NAG-thiazoline as Transition State Analogues for Human O-GlcNAcase: Mechanistic and Structural Insights into inhibitor Selectivity and Transition State Poise" Whitworth, GE et al. <i>J. Am. Chem. Soc.</i> 2007 , 129, 635-644 whole document	1-27
A	"O-GlcNAcase Uses Substrate-assisted Catalysis" Macauley, MS et al. <i>Journal of Biological Chemistry</i> 2005 , 280(27), 25313-25322 whole document	1-27
A	"Tautomeric Modification of GlcNAc-Thiazoline" Knapp, S et al. <i>Organic Letters</i> 2007 , 9(12), 2321-2324 whole document	1-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CA2011/001397

Patent Document Cited in Search Report	Publication Date	Patent Family Member(s)	Publication Date
CA2661582A1	06 March 2008 (06-03-2008)	AU2007291870A1 CN101595111A EP2057171A1 EP2057171A4 EP2322529A1 JP2010501598A US2010016386A1 WO2008025170A1 WO2008025170B1	06 March 2008 (06-03-2008) 02 December 2009 (02-12-2009) 13 May 2009 (13-05-2009) 21 April 2010 (21-04-2010) 18 May 2011 (18-05-2011) 21 January 2010 (21-01-2010) 21 January 2010 (21-01-2010) 06 March 2008 (06-03-2008) 24 April 2008 (24-04-2008)
CA2599843A1	08 September 2006 (08-09-2006)	AU2006220187A1 CN101208352A EP1869060A1 EP1869060A4 JP2008531604A US2008287375A1 WO2006092049A1	08 September 2006 (08-09-2006) 25 June 2008 (25-06-2008) 26 December 2007 (26-12-2007) 12 August 2009 (12-08-2009) 14 August 2008 (14-08-2008) 20 November 2008 (20-11-2008) 08 September 2006 (08-09-2006)