

# 选择性糖苷酶抑制剂及其用途

申请号：[201710205882.9](#)

申请日：2007-08-31

申请(专利权)人 [西蒙 弗雷瑟大学](#)

地址 [加拿大不列颠哥伦比亚省](#)

发明(设计)人 [大卫 沃恰德洛 埃内斯特 麦凯歇恩 格瑞特 惠特沃 马修 麦考利 朱利安 海诺宁 基思 斯图布斯 李同双](#)

主分类号 [C07H9/06\(2006.01\)](#)

分类号 [C07H9/06\(2006.01\)](#) [A61K31/7056\(2006.01\)](#)  
[A61P25/28\(2006.01\)](#) [A61P35/00\(2006.01\)](#) [A61P3/10\(2006.01\)](#)  
[A61P3/00\(2006.01\)](#)

公开(公告)号 [107253970A](#)

公开(公告)日 [2017-10-17](#)

专利代理机构 [北京集佳知识产权代理有限公司 11227](#)

代理人 [顾晋伟 韩宏星](#)



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107253970 A

(43)申请公布日 2017. 10. 17

(21)申请号 201710205882.9

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

(22)申请日 2007.08.31

代理人 顾晋伟 韩宏星

(30)优先权数据

60/841,196 2006.08.31 US

60/895,663 2007.03.19 US

(51)Int.Cl.

C07H 9/06(2006.01)

A61K 31/7056(2006.01)

A61P 25/28(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

A61P 3/10(2006.01)

A61P 3/00(2006.01)

(62)分案原申请数据

200780040905.X 2007.08.31

(71)申请人 西蒙·弗雷瑟大学

地址 加拿大不列颠哥伦比亚省

(72)发明人 大卫·沃恰德洛

埃内斯特·麦凯歇恩

格瑞特·惠特沃 马修·麦考利

朱利安·海诺宁 基思·斯图布斯

李同双

权利要求书1页 说明书81页 附图7页

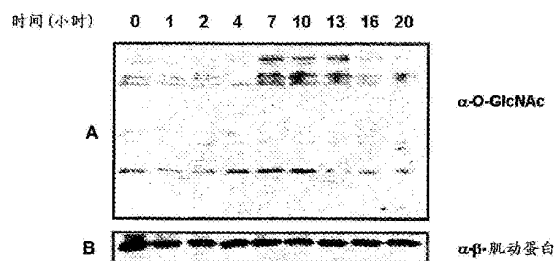
(54)发明名称

选择性糖苷酶抑制剂及其用途

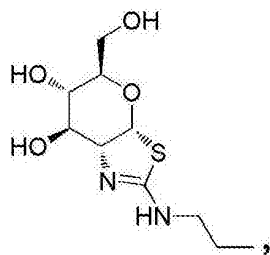
(57)摘要

本发明涉及选择性糖苷酶抑制剂及其用途。具体地,本发明提供了用于选择性抑制糖苷酶的式(I)化合物、所述化合物的前药以及包含所述化合物或所述化合物前药的药物组合物。本发明还提供了与O-GlcNAc酶缺乏或过表达、O-GlcNAc的累积或缺乏相关的疾病和病症的治疗方法。

大鼠心脏组织中O-GlcNAc水平

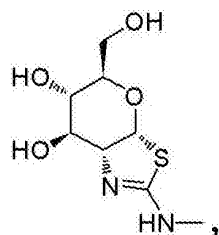


1. 名称为 (3aR,5R,6S,7R,7aR) -5-(羟基甲基)-2-(丙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇的或具有以下化学式的化合物:



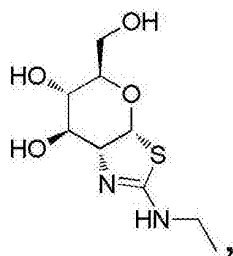
或其药学上可接受的盐。

2. 名称为 (3aR,5R,6S,7R,7aR) -5-(羟基甲基)-2-(甲基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇或具有以下化学结构的化合物:



或其药学上可接受的盐。

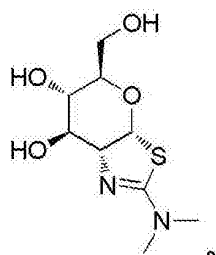
3. 名称为 (3aR,5R,6S,7R,7aR) -2-(乙基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇或具有以下化学结构的化合物:



或其药学可接受的盐。

4. 一种药物组合物,其包含权利要求1至3中任一项的化合物和药学上可接受载体。

5. 一种药物组合物,其包含名称为 (3aR,5R,6S,7R,7aR) -2-(二甲基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇或具有以下化学结构的化合物:



## 选择性糖苷酶抑制剂及其用途

[0001] 本申请是申请日为2007年8月31日、申请号为200780040905.X、发明名称为“选择性糖苷酶抑制剂及其用途”的中国专利申请的分案申请。

[0002] 相关申请的交叉引用

[0003] 本申请要求2006年8月31日提交的美国临时申请60/841,196和2007年3月19日提交的60/895,663的权益,这两篇文献在此通过引用并入本文。

### 技术领域

[0004] 本申请涉及选择性抑制糖苷酶的化合物及其用途。

### 背景技术

[0005] 许多细胞蛋白质(细胞核蛋白和细胞质蛋白)通过添加经由O-糖苷键连接的单糖2-乙酰胺基-2-脱氧- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷( $\beta$ -N-乙酰葡萄糖胺)而被翻译后修饰的<sup>1</sup>。该修饰通常称为O连接的N-乙酰葡萄糖胺或O-GlcNAc。负责翻译后将 $\beta$ -N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc)与多种细胞核质蛋白的特定丝氨酸和苏氨酸残基相连接的酶是O-GlcNAc转移酶(OGT酶)<sup>2-5</sup>。另一种称为O-GlcNAc酶<sup>6,7</sup>的酶去除该翻译后修饰以释放蛋白质使得O-GlcNAc修饰处于动态循环中,在蛋白质的生命周期中发生数次<sup>8</sup>。

[0006] O-GlcNAc修饰蛋白质调节多种关键细胞功能,包括例如转录<sup>9-12</sup>、蛋白酶体降解<sup>13</sup>、以及细胞信号传导<sup>14</sup>。在许多结构蛋白上也发现了O-GlcNAc<sup>15-17</sup>。例如,在许多细胞骨架蛋白上发现,包括神经丝蛋白<sup>18,19</sup>、突触蛋白<sup>6,20</sup>、突触蛋白特异性网格蛋白装配蛋白AP-3<sup>7</sup>以及锚蛋白G<sup>14</sup>。发现O-GlcNAc修饰在脑中大量存在<sup>21,22</sup>。还在蛋白质上已发现明显涉及几种疾病(包括阿尔茨海默病(AD)和癌症)病因。

[0007] 例如,公认的是,AD和许多相关的tau病(tauopathy)(包括唐氏综合征、皮克病、C型尼-皮病以及肌萎缩性侧索硬化症(ALS))的特征部分表现发生神经原纤维缠结(NFT)。这些NFT是成对螺旋纤丝(PHF)的聚集体并且由异常形式的细胞骨架蛋白“tau”组成。通常,tau稳定微管(在神经元内分配蛋白质和营养物质所必需的)的关键细胞网络。然而,在AD患者中,tau过度磷酸化,破坏了其正常功能,形成PHF,最终聚集形成NFT。在人脑中发现了6种tau同工型。在AD患者中,在NFT中发现了所有6种tau,并且所有均显著过度磷酸化<sup>23,24</sup>。健康脑组织中的tau仅具有2个或3个磷酸基,而在AD患者脑中发现平均为8个磷酸基<sup>25,26</sup>。AD患者脑中NFT水平与痴呆严重程度的明确平行关系强有力地支持了tau功能异常在AD中起到关键作用<sup>27,28</sup>。Tau过度磷酸化的准确原因仍然不清楚。因此,在以下方面进行了相当大的努力:a)阐明tau过度磷酸化的分子生理学基础<sup>29</sup>;以及b)鉴定能够限制tau过度磷酸化的策略,希望这些策略可以停止或甚至逆转阿尔茨海默病的进程<sup>30-33</sup>。迄今为止,尽管最近已在所述过度磷酸化的替代原理方面取得了进展<sup>21</sup>,但是几个证据系列表明许多激酶的上调可能参与了tau的过度磷酸化<sup>21,34,35</sup>。

[0008] 尤其是,最近出现了tau磷酸化水平受tau上O-GlcNAc水平调节这一说法。tau上O-GlcNAc的存在激发了将O-GlcNAc水平与tau磷酸化水平关联起来的研究。人们近来对该领

域的兴趣来自下述这一观察:发现O-GlcNAc修饰出现在许多蛋白质上已知被磷酸化的氨基酸残基处<sup>36-38</sup>。与该观察一致,发现磷酸化水平的升高导致O-GlcNAc水平的降低;相反,O-GlcNAc水平的升高与磷酸化水平的降低相关<sup>39</sup>。O-GlcNAc和磷酸化之间的这种互反关系被称为“阴阳假说”<sup>40</sup>并且得到最近发现(所述酶OGT酶<sup>4</sup>与起到消除蛋白质中磷酸基作用的磷酸酶形成功能复合物)的强有力的生物化学支持<sup>41</sup>。与磷酸化相似,O-GlcNAc是可在蛋白质生命周期中被除去和重建数次的动态修饰。有启发性的是,编码O-GlcNAc酶的基因定位在与AD连锁的染色体基因座上<sup>7,42</sup>。人AD脑中过度磷酸化的tau具有比健康人脑中显著降低的O-GlcNAc水平<sup>21</sup>。最近,已经表明感染AD的人脑的可溶性tau蛋白的O-GlcNAc水平显著低于健康脑的水平<sup>21</sup>。此外,提示无论如何患病脑的PHF都完全缺乏任何O-GlcNAc修饰<sup>21</sup>。尽管所述tau的过度磷酸化可能由激酶活性的增强和/或参与O-GlcNAc加工的酶之一的功能异常而引起,但其分子基础是未知的。支持后一观点的是,在PC-12神经元细胞和小鼠脑组织的切片中,利用非选择性N-乙酰基葡萄糖胺酶抑制剂升高tau O-GlcNAc水平,于是观察到磷酸化水平降低<sup>21</sup>。这些综合结果提示通过维持AD患者的O-GlcNAc健康水平(例如通过抑制O-GlcNAc酶的作用),将能够阻滞tau的过度磷酸化以及所有与tau过度磷酸化相关的作用,包括NFT的形成和下游作用。然而,由于 $\beta$ -氨基己糖苷酶正常运作是至关重要的,因此阻滞O-GlcNAc酶作用的用于治疗AD的任何潜在治疗性介入将不得不避免同时抑制氨基己糖苷酶A和B。

[0009] 神经元不贮存葡萄糖,因此,脑依赖由血液所供应的葡萄糖来维持其基本代谢功能。特别地,已经表明在脑内葡萄糖吸收和代谢随龄长降低<sup>43</sup>。AD患者脑内发生了葡萄糖利用显著降低并且这被认为是神经退变的潜在原因<sup>44</sup>。AD脑中葡萄糖供应减少的基础<sup>45-47</sup>被认为是源自葡萄糖转运减少<sup>48,49</sup>、胰岛素信号传导受损<sup>50,51</sup>以及血流减少<sup>52</sup>中的任何一种。

[0010] 考虑到这种葡萄糖代谢受损,值得注意的是进入细胞内的全部葡萄糖的2至5%分流进入所述己糖胺生物合成途径,从而调节该途径终产物(尿苷二磷酸-N-乙酰葡萄糖胺(UDP-GlcNAc)的细胞浓度<sup>53</sup>。UDP-GlcNAc是细胞核质酶O-GlcNAc转移酶(OGT酶)的底物<sup>2-5</sup>,其在翻译后将GlcNAc添加到多种细胞核质蛋白质的特定丝氨酸和苏氨酸残基上。OGT酶通过其三十四肽重复(tetratricopeptide repeat,TPR)域<sup>57,58</sup>识别其许多底物<sup>54,55</sup>和结合同伴<sup>41,56</sup>。如前所述,O-GlcNAc酶<sup>6,7</sup>消除该翻译后修饰以释放蛋白质,使得所述O-GlcNAc修饰在蛋白质的生命周期中发生多次动态循环<sup>8</sup>。已在几种蛋白质(包括tau和神经丝<sup>60</sup>)的已知磷酸化位点上<sup>10,37,38,59</sup>发现了O-GlcNAc。此外,OGT酶显示不寻常的动力学行为,使得其对细胞内UDP-GlcNAc底物浓度非常敏感,因此对葡萄糖供应非常敏感<sup>41</sup>。

[0011] 与己糖胺生物合成途径的已知性质、OGT酶的酶性质以及O-GlcNAc和磷酸化之间的互反关系一致,已经表明脑中葡萄糖利用度降低导致tau过度磷酸化<sup>44</sup>。因此无论任何原因,葡萄糖转运和代谢逐渐受损导致tau(及其它蛋白质)的O-GlcNAc减少和过度磷酸化。因此,抑制O-GlcNAc酶将弥补健康个体以及患有AD或相关神经退行性病变的患者脑内与年龄相关的葡萄糖代谢受损。

[0012] 这些结果表明,调节tau O-GlcNAc水平的机制异常可能在NFT和相关神经退行性病变的形成中至关重要。对阻滞tau过度磷酸化作为治疗有用的介入<sup>61</sup>的有力支持来自最近的研究,其表明当用激酶抑制剂处理人tau转基因小鼠时,它们不发生典型的运动缺陷<sup>33</sup>,另一种情形<sup>32</sup>显示不溶性tau水平降低。这些研究提供了在AD疾病的小鼠模型中降低tau磷酸

化水平和减轻AD样行为症状之间的明确关联。

[0013] 还有大量证据表明O-GlcNAc蛋白质修饰水平的提高提供了保护免受心脏组织中应激的致病作用,包括缺血、出血、高血容量性休克和钙反常(calcium paradox)引起的应激。例如,通过施用葡萄糖胺使己糖胺生物合成途径(HBP)活化已经表明在缺血/再灌注<sup>62-68</sup>、创伤出血<sup>69-71</sup>、高血容量性休克<sup>72</sup>和钙反常<sup>62,73</sup>的动物模型中发挥保护作用。此外,强有力的证据表明这些心脏保护作用是由蛋白质O-GlcNAc修饰水平的提高所介导的<sup>62,63,65,68,70,73-76</sup>。还有证据表明O-GlcNAc修饰在多种神经退行性疾病(包括帕金森病和亨廷顿病)中发挥作用<sup>77</sup>。

[0014] 人具有编码从糖缀合物上切割末端β-N-乙酰基-葡萄糖胺残基的酶的3个基因。这些基因中的第一种编码酶O-糖蛋白2-乙酰氨基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖苷酶(O-GlcNAc酶)。O-GlcNAc酶是糖苷水解酶家族84中的一员,其包括从来自原核病原体到人的各种各样生物的酶,(对于糖苷水解酶家族分类,参见Coutinho,P.M.&Henrissat,B.(1999) Carbohydrate-Active Enzymes server at URL:<http://afmb.cnrs-mrs.fr/CAZY/>)<sup>27,28</sup>。O-GlcNAc酶的作用在于将O-GlcNAc从翻译后修饰蛋白质的丝氨酸和苏氨酸残基上水解下来<sup>1,6,7,78,79</sup>。与O-GlcNAc存在于多种细胞内蛋白质上相一致,所述O-GlcNAc酶似乎在多种疾病(包括II型糖尿病<sup>14,80</sup>、AD<sup>16,21,81</sup>和癌症<sup>22,82</sup>)的病因中发挥作用。尽管O-GlcNAc酶很可能早就分离出来了<sup>18,19</sup>,但是在约20年前才了解其在将O-GlcNAc从蛋白质的丝氨酸和苏氨酸残基上切割下来中所起的生物化学作用<sup>6</sup>。最近已经克隆<sup>7</sup>并部分表征<sup>20</sup>了O-GlcNAc酶,表明其还具有作为组蛋白乙酰转移酶的其它活性<sup>20</sup>。然而,对该酶的催化机制了解甚少。

[0015] 另外两种基因HEXA和HEXB编码催化从糖缀合物上水解切割末端β-N-乙酰基葡萄糖胺残基的酶。HEXA和HEXB的基因产物分别主要产生两种二聚体同工酶:氨基己糖苷酶A和氨基己糖苷酶B。氨基己糖苷酶A(αβ)(异二聚体同工酶)由α和β亚单位组成。氨基己糖苷酶B(ββ)(同二聚体同工酶)由两个β亚单位组成。两个亚单位α和β具有高水平的序列一致性。这两种酶均被归类为糖苷水解酶家族20的成员,并且通常局限在溶酶体中。这些溶酶体β-氨基己糖苷酶的正常运作对于人发育是至关重要的,该事实可通过由氨基己糖苷酶A和氨基己糖苷酶B功能异常所引起的不幸遗传病:Tay-Sach病和Sandhoff病所进一步证实<sup>83</sup>。这些酶缺乏导致糖脂和糖缀合物积聚在溶酶体中,引起神经损伤和变形。仍然有待发现机体水平下神经节苷脂积聚的有害作用<sup>84</sup>。

[0016] 作为这些β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶的生物重要性的结果,糖苷酶的小分子抑制剂<sup>85-88</sup>在用作阐明这些酶在生物过程中作用的工具和开发潜在治疗应用中引起了极大的关注<sup>89</sup>。利用小分子控制糖苷酶功能具有优于基因敲除研究的几个优点,包括能快速改变剂量或彻底撤除治疗。

[0017] 然而,开发用于阻断哺乳动物糖苷酶(包括O-GlcNAc酶)功能的抑制剂的主要挑战是在高等真核生物组织中存在大量功能上相关的酶。因此,在研究一种特定酶的细胞和机体生理作用中利用非选择性抑制剂是难以实现的,因为在抑制这种功能相关酶的同时产生复杂的表型。在β-N-乙酰基-氨基葡萄糖苷酶的情形下,现有的用来阻断O-GlcNAc酶功能的化合物是非特异性的并且潜在地起到抑制溶酶体β-氨基己糖苷酶作用。

[0018] 已经用于细胞和组织内O-GlcNAc翻译后修饰研究中的几种较好表征的β-N-乙酰基-氨基葡萄糖苷酶抑制剂是链脲菌素(STZ)、2'-甲基-α-D-吡喃葡萄糖-[2,1-d]-Δ2'-噻

唑啉 (NAG-噻唑啉) 和N-苯基氨基甲酸O-(2-乙酰胺基-2-脱氧-吡喃葡萄糖叉基) 酰胺 (PUGNAc)<sup>14,90-93</sup>。

[0019] STZ因为其对β-胰岛细胞具有特别有害的作用而长期以来被用作致糖尿病化合物<sup>94</sup>。STZ通过细胞DNA烷基化<sup>94,95</sup>和产生自由基物质(包括氮氧化物)<sup>96</sup>而发挥其细胞毒作用。所致的DNA链断裂促使具有耗竭细胞NAD<sup>+</sup>水平的净效应的聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)的活化<sup>97</sup>并最终导致细胞死亡<sup>98,99</sup>。其它研究者提出代替性的建议,认为STZ毒性是不可逆地抑制β-胰岛细胞内高度表达的O-GlcNAc酶的结果<sup>90,100</sup>。然而,这个假说引起了两个独立研究组的质疑<sup>101,102</sup>。因为响应于多种形式的细胞应激,细胞内蛋白质上O-GlcNAc水平升高<sup>103</sup>,看上去可能STZ通过诱导细胞应激而不是通过对O-GlcNAc酶的任何特异性和直接作用来导致蛋白质上O-GlcNAc修饰水平的提高。实际上,Hanover及其同事已表明STZ起到弱的和有一定选择性O-GlcNAc酶抑制剂作用<sup>104</sup>,虽然其他研究者提议STZ不可逆地抑制O-GlcNAc酶<sup>105</sup>,但是没有该作用模式的明确证据。最近,已经表明STZ并非不可逆地抑制O-GlcNAc酶<sup>106</sup>。

[0020] 已发现NAG-噻唑啉是家族20氨基己糖苷酶的有效抑制剂<sup>88,107</sup>,最近发现其是家族840-GlcNAc酶的抑制剂<sup>106</sup>。尽管NAG-噻唑啉具有效力,但是其在复杂生物学环境中使用也有不利方面,原因在于其缺乏选择性,从而干扰多个细胞过程。

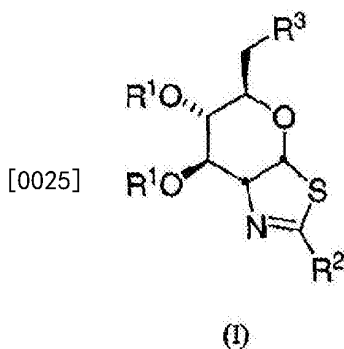
[0021] PUGNAc是受到同样的缺乏选择性问题影响的另一种化合物,但是满意地用作人O-GlcNAc酶<sup>6,108</sup>和家族20人β-己糖胺酶的抑制剂<sup>109</sup>。该分子是Vasella和同事开发的,发现其是强的β-N-乙酰基-葡萄糖胺酶(来自直立刀豆(*Canavalia ensiformis*)、鲁氏毛霉(*Mucor rouxii*))和β-己糖胺苷酶(来自牛肾脏)的竞争性抑制剂<sup>86</sup>。已经表明在创伤出血大鼠模型中施用PUGNAc可降低循环中促炎细胞因子TNF-α和IL-6的水平<sup>110</sup>。还表明在基于细胞的淋巴细胞活化模型中施用PUGNAc可减少细胞因子IL-2的产生<sup>111</sup>。最近的研究表明PUGNAc可用在动物模型中以减小左冠状动脉闭塞后的心肌梗塞面积<sup>112</sup>。特别重要的事实是,在创伤出血大鼠模型中施用PUGNAc(一种O-GlcNAc酶抑制剂)来升高O-GlcNAc水平能改善心脏功能<sup>110,113</sup>。此外,在利用新生大鼠心室肌细胞的缺血/再灌注损伤的细胞模型中,与未处理的细胞相比较而言,利用PUGNAc处理的细胞的O-GlcNAc水平升高,这提高了细胞活力并且减少了坏死和凋亡<sup>114</sup>。

[0022] 2006年3月1日提交的国际专利申请PCT/CA2006/000300(于2006年9月8日以No.WO 2006/092049公布,其内容在此通过引用并入本文)描述了一些与NAG-噻唑啉或PUGNAc相比较而言选择性更强的O-GlcNAc酶抑制剂。

## 发明内容

[0023] 本发明部分提供选择性抑制糖苷酶的化合物,所述化合物的前药,所述化合物和所述前药的用途,含有所述化合物或所述化合物前药的药物组合物,以及与O-GlcNAc酶缺乏或过表达、O-GlcNAc累积或缺乏相关的疾病和病症的治疗方法。

[0024] 一方面,本发明提供了式(I)化合物或其药学上可接受的盐:



[0026] 其中每个 $R^1$ 各自独立地是无干扰取代基； $R^2$ 是烷基、芳基、杂芳基、 $OR^4$ 、 $NR^4_2$ 和 $NR^4OR^4$ ，其各自可任选地被无干扰取代基取代； $R^3$ 是 $OR^4$ 、 $N_3$ 或 $NR^4_2$ ；每个 $R^4$ 各自独立地是无干扰取代基；前提是当每个 $R^1$ 是H且 $R^3$ 是OH时， $R^2$ 不包括 $CH_3$ 、 $CH_2CH_3$ 、 $(CH_2)_2CH_3$ 、 $(CH_2)_3CH_3$ 、 $(CH_2)_4CH_3$ 、 $(CH_2)_6CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $CH_2CH(CH_3)_2$ 、NH(苯基)、NH(4-甲氧基苯基)、 $N(CH_3)_2$ 、 $(CH_2)_2P(O)(OH)(OCH_3)$ 以及 $(CH_2)_2P(O)(OH)(O(CH_2)_7CH_3)$ ；以及前提是当每个 $R^1$ 是 $COCH_3$ 且 $R^3$ 是 $OC(O)CH_3$ 时， $R^2$ 不包括 $CH_3$ 、 $CH_2CH_3$ 、 $(CH_2)_2CH_3$ 、 $(CH_2)_3CH_3$ 、 $(CH_2)_4CH_3$ 、 $(CH_2)_6CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $CH_2CH(CH_3)_2$ 、NH(苯基)、NH(4-甲氧基苯基)、 $N(CH_3)_2$ 、 $(CH_2)_2P(O)(OH)(OCH_3)$ 以及 $(CH_2)_2P(O)(OH)(O(CH_2)_7CH_3)$ 、 $NHCH_3$ 、 $NH(CH_2)_2CH_3$ 、 $NHCH(CH_3)_2$ 、 $NH(CH_2)_3CH_3$ 、NH(环己基)、NH(苄基)、 $CH_2Br$ 、 $CHBr_2$ 、 $CH_2P(O)(OCH_2CH_3)_2$ 、 $(CH_2)_2P(O)(OCH_3)(O(CH_2)_7CH_3)$ 、 $(CH_2)_2P(O)(OCH_3)_2$ 、 $(CH_2)_2P(O)(OCH_3)_2$ 、 $N(COCH_3)$ (苯基)以及 $N(COCH_3)$ (4-甲氧基苯基)；以及前提是式(I)不包括表2中所述的化合物74至85。

[0027] 在可替代的实施方案中，每个 $R^1$ 各自可相连而形成另外的环结构；或者当 $R^3$ 是 $OR^4$ 时， $R^4$ 可以与任何一个 $R^1$ 相连而形成另外的环结构。

[0028] 在一些替代性实施方案中，所述无干扰取代基可以是烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、芳基烯基或芳基炔基，或者可包括选自P、O、S和N的一个或多个杂原子。所述无干扰取代基可任选地被取代。

[0029] 在一些替代性实施方案中，每个 $R^1$ 可以是H或 $C(O)CH_3$ ； $R^2$ 可以是 $CH_2F$ 、 $CHF_2$ 、 $CF_3$ 、 $(CH_2)_2CH=CH_2$ 、 $(CH_2)_2CH=CHCH_3$ 、 $CH_2OCH_3$ 、 $(CH_2)_2CF_3$ 、环丙基甲基、苯基、苄基、 $NH_2$ 、 $NHCH_3$ 、 $NHCH_2CH_3$ 、 $NH(CH_2)_2CH_3$ 、 $NH(CH_2)_3CH_3$ 、 $NHCH_2CH=CH_2$ 、NH环丙基、 $NHCH_2CH_2F$ 、 $NHCH_2CHF_2$ 、 $NHCH_2CF_3$ 、 $NHCH_2CH_2OH$ 、 $NHCH_2CH_2OC(O)CH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、 $N(CH_3)(CH_2CH_3)$ 、 $NHOCH_3$ 、 $OCH_3$ 或 $(CH_2)_2CH_3$ ； $R^3$ 可以是OH、 $OC(O)CH_3$ 、 $N_3$ 或 $NH_2$ 。

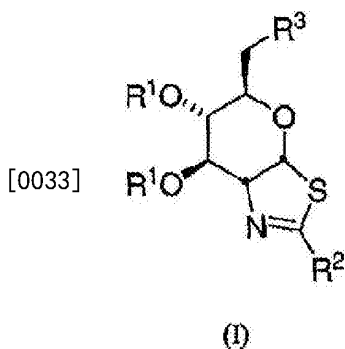
[0030] 在一些替代性实施方案中，所述化合物可以是表1中所述的化合物；所述化合物可不包括表2或表3中所述的一种或多种化合物；所述化合物可以是前药；所述化合物可选择性地抑制O-糖蛋白2-乙酰胺基-2-脱氧- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷酶(O-GlcNAc酶)；所述化合物可选择性地与O-GlcNAc酶(例如哺乳动物O-GlcNAc酶)结合；所述化合物可选择性地抑制2-乙酰胺基-2-脱氧- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(O-GlcNAc)的切割；所述化合物可基本上不抑制哺乳动物 $\beta$ -氨基己糖苷酶。

[0031] 在一些替代性方面，本发明提供了含有本发明化合物和药学上可接受载体的药物组合物。

[0032] 在一些替代性方面，本发明提供了选择性抑制O-GlcNAc酶、或抑制有此需求的对象中O-GlcNAc酶、或升高O-GlcNAc水平、或治疗神经退行性疾病、tau病、癌症或应激的方

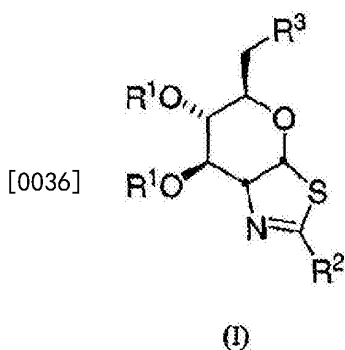


法,这是通过向所述对象施用有效量的式 (I) 或其药学上可接受的盐来实施:



[0034] 其中每个 $R^1$ 可各自独立地是无干扰取代基; $R^2$ 可以是烷基、芳基、杂芳基、 $OR^4$ 、 $NR^4_2$ 和 $NR^4OR^4$ ,其各自可任选地被无干扰取代基取代; $R^3$ 可以是 $OR^4$ 、 $N_3$ 或 $NR^4_2$ ;每个 $R^4$ 各自独立地是无干扰取代基,前提是当 $R^1$ 是H且 $R^3$ 是OH时, $R^2$ 不包括 $CH_2CH_3$ 、 $(CH_2)_2CH_3$ 、 $(CH_2)_3CH_3$ 、 $(CH_2)_4CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 以及 $CH_2CH(CH_3)_2$ ;以及前提是当 $R^1$ 是 $COCH_3$ 且 $R^3$ 是 $OC(O)CH_3$ 时, $R^2$ 不包括 $CH_2CH_3$ 、 $(CH_2)_2CH_3$ 、 $(CH_2)_3CH_3$ 、 $(CH_2)_4CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 以及 $CH_2CH(CH_3)_2$ 。所述病症可以是阿尔茨海默病、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、肌萎缩性侧索硬化症合并认知障碍(ALSci)、嗜银颗粒性痴呆、Bluit病、皮质基底节变性(CBD)、拳击员痴呆、弥散性神经纤维缠结伴有钙化、唐氏综合征、家族性英国型痴呆、家族性丹麦型痴呆、与17号染色体连锁的额颞痴呆伴帕金森综合征(FTDP-17)、格-施-沙病(Gerstmann-Straussler-Scheinker disease)、瓜德罗普岛帕金森病(guadelopean parkinsonism)、哈-施病(Hallewörden-Spatz disease)(1型脑内铁沉积性神经退化)、多系统萎缩、强直性肌营养不良、尼-皮病(Niemann-Pick disease)(C型)、苍白球脑桥黑质变性(Pallido-ponto-nigral degeneration)、关岛型帕金森综合征痴呆复合征(Parkinsonism-dementia complex of Guarn)、皮克病(PiD)、脑炎后帕金森综合征(PEP)、朊病毒病(包括克-雅病(CJD)、变异型克-雅病(vCJD)、致死性家族性失眠症和库鲁病)、进行性皮层上神经胶质增生(Progressive supracortical gliosis)、进行性核上性麻痹(PSP)、Richardson综合征、亚急性硬化全脑炎、单纯缠结性痴呆(Tangle-only dementia)、亨廷顿舞蹈病或帕金森病。所述应激可以是心脏病症,例如缺血、出血、低血容量性休克、心肌梗塞、介入性心脏病手术、心脏旁路手术、溶栓治疗、血管成形术或支架置入。

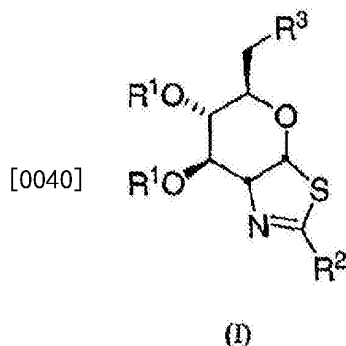
[0035] 在一些替代性方面,本发明提供了通过向有此需求的对象施用有效量的式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐来治疗该对象中O-GlcNAc酶介导的病症(不包括神经退行性疾病、tau病、癌症或应激)的方法:



[0037] 其中每个 $R^1$ 可以各自独立地是无干扰取代基; $R^2$ 可以是烷基、芳基、杂芳基、 $OR^4$ 、 $NR^4_2$ 和 $NR^4OR^4$ ,其各自可任选地被无干扰取代基取代; $R^3$ 可以是 $OR^4$ 、 $N_3$ 或 $NR^4_2$ ;每个 $R^4$ 可以各自独立地是无干扰取代基。在一些实施方案中,所述病症可以是炎性疾病或变应性疾病,例如哮喘、变应性鼻炎、超敏性肺病、超敏性肺炎、嗜酸性粒细胞肺炎、延迟型超敏反应、动脉硬化、间质性肺病(ILD)(例如特发性肺纤维化或与风湿性关节炎相关的ILD、系统性红斑狼疮、强直性脊柱炎、系统性硬化症、舍格伦综合征(Sjogren's syndrome)、多发性肌炎或皮炎);全身变应性反应或超敏性反应、药物变态反应、昆虫叮咬变态反应;自身免疫性疾病,例如类风湿性关节炎、银屑病性关节炎、多发性硬化、系统性红斑狼疮、重症肌无力、肾小球肾炎、自身免疫性甲状腺炎、移植排斥包括同种异体移植排斥或移植物抗宿主病;炎性肠病,例如克罗恩病和溃疡性结肠炎;脊柱关节病;硬皮病;银屑病(包括T细胞介导的银屑病)和炎性皮肤病例如皮炎、湿疹、异位性皮炎、变应性接触性皮炎、风疹;血管炎(例如坏死性血管炎、皮肤血管炎和超敏性血管炎)、嗜酸性粒细胞肌炎(eosinophilic myotitis)以及嗜酸性粒细胞筋膜炎;移植排斥,尤其是但不限于实体器官移植排斥,例如心脏、肺、肝脏、肾脏和胰腺移植(例如肾脏和肺同种异体移植);癫痫;疼痛;中风例如中风后神经保护。

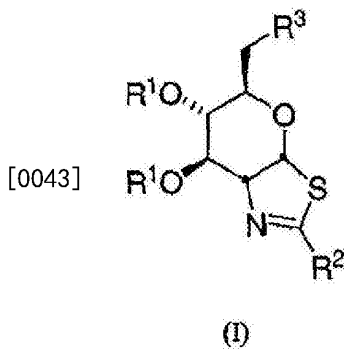
[0038] 在一些替代性实施方案中, $R^1$ 可以是H或C(O)CH<sub>3</sub>; $R^2$ 可以是CH<sub>2</sub>F、CHF<sub>2</sub>、CF<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>3</sub>、CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、环丙基甲基、苯基、苄基、NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>3</sub>、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>、NHCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>、NH环丙基、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F、NHCH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>、NHCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OC(O)CH<sub>3</sub>、N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、N(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OC(O)CH<sub>3</sub>、OCH<sub>3</sub>或(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;, $R^3$ 可以是OH、OC(O)CH<sub>3</sub>、 $N_3$ 或NH<sub>2</sub>;所述化合物可选自表2或表3中所述化合物中的一种或多种。所述施用可以升高对象中O-GlcNAc的水平。所述对象可以是人。

[0039] 在一些替代性方面,本发明提供了有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐在制备药物中的用途:



[0041] 其中每个 $R^1$ 可各自独立地是无干扰取代基; $R^2$ 可以是烷基、芳基、杂芳基、 $OR^4$ 、 $NR^4_2$ 和 $NR^4OR^4$ ,其各自可任选地被无干扰取代基取代; $R^3$ 可以是 $OR^4$ 、 $N_3$ 或 $NR^4_2$ ;每个 $R^4$ 可各自独立地是无干扰取代基,前提是所述式(I)化合物不包括表2和3中所述的化合物。所述药物可以用于选择性抑制O-GlcNAc酶,用于升高O-GlcNAc水平,用于治疗通过O-GlcNAc酶调节的病症,用于治疗神经退行性疾病、tau病、癌症或应激。

[0042] 在一些替代性方面,本发明提供了通过以下步骤筛选O-GlcNAc酶的选择性抑制剂的方法:a)使第一样品与试验化合物相接触;b)使第二样品与式(I)化合物相接触:



[0044] 其中每个 $R^1$ 可各自独立地是无干扰取代基； $R^2$ 可以是烷基、芳基、杂芳基、 $OR^4$ 、 $NR^4_2$ 和 $NR^4OR^4$ ，其各自可任选地被无干扰取代基取代； $R^3$ 可以是 $OR^4$ 、 $N_3$ 或 $NR^4_2$ ；每个 $R^4$ 可各自独立地是无干扰取代基，c) 测定所述第一样品和第二样品中O-GlcNAc酶的抑制水平，其中如果与式(I)化合物相比较而言所述试验化合物表现出对O-GlcNAc酶相同或更大的抑制作用，则所述试验化合物是O-GlcNAc酶的选择性抑制剂。

[0045] 本发明概要不必然描述本发明的全部特征。

#### 附图说明

[0046] 参照所附附图，通过下面描述，本发明的这些和其它特征变得更明显，其中：

[0047] 图1A-F显示了来自注射不同剂量的(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(羟基甲基)-2-丙基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(NAG-Bt)或单独注射载体(PBS)的大鼠肌肉和脑组织中蛋白质的Western印迹。通过SDS-PAGE分离来自利用指定剂量的NAG-Bt处理或单独利用载体(PBS, 0mg/kg)处理的动物的等量匀浆化肌肉(A)和脑(B)组织，然后利用抗-O-GlcNAc第一抗体和抗-IgM-小鼠IgG-HRP缀合物探针探测。图1C(肌肉)和1D(脑)显示了在图1A-B中加样并利用抗 $\beta$ -肌动蛋白mAb克隆AC-40接着用抗-小鼠IgG-HRP缀合物探测的样品的Western印迹。图1E(肌肉)和1F(脑)是显示通过光密度测定Western印迹结果的分析的图。

[0048] 图2A-I显示了利用或未利用NAG-Bt处理的大鼠脑组织中蛋白质的Western印迹，表明处理后脑tau磷酸化在多个位点处的变化。通过SDS-PAGE分离来自利用或未利用NAG-Bt处理的动物的等量匀浆化脑组织，然后利用各自的第一抗体(如所述)和适当的第二抗体(根据需要抗-小鼠或抗-兔IgG-HRP缀合物)进行探针探测。标记“+”的泳道表示来自接受NAG-Bt的动物的样品，而标记“-”的泳道表示来自接受单独载体的动物的样品。

[0049] 图3A-B显示了注射50mg/kg NAG-AE或单独注射载体(PBS)并在注射后不同时间处死的大鼠心脏组织蛋白质的Western印迹。通过SDS-PAGE分离来自利用NAG-AE处理指定时间长度的动物的等量匀浆心脏组织，然后利用抗-O-GlcNAc第一抗体和抗-IgM-小鼠IgG-HRP缀合物进行探测(A)。图3B显示了在图3A中加样并利用抗 $\beta$ -肌动蛋白mAb克隆AC-40随后用抗-小鼠IgG-HRP缀合物进行探测的样品的Western印迹。

[0050] 图4A-H显示了从P301L JNPL3小鼠(一种发生过磷酸化tau蛋白和NFT的转基因模型)收集的染色海马脑组织切片。E组是单独接受载体的野生型对照小鼠；A组是单独接受载体的转基因小鼠；B组是口服接受100mg/kg/天NAG-Bt 16周，然后口服接受1000mg/kg/天NAG-Bt 16周的转基因小鼠；D组是口服接受500mg/kg/天NAG-AE 16周的转基因小鼠；在处

死时所有小鼠均为42至44周龄。右侧图(图4E-H)显示利用抗-0GlcNAc抗体(蛋白质0-GlcNAc水平的标志物)染色的切片,左侧图(图A-D)显示利用抗-磷酸化tau-Ser404抗体(tau磷酸化水平和NFT形成的标志物)染色的切片。与未处理的转基因组(A组)相比较而言,接受NAG-Bt或NAG-AE(B组和D组)的动物显示蛋白质0-GlcNAc水平升高并且过磷酸化tau和NFT形成显著降低。为了对比目的而突出显示的每个图中的方框形区域指示转基因动物每个脑切片的相似区域。

[0051] 图5A-D显示了在4个月中测定的给Sprague-Dawley大鼠口服施用NAG-Bt(100mg/kg/天)对重量(A)、食物消耗(B)、水消耗(C)和血液葡萄糖水平(D)的长期作用。8只对照大鼠(正方形)对比8只给药大鼠(圆形)的数据被绘制在所有图上;未观察到显著性差异。

[0052] 图6是显示相对于对照大鼠的以100mg/kg/天口服给予NAG-Bt 8个月的大鼠的器官重量测量结果(脑、肝脏、胰腺、脾脏、心脏、脂肪、肌肉)的柱状图。以每组6只大鼠进行测量。未观察到显著性差异。

[0053] 图7A-G显示口服NAG-AE(200mg/kg/天,在饮用水中)处理或单独以载体处理(正常饮用水,0mg/kg/天)的大鼠脑组织中蛋白质的Western印迹,表明处理后脑tau磷酸化在多个位点处的降低,以及蛋白质0-GlcNAc水平的整体升高。通过SDS-PAGE分离来自利用或未利用NAG-AE处理的动物(每组3只动物)的等量匀浆化脑组织,然后利用各自的所述第一抗体和适当的第二抗体进行探测。图7A显示了利用Tau-5(不依赖于磷酸化的tau抗体)进行探测的样品的Western印迹,表明tau蛋白质加样量相等。图7B-D显示了利用特异性抗磷酸化tau抗体进行探测的样品的Western印迹;图7E显示了光密度测定的Western印迹结果。图7F显示了利用抗-0-GlcNAc第一抗体进行探测的这些动物的全脑裂解物的Western印迹,表明接受NAG-AE的动物脑中0-GlcNAc总体水平的升高。图7G显示了与图7F中样品相同的利用抗-β-肌动蛋白抗体进行探测的样品,表明样品加载量相等。

## 具体实施方式

[0054] 本发明部分地提供了能抑制0-糖蛋白2-乙酰氨基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖苷酶(0-GlcNAc酶)的新化合物。在一些实施方案中,所述0-GlcNAc酶是哺乳动物0-GlcNAc酶,例如大鼠、小鼠或人0-GlcNAc酶。在一些实施方案中,所述β-氨基己糖苷酶是哺乳动物β-氨基己糖苷酶,例如大鼠、小鼠或人β-氨基己糖苷酶。

[0055] 在一些实施方案中,根据本发明的化合物在抑制0-GlcNAc酶方面表现出令人惊讶和出乎意料的选择性。例如,与本文表3中所述化合物相比较而言,本发明化合物是0-GlcNAc酶的出乎意料地有效的抑制剂。在一些实施方案中,根据本发明的化合物出乎意料地对0-GlcNAc酶比对β-氨基己糖苷酶的选择性更强。在一些实施方案中,本发明化合物对哺乳动物0-GlcNAc酶活性比对哺乳动物β-氨基己糖苷酶活性的选择性抑制作用强。在一些实施方案中,0-GlcNAc酶的选择性抑制剂基本上不抑制β-氨基己糖苷酶。“选择性”抑制0-GlcNAc酶的化合物是抑制0-GlcNAc酶的活性或生物功能但是基本上不抑制β-氨基己糖苷酶的活性或生物功能的化合物。例如,在一些实施方案中,0-GlcNAc酶的选择性抑制剂选择性抑制2-乙酰氨基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖苷(0-GlcNAc)从多肽上切割下来。在一些实施方案中,0-GlcNAc酶的选择性抑制剂选择性结合0-GlcNAc酶。在一些实施方案中,0-GlcNAc酶的选择性抑制剂抑制tau蛋白过度磷酸化和/或抑制NFT形成。“抑制”意指降低10%至

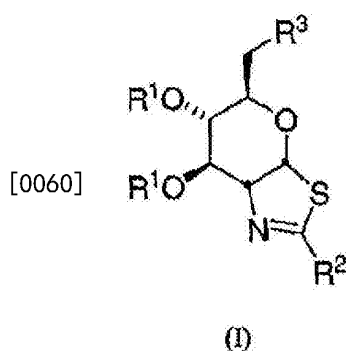
90%之间的任何值,或降低30%至60%之间的任何整数值,或降低100%以上,或降低1倍、2倍、5倍、10倍或更多倍数。应当理解所述抑制不需要全部抑制,在一些实施方案中,0-GlcNAc酶的选择性抑制剂升高或提增加细胞、组织或器官(例如脑、肌肉或心脏(心肌)组织)和动物中0-GlcNAc水平,例如0-GlcNAc修饰的多肽或蛋白质水平。“升高”或“增加”意指增加10%至90%之间的任何值,或增加30%至60%之间的任何整数值,或增加100%以上,或增加1倍、2倍、5倍、10倍、15倍、25倍、50倍、100倍或更多倍数。在一些实施方案中,0-GlcNAc酶的选择性抑制剂表现出本文所述范围为100至100000内、或范围为1000至100000内、或至少100、200、500、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000、6000、7000、10,000、25,000、50,000、75,000的选择比,或上述范围内或大约上述范围的任何值的选择比。

[0056] 本发明化合物通过与0-GlcNAc酶的相互作用而特异性地升高体内0-GlcNAc修饰的多肽或蛋白质上的0-GlcNAc水平,并可有效用于治疗需要或响应抑制0-GlcNAc酶活性的病症。

[0057] 在一些实施方案中,本发明化合物可用作导致tau磷酸化和NFT形成被降低的药剂。在一些实施方案中,所述化合物因此可用来治疗阿尔海默茨病及其相关的tau病。在一些实施方案中,所述化合物因此能通过降低tau磷酸化和减少NFT形成(作为tau 0-GlcNAc水平升高的结果)来治疗阿尔海默茨病及其相关的tau病。在一些实施方案中,所述化合物产生0-GlcNAc修饰多肽或蛋白质上的0-GlcNAc修饰水平的升高,并因此可用于治疗响应于该0-GlcNAc修饰升高的病症;这些病症包括但不限于神经退行性疾病、炎性疾病、心血管疾病和免疫调节疾病。在一些实施方案中,所述化合物还可用作与其抑制糖苷酶活性的能力相关的其它生物活性的结果。在一些替代性实施方案中,本发明化合物是研究细胞和机体水平上0-GlcNAc生理作用的有价值工具。

[0058] 在一些替代性实施方案中,本发明提供了升高或提高动物对象(例如兽医对象和人对象)中蛋白质0-GlcNAc修饰水平的方法。在一些替代性实施方案中,本发明提供了选择性抑制动物对象(例如兽医对象和人对象)中0-GlcNAc酶的方法。在一些替代性实施方案中,本发明提供了抑制动物对象(例如兽医对象和人对象)中tau多肽磷酸化或抑制NFT形成的方法。

[0059] 在一些特定的实施方案中,本发明提供了式(I)所一般性描述的化合物及其盐、前药和立体异构形式:



[0061] 如式(I)中所示:每个R¹各自可以独立地是无干扰取代基;R²可以是烷基、芳基、杂芳基、OR⁴、NR⁴₂或NR⁴OR⁴,其各自可任选地被无干扰取代基取代;每个R⁴各自独立地可以是无

干扰取代基; $R^3$ 可以是 $OR^4$ 、 $N_3$ 或 $NR^4_2$ ;其中每个 $R^4$ 各自独立地可以是无干扰取代基。在一些实施方案中,每个 $R^1$ 各自可相连而形成另外的环结构。在一些替代性的实施方案中,当 $R^3$ 是 $OR^4$ 时,所述 $OR^4$ 基团可以与任何一个 $R^1$ 相连而形成另外外的环结构。

[0062] 在上述式(I)中,每个任选地取代的部分各自可被一个或多个无干扰取代基取代。例如,每个任选被取代的部分各自可被一个或多个以下取代基所取代:无机取代基;磷酰基;卤素; $=O$ ;  $=NR^5$ ;  $OR$ ; 任选地含有一个或多个P、N、O或S以及任选被卤素取代的 $C_{1-10}$ 烷基或 $C_{2-10}$ 烯基;  $CN$ ; 任选被取代的羰基;  $NR^5_2$ ;  $C=NR^5$ ; 任选取代的碳环或杂环; 或任选取代的芳基或杂芳基。 $R^5$ 可以是烷基、支链烷基、环烷基、芳基或杂芳基。

[0063] 在一些实施方案中,如式(I)所示的 $R^1$ 可以是氢或包含1至20个氢以外原子的取代基。在一些实施方案中, $R^1$ 可以是H、烷基或 $C(O)R^5$ ,其中 $R^5$ 可以是烷基、支链烷基、环烷基、芳基或杂芳基。在一些实施方案中, $R^1$ 可以是H或 $C(O)CH_3$ 。

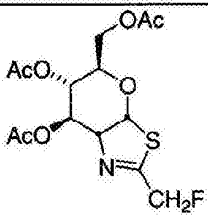
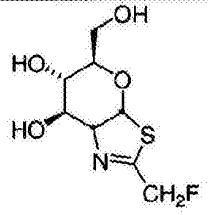
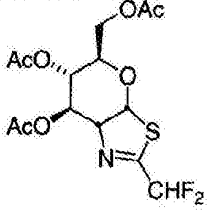
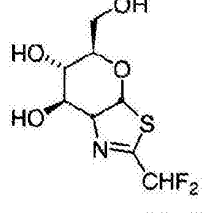
[0064] 在一些实施方案中,如式(I)所示的 $R^2$ 可以是任选取代的烷基、 $OR$ 、 $NR_2$ 或 $NR^6OR^6$ ,其中 $R^6$ 可以是H、烷基、支链烷基、环烷基、芳基或杂芳基。在一些实施方案中, $R^2$ 可以是 $CH_2F$ 、 $CHF_2$ 、 $CF_3$ 、 $(CH_2)_2CH=CH_2$ 、 $(CH_2)_2CH=CHCH_3$ 、 $CH_2OCH_3$ 、 $(CH_2)_2CF_3$ 、环丙基甲基、苯基、苄基、 $NH_2$ 、 $NHCH_3$ 、 $NHCH_2CH_3$ 、 $NH(CH_2)_2CH_3$ 、 $NH(CH_2)_3CH_3$ 、 $NHCH_2CH=CH_2$ 、 $NH$ 环丙基、 $NHCH_2CH_2F$ 、 $NHCH_2CHF_2$ 、 $NHCH_2CF_3$ 、 $NHCH_2CH_2OH$ 、 $NHCH_2CH_2OC(O)CH_3$ 、 $N(CH_3)_2$ 、 $N(CH_3)(CH_2CH_3)$ 、 $NHOCH_3$ 、 $OCH_3$ 或 $(CH_2)_2CH_3$ 。

[0065] 在一些实施方案中,如式(I)所示的 $R^3$ 可以是 $OR$ 、 $N_3$ 或 $NR^7_2$ ,其中 $R^7$ 可以是H、烷基、支链烷基、环烷基、芳基或杂芳基。在一些实施方案中, $R^3$ 可以是 $OH$ 、 $OC(O)CH_3$ 、 $N_3$ 或 $NH_2$ 。

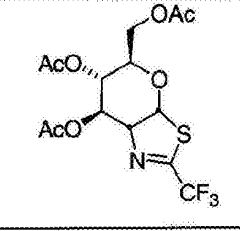
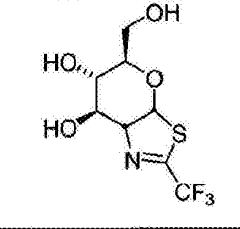
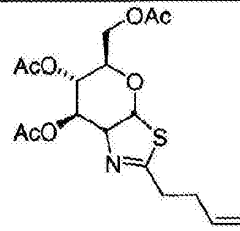
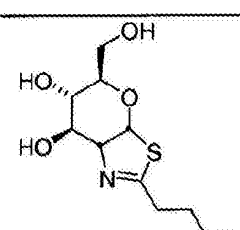
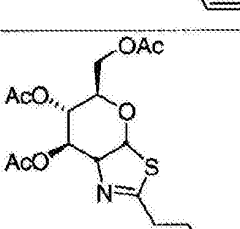
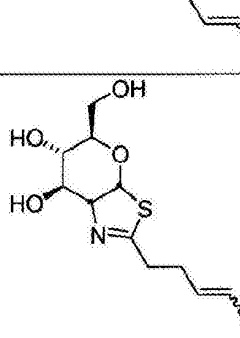
[0066] 在本发明的一些特定实施方案中,根据式(I)的化合物包括表1中所述化合物中的一种或多种。

[0067] 表1

[0068]

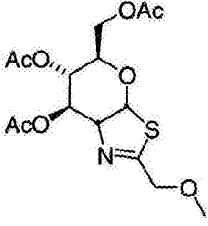
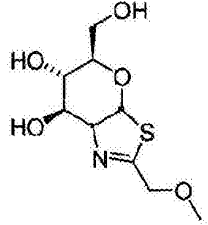
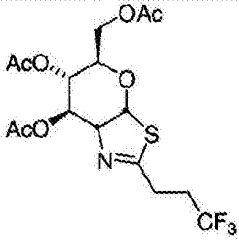
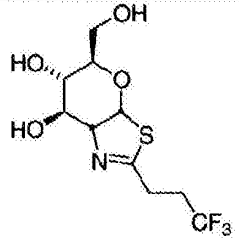
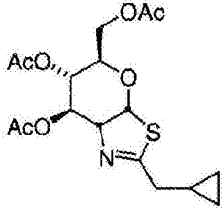
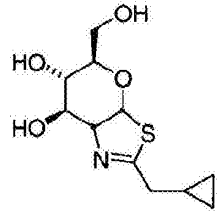
化合物	名称	结构
1	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(氟甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
2	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(氟甲基)-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
3	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(二氟甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
4	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(二氟甲基)-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	

[0069]

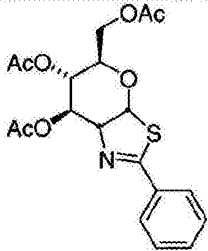
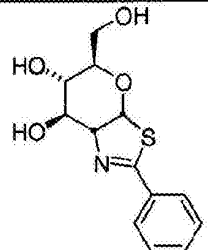
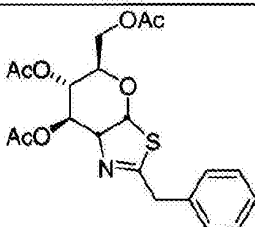
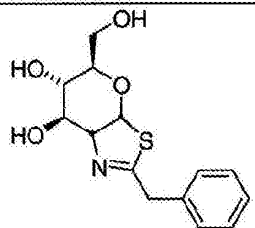
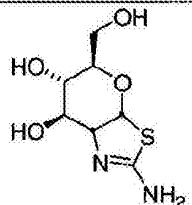
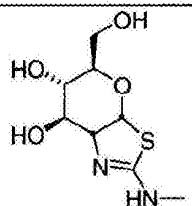
5	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(三氟甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
6	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-(三氟甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
7	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(丁-3-烯基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
8	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(丁-3-烯基)-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
9	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(E, Z)-(戊-3-烯基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
10	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-(E, Z)-(戊-3-烯基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	



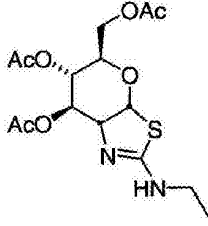
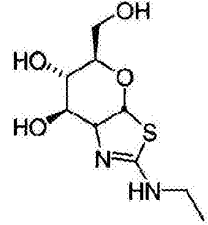
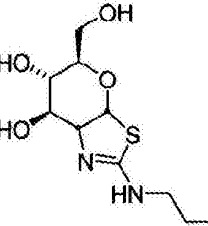
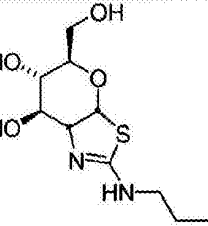
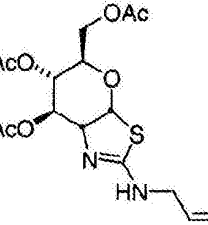
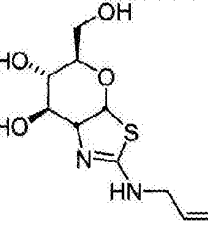
[0070]

11	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(甲氧基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
12	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-(甲氧基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
13	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(3, 3, 3-三氟丙基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
14	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-(3, 3, 3-三氟丙基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
15	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(环丙基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
16	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(环丙基甲基)-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	

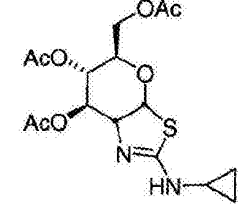
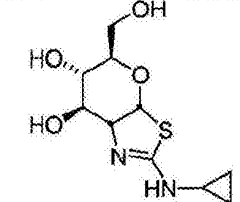
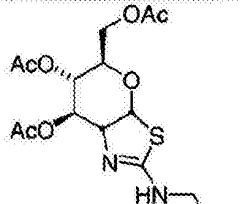
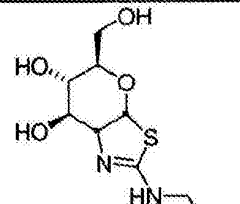
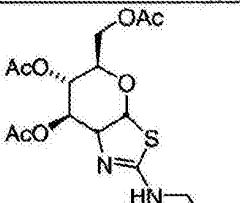
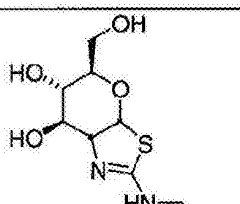
[0071]

17	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-苯基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
18	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-苯基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
19	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-苄基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
20	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-苄基-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
21	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-氨基-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
23	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-(甲基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	

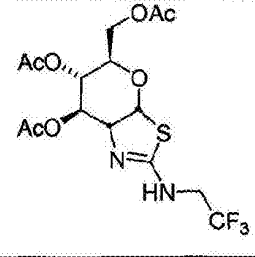
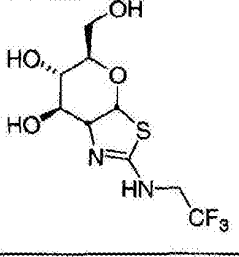
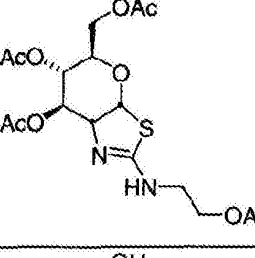
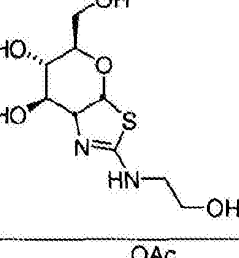
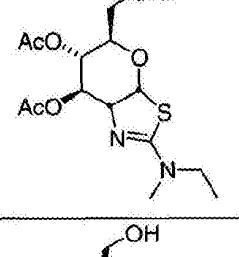
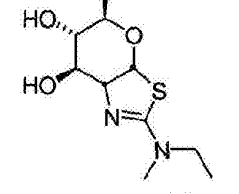
[0072]

24	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(乙基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
25	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(乙基氨基)-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
27	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-(丙基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
29	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(丁基氨基)-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
30	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(烯丙基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
31	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(烯丙基氨基)-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	

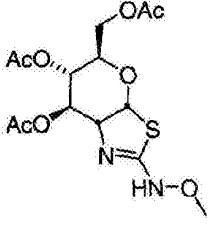
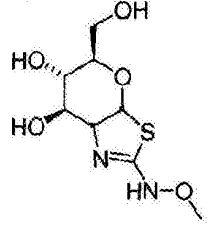
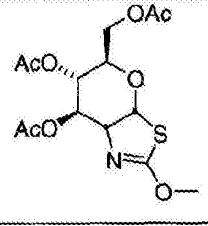
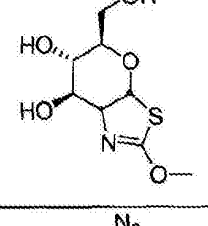
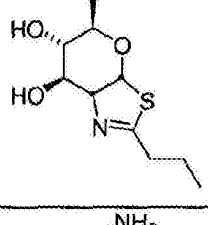
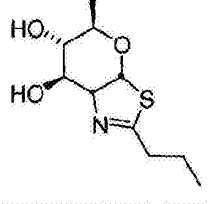
[0073]

32	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(环丙基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
33	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(环丙基氨基)-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
34	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(2-氟乙基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
35	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(2-氟乙基氨基)-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
36	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(2, 2-二氟乙基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
37	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(2, 2-二氟乙基氨基)-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	

[0074]

38	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(2, 2, 2-三氟乙基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
39	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-(2, 2, 2-三氟乙基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
40	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(2-乙酰氧基乙基氨基)-5-(乙酰氧基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
41	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(2-羟基乙基氨基)-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
44	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(乙基(甲基)氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
45	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(乙基(甲基)氨基)-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	

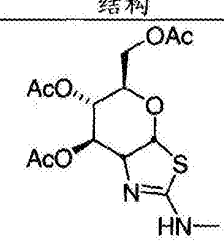
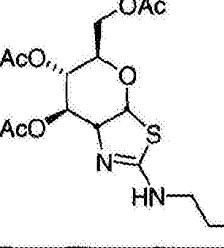
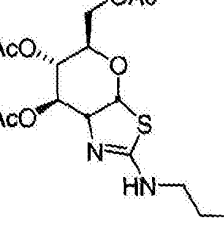
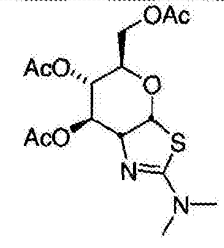
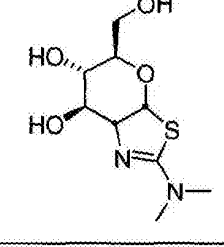
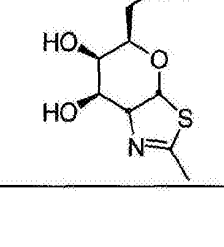
[0075]

46	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(甲氧基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
47	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-(甲氧基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
48	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-甲氧基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
49	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-甲氧基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
50	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(叠氮基甲基)-2-丙基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
51	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(氨基甲基)-2-丙基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	

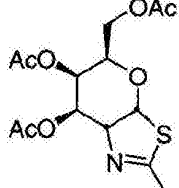
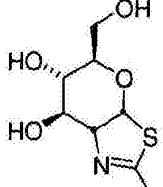
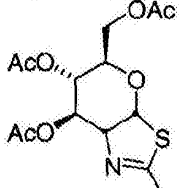
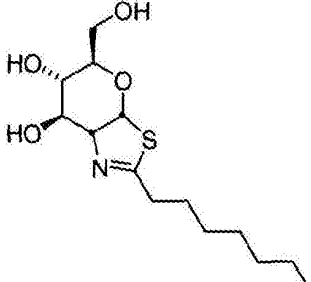
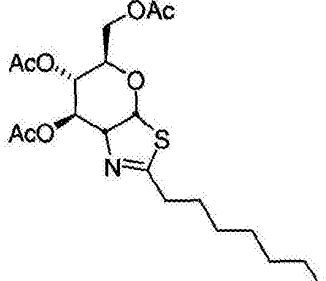
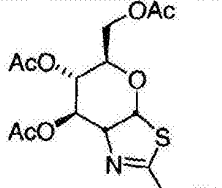
[0076] 在本发明的一些替代性实施方案中,根据式(I)的化合物包括表2中所述化合物的一种或多种。

[0077] 表2

[0078]

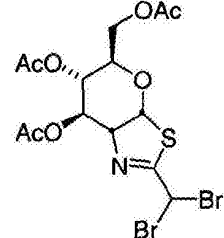
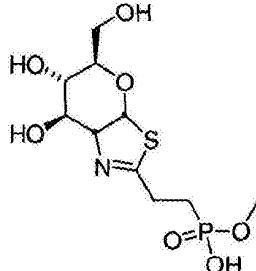
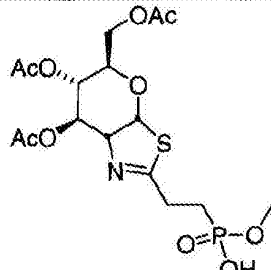
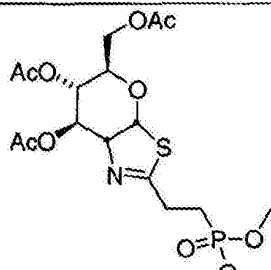
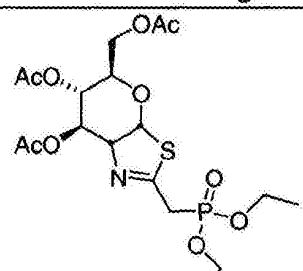
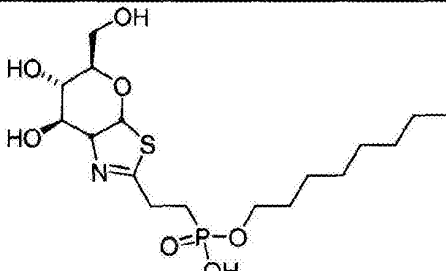
化合物	名称	结构
22	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2- (甲基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢 -3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑 -6, 7-二基酯	
26	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2- (丙基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢 -3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑 -6, 7-二基酯	
28	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2- (丁基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢 -3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑 -6, 7-二基酯	
42	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2- (二甲基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢 -3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑 -6, 7-二基酯	
43	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2- (二甲基氨基)-5-(羟基甲基) -5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并 [3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
52	(3aR, 5R, 6R, 7R, 7aR)-5- (羟基甲基)-2-甲基-5, 6, 7, 7a- 四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d] 噻唑-6, 7-二醇	

[0079]

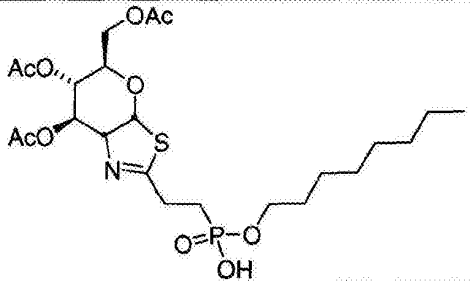
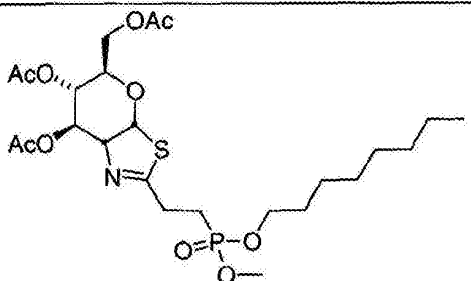
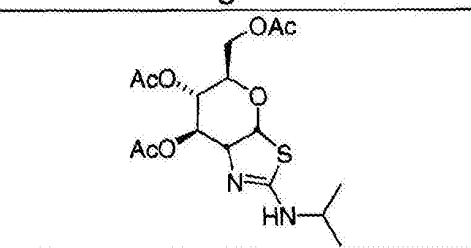
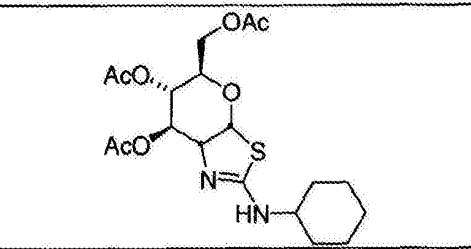
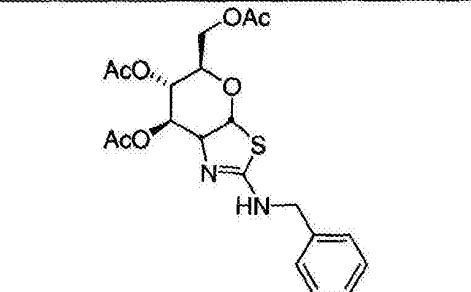
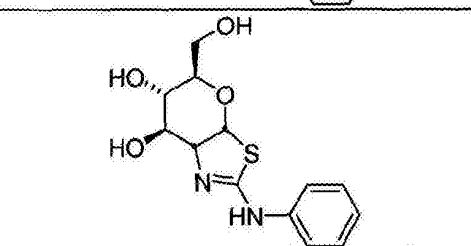
53	二乙酸 (3aR, 5R, 6R, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-甲基 -5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并 [3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
54	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5- (羟基甲基)-2-甲基-5, 6, 7, 7a- 四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d] 噻唑-6, 7-二醇	
55	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-甲基 -5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并 [3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
56	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-庚基 -5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a- 四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d] 噻唑-6, 7-二醇	
57	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-庚基 -5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并 [3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
58	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2- (溴甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢 -3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑 -6, 7-二基酯	



[0080]

59	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-( (二溴甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢 -3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑 -6, 7-二基酯	
60	2-(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-6, 7- -二羟基-5-(羟基甲基)- 5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并 [3, 2-d]噻唑-2-基) 乙基磷酸氢甲酯	
61	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-( (2-(羟基(甲氧基)磷酰基) 乙基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH- 吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7- 二基酯	
62	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(2-( (二甲氧基磷酰基)乙基)- 5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并 [3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
63	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-( (二乙氧基磷酰基)甲基) -5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并 [3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
64	2-(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-6, 7- -二羟基-5-(羟基甲基)- -5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并 [3, 2-d]噻唑-2-基) 乙基磷酸氢辛酯	

[0081]

65	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(2- (羟基(辛氧基)磷酸基)乙基) -5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并 [3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
66	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(2- (甲氧基(辛氧基)磷酸基) 乙基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH- 吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7- 二基酯	
67	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2- (异丙基氨基)-5, 6, 7, 7a- 四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑 -6, 7-二基酯	
68	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2- (环己基氨基)-5, 6, 7, 7a- 四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d] 噻唑-6, 7-二基酯	
69	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2- (苄基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢 -3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑 -6, 7-二基酯	
70	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5- (羟基甲基)-2-(苄基氨基) -5, 6, 7, 7a-四氢-3aH- 吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	

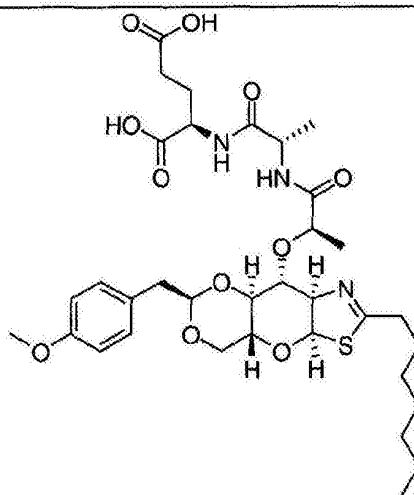
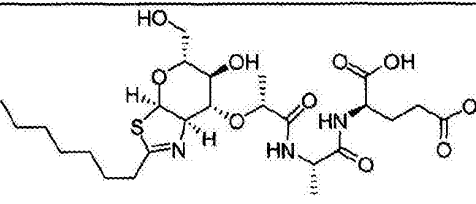
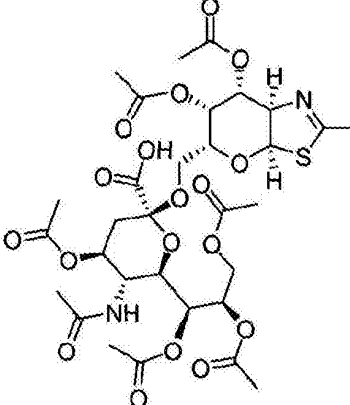
[0082]

71	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2- (苯基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢 -3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑 -6, 7-二基酯	
72	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5- (羟基甲基)-2-(4- 甲氧基苯基氨基)-5, 6, 7, 7a- 四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d] 噻唑-6, 7-二醇	
73	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(4- 甲氧基苯基氨基)-5, 6, 7, 7a- 四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d] 噻唑-6, 7-二基酯	
74	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(N- 苯基乙酰氨基)-5, 6, 7, 7a- 四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d] 噻唑-6, 7-二基酯	
75	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(N- (4-甲氧基苯基)乙酰氨基) -5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并 [3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
76	((3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-6, 7- 二羟基-2-甲基-5, 6, 7, 7a- 四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d] 噻唑-5-基) 甲基硫酸氢酯	

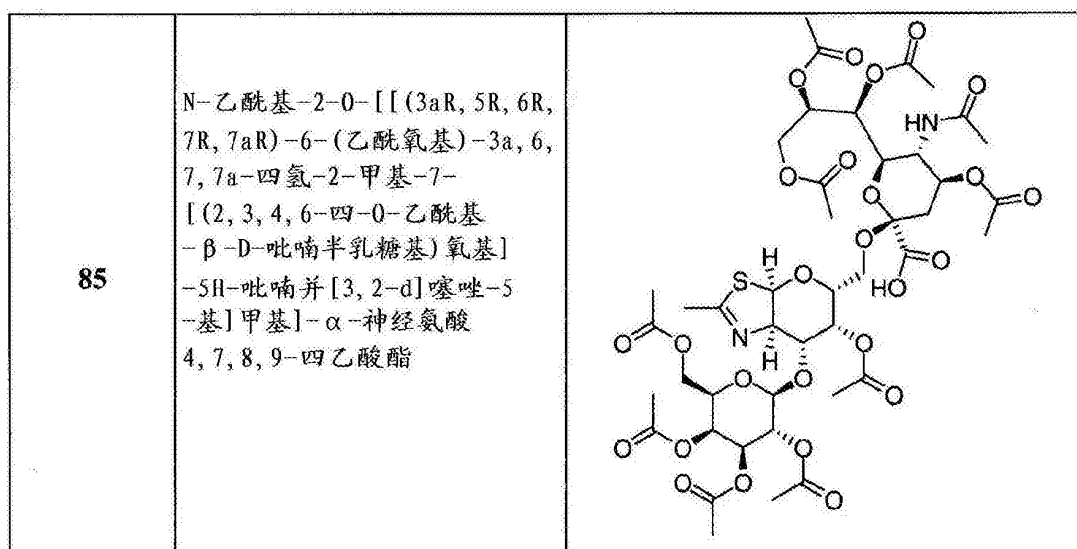
[0083]

77	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-6, 7-双(苄氧基)-5-(苄氧基甲基)-2-甲基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑	
78	(2R)-2-[[ (3aR, 4aR, 7R, 8aS, 9R, 9aR)-3a, 4a, 5, 8a, 9, 9a-六氢-7-[(4-甲氧基苯基)甲基]-2-甲基[1, 3]二噁英并[4', 5': 5, 6]吡喃并[3, 2-d]噻唑-9-基]氧基]-丙酸	
79	N-[(2R)-2-[[ (3aR, 4aR, 7R, 8aS, 9R, 9aR)-3a, 4a, 5, 8a, 9, 9a-六氢-7-[(4-甲氧基苯基)甲基]-2-甲基[1, 3]二噁英并[4', 5': 5, 6]吡喃并[3, 2-d]噻唑-9-基]氧基]-1-氧代丙基]-L-丙氨酰-D-谷氨酸	
80	N-[(2R)-1-氧代-2-[[ (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-3a, 6, 7, 7a-四氢-6-羟基-5-(羟甲基)-2-甲基-5H-吡喃并[3, 2-d]噻唑-7-基]氧基]丙基]-L-丙氨酰-D-谷氨酸	
81	(2R)-2-[[ (3aR, 4aR, 7R, 8aS, 9R, 9aR)-2-庚基-3a, 4a, 5, 8a, 9, 9a-六氢-7-[(4-甲氧基苯基)甲基][1, 3]二噁英并[4', 5': 5, 6]吡喃并[3, 2-d]噻唑-9-基]氧基]-丙酸	

[0084]

82	<p>N-[(2R)-2-[[ (3aR, 4aR, 7R, 8aS, 9R, 9aR)-2-庚基-3a, 4a, 5, 8a, 9, 9a-六氢-7-[(4-甲氧基苯基)甲基][1, 3]二噁英并[4', 5': 5, 6]吡喃并[3, 2-d]噻唑-9-基]氧基]-1-氧代丙基]-L-丙氨酰-D-谷氨酸</p>	
83	<p>N-[(2R)-2-[[ (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-庚基-3a, 6, 7, 7a-四氢-6-羟基-5-(羟甲基)-5H-吡喃并[3, 2-d]噻唑-7-基]氧基]-1-氧代丙基]-L-丙氨酰-D-谷氨酸</p>	
84	<p>N-乙酰基-2-O-[[ (3aR, 5R, 6R, 7R, 7aR)-6, 7-双(乙酰氧基)-3a, 6, 7, 7a-四氢-2-甲基-5H-吡喃并[3, 2-d]噻唑-5-基]甲基]-α-神经氨酸4, 7, 8, 9-四乙酸酯</p>	

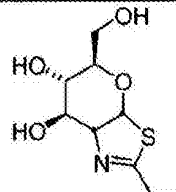
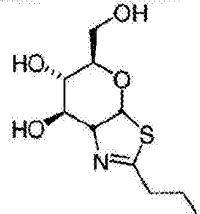
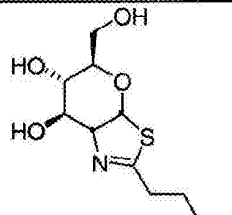
[0085]



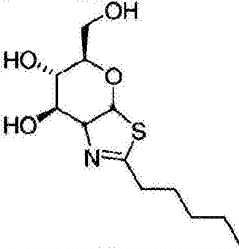
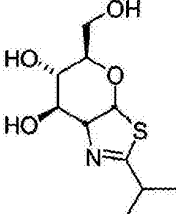
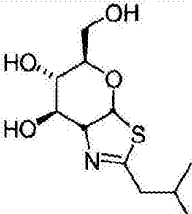
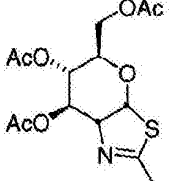
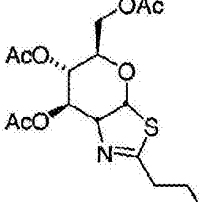
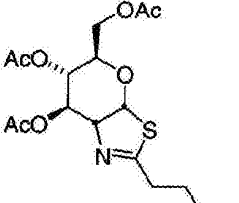
[0086] 在本发明的一些替代性实施方案中,根据式(I)的化合物包括表3中所述化合物中的一种或多种。

[0087] 表3

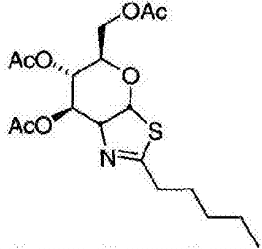
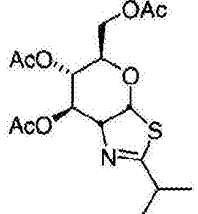
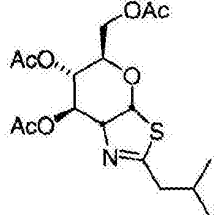
[0088]

化合物	名称	结构
<b>86</b>	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-乙基-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
<b>87</b>	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-丙基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
<b>88</b>	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-丁基-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	

[0089]

89	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-戊基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
90	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-异丙基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
91	(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-异丁基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇	
92	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-乙基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
93	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-丙基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
94	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-丁基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	

[0090]

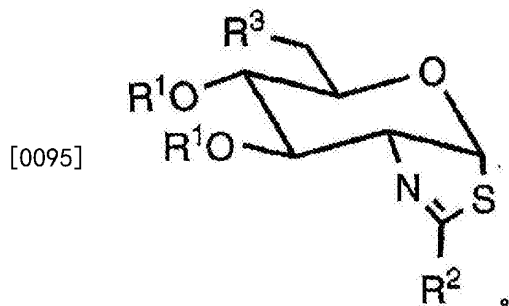
95	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-戊基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
96	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-异丙基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	
97	二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-异丁基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯	

[0091] 在本发明的一些替代性实施方案中,表1、2或3中所述化合物中的一种或多种被具体排除在式(I)所述化合物之外。在本发明的一些替代性实施方案中,表1、2或3中所述化合物中的一种或多种的特定立体异构体或对映体被具体排除在式(I)所述化合物之外。在本发明的一些替代性实施方案中,表1、2或3中所述化合物中的一种或多种的特定前体尤其排除在式(I)所述化合物之外。

[0092] 在一些实施方案中,当每个 $R^1$ 各自是H且 $R^3$ 是OH时, $R^2$ 不是 $CH_3$ 、 $CH_2CH_3$ 、 $(CH_2)_2CH_3$ 、 $(CH_2)_3CH_3$ 、 $(CH_2)_4CH_3$ 、 $(CH_2)_6CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $NH$ (苯基)、 $NH$ (4-甲氧基苯基)、 $N(CH_3)_2$ 、 $(CH_2)_2P(O)(OH)(OCH_3)$ 或 $(CH_2)_2P(O)(OH)(O(CH_2)_7CH_3)$ 。

[0093] 在一些替代性实施方案中,当每个 $R^1$ 各自是 $COCH_3$ 且 $R^3$ 是 $OC(O)CH_3$ 时, $R^2$ 不包括 $CH_3$ 、 $CH_2CH_3$ 、 $(CH_2)_2CH_3$ 、 $(CH_2)_3CH_3$ 、 $(CH_2)_4CH_3$ 、 $(CH_2)_6CH_3$ 、 $CH(CH_3)_2$ 、 $CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $NH$ (苯基)、 $NH$ (4-甲氧基苯基)、 $N(CH_3)_2$ 、 $(CH_2)_2P(O)(OH)(OCH_3)$ 以及 $(CH_2)_2P(O)(OH)(O(CH_2)_7CH_3)$ 、 $NHCH_3$ 、 $NH(CH_2)_2CH_3$ 、 $NHCH(CH_3)_2$ 、 $NH(CH_2)_3CH_3$ 、 $NH$ (环己基)、 $NH$ (苄基)、 $CH_2Br$ 、 $CHBr_2$ 、 $CH_2P(O)(OCH_2CH_3)_2$ 、 $(CH_2)_2P(O)(OCH_3)(O(CH_2)_7CH_3)$ 、 $(CH_2)_2P(O)(OCH_3)_2$ 、 $(CH_2)_2P(O)(OCH_3)_2$ 、 $N(COCH_3)$ (苯基)以及 $N(COCH_3)$ (4-甲氧基苯基)。

[0094] 本领域技术人员应当理解,上述式(I)还可以替代性地表示为下式:





[0096] 除非上下文中清楚地另外指明,本文所用的单数形式“一种”和“一个”包括复数形式。例如,“一种化合物”指这样的化合物中的一种或多种,而“所述酶”包括特定的酶和其它家族成员以及本领域技术人员公知的其等价物。

[0097] 在通篇本申请中,可以想到术语“化合物”指本文所述的化合物并且包括所述化合物的前体和衍生物(包括酰基保护的衍生物)和所述化合物的药学上可接受的盐、前体和衍生物。本发明还包括所述化合物的前药、含有所述化合物和药学上可接受载体的药物组合物、以及含有所述化合物前药和药学上可接受载体的药物组合物。

[0098] 在一些实施方案中,本发明的所有化合物均包含至少一个手性中心。在一些实施方案中,含有本发明化合物的制剂、制备物和组合物包括立体异构体混合物、单一立体异构体以及对映体混合物和多种立体异构体的混合物。一般而言,所述化合物可以任何期望程度的手性纯度提供。

[0099] 一般而言,“无干扰取代基”是其存在不会破坏式(I)化合物调节O-GlcNAc酶活性之能力的取代基。具体而言,取代基的存在不会破坏化合物作为O-GlcNAc酶活性调节剂的有效性。

[0100] 合适的无干扰取代基包括:H、烷基(C<sub>1-10</sub>)、烯基(C<sub>2-10</sub>)、炔基(C<sub>2-10</sub>)、芳基(5至12元)、芳基烷基、芳基烯基或芳基炔基,其各自可任选地包含选自O、S、P和N中的一个或多个杂原子,并且各自可进一步被例如=O取代;或任选地被酰基、芳基酰基、烷基-烯基-、炔基-或芳基磺酰基的形式所取代或者被其烷基、烯基、炔基或芳基部分中含有杂原子的形式取代。其它无干扰取代基包括=O、=NR、卤素、CN、CF<sub>3</sub>、CHF<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、OR、SR、NR<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、COOR和CONR<sub>2</sub>,其中R是H或烷基、环烷基、烯基、炔基、芳基或杂芳基。当所述取代的原子是C时,除了以上所列举的取代基以外,所述取代基还可包括卤素、OOCR、NROCR,其中R是H或上述取代基。

[0101] “烷基”指仅由碳原子和氢原子组成、不含有不饱和并且包含例如1至10个碳原子以及通过单键与分子的剩余部分相连接的直链或支链烃链基团。除非说明书中另外具体指明,所述烷基可任选地被本文所述的一个或多个取代基取代。除非本文另外具体指明,应当理解所述取代可发生在所述烷基的任何碳上。

[0102] “烯基”指仅由碳原子和氢原子组成、含有至少一个双键并且包含例如2至10个碳原子以及通过单键或双键与分子的剩余部分相连接的直链或支链烃链基团。除非说明书中另外具体指明,所述烯基可任选地被本文所述的一个或多个取代基取代。除非本文另外具体指明,应当理解所述取代可发生在所述烯基的任何碳上。

[0103] “炔基”指仅由碳原子和氢原子组成、含有至少一个叁键并且包含例如2至10个碳原子的直链或支链烃链基团。除非说明书中另外具体指明,所述炔基可任选地被本文所述的一个或多个取代基取代。

[0104] “芳基”指包含例如5至12个成员的苯基或萘基。除非说明书中另外具体指明,术语“芳基”意在包含任选地被本文所述的一个或多个取代基取代的芳基。

[0105] “芳基烷基”指式-R<sub>a</sub>R<sub>b</sub>的基团,其中R<sub>a</sub>是本文所述的烷基,R<sub>b</sub>是本文所述的一个或多个芳基部分。所述芳基可如本文所述任选地被取代。

[0106] “芳基烯基”指式-R<sub>c</sub>R<sub>b</sub>的基团,其中R<sub>c</sub>是本文所述的烯基部分,R<sub>b</sub>是本文所述的一个或多个芳基。所述芳基和烯基可如本文所述任选地被取代。

[0107] “酰基”指式-C(O)R<sub>a</sub>的基团,其中R<sub>a</sub>是本文所述的烷基。所述芳基可如本文所述任

选地被取代。

[0108] “芳基酰基”指式-C(O)R<sub>b</sub>的基团,其中R<sub>b</sub>是本文所述的芳基。所述芳基可如本文所述任选地被取代。

[0109] “环烷基”指仅由碳原子和氢原子组成、具有例如3至15个碳原子、饱和的以及通过单键与分子的剩余部分相连接的稳定的一价单环、二环或三环烷基。除非本文另外具体指明,术语“环烷基”意在包括如本文所述任选被取代的环烷基。

[0110] “环结构”意指环烷基、芳基、杂芳基或可任选地被取代的任何环结构。

[0111] “任选”或“任选地”意指随后所述的事件或情形可发生或可不发生,并且所述描述包括所述事件或情形发生的情况和所述事件或情形不发生的情况。例如,“任选取代的烷基”意指所述烷基可被取代或可不被取代以及所述描述包括取代的烷基和未取代的烷基。任选取代的烷基的实例包括但不限于甲基、乙基、丙基等,以及包括环烷基如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基等;任选取代的烯基的实例包括烯丙基、巴豆基、2-戊烯基、3-己烯基、2-环戊烯基、2-环己烯基、2-环戊烯基甲基、2-环己烯基甲基等。在一些实施方案中,任选取代的烷基和烯基包括C<sub>1-6</sub>烷基或烯基。

[0112] “卤素”指溴、氯、氟、碘等。在一些实施方案中,合适的卤素包括氟或氯。

[0113] 氨基还可被下述基团取代一次或两次(以形成仲胺或叔胺):例如任选取代的烷基,包括C<sub>1-10</sub>烷基(例如甲基、乙基、丙基等);任选取代的烯基,例如烯丙基、巴豆基、2-戊烯基、3-己烯基等;或任选取代的环烷基,例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基等。在这些情形下,C<sub>1-6</sub>烷基、烯基和环烷基是优选的。所述胺基还可任选地被芳香基或杂环基、芳烷基(例如苯基C<sub>1-4</sub>烷基)或杂烷基取代,例如苯基、吡啶、苯基甲基(苄基)、苯乙基、吡啶基甲基、吡啶基乙基等。所述杂环基可以是含有1至4个杂原子的5元或6元环。

[0114] 氨基可以被任选取代的C<sub>2-4</sub>烷酰基取代,例如乙酰基、丙酰基、丁酰基、异丁酰基等;或被C<sub>1-4</sub>烷基磺酰基(例如甲磺酰基、乙磺酰基等)或羰基或磺酰基取代的芳香环或杂环所取代,例如苯磺酰基、苯甲酰基、吡啶磺酰基、吡啶羰基等。所述杂环如本文中所述。

[0115] 任选取代的羰基或磺酰基的实例包括由本文所述的各种烃基形成的这些基团的任选取代的形式,所述烃基例如烷基、烯基和5元至6元单环芳香基(例如苯基、吡啶基等)。

[0116] 治疗适应症

[0117] 本发明提供了治疗直接或间接由O-GlcNAc酶或由O-GlcNAc修饰蛋白质的水平调节的病症(例如通过抑制O-GlcNAc酶或通过升高O-GlcNAc修饰蛋白质的水平而受益的病症)的方法。这些病症包括但不限于tau病,例如阿尔茨海默病、神经退行性疾病、心血管疾病、与炎症相关的疾病、与免疫抑制相关的疾病和癌症。本发明化合物还可用于治疗与O-GlcNAc酶缺乏或过度表达或O-GlcNAc积聚或耗竭相关的疾病或病症,或治疗任何响应于糖苷酶抑制治疗的疾病或病症。这些疾病和病症包括但不限于神经退行性病症,例如阿尔茨海默病(AD)和癌症。这些疾病和病症还可包括与所述OGT酶累积或不足相关的疾病或病症。本发明还包括保护或治疗表达被O-GlcNAc残基修饰之蛋白质的靶细胞,所述修饰的调节异常导致了疾病或病状。本文所用的术语“治疗”包括治疗、预防和改善。

[0118] 在一些替代性实施方案中,本发明提供了升高或提高动物对象(例如兽医对象和人对象)中蛋白质O-GlcNAc修饰水平的方法。该O-GlcNAc水平的升高可用于预防或治疗阿尔茨海默病;预防或治疗其它神经退行性疾病(例如帕金森病、亨廷顿舞蹈病);提供神经保

护作用;预防对心脏组织造成损伤;以及治疗与炎症或免疫抑制相关的疾病。

[0119] 在一些替代性实施方案中,本发明提供了选择性抑制动物对象(例如兽医对象和人对象)中O-GlcNAc酶的方法。

[0120] 在一些替代性实施方案中,本发明提供了在动物对象(例如兽医对象和人对象)中抑制tau多肽磷酸化或抑制NFT形成的方法。因此,本发明化合物可用于研究和治疗AD和其它tau病。

[0121] 一般而言,本发明的方法是通过向有此需要的对象施用本发明化合物或使细胞或样品与本发明化合物(例如含有治疗有效量的式(I)化合物的药物组合物)相接触来实施的。更具体而言,它们可用于治疗其中涉及O-GlcNAc蛋白修饰调节的病症或本文所述的任何病症。目标疾病状态包括阿尔茨海默病(AD)和相关的神经退行性疾病,其中微管相关蛋白tau的异常磷酸化参与了疾病生。在一些实施方案中,所述化合物可用于通过维持tau上升高的O-GlcNAc水平来阻滞tau的过度磷酸化,从而提供治疗益处。

[0122] 可用本发明化合物治疗的tau病包括:阿尔茨海默病、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、肌萎缩性侧索硬化症合并认知障碍(ALSci)、嗜银颗粒性痴呆、Bluit病、皮质基底节变性(CBD)、拳击员痴呆、弥散性神经纤维缠结伴钙化、唐氏综合征、家族性英国型痴呆、家族性丹麦型痴呆、与17号染色体连锁的额颞痴呆伴帕金森综合征(FTDP-17)、格-施-沙病、瓜德罗普岛帕金森病、哈-施病(1型脑内铁沉积性神经系统退化症)、多系统萎缩、强直性肌营养不良、尼-皮病(C型)、苍白球脑桥黑质变性、关岛型帕金森综合征痴呆复合征、皮克病(PiD)、脑炎后帕金森综合征(PEP)、朊病毒病(包括克-雅病(CJD)、变异型克-雅病(vCJD)、致死性家族性失眠症和库鲁病)、进行性皮层上神经胶质增生、进行性核上性麻痹(PSP)、Richardson综合征、亚急性硬化全脑炎和单纯缠结性痴呆。

[0123] 本发明化合物还可用于治疗与组织损伤或应激、刺激细胞或促进细胞分化相关的病症。因此,在一些实施方案中,本发明化合物可用于在多种涉及心脏组织应激的病症或医疗程序中提供治疗益处,包括但不限于:缺血、出血、低血容量性休克、心肌梗塞、介入性心脏病手术、心脏旁路手术、溶栓治疗、血管成形术和支架置入。

[0124] 选择性抑制O-GlcNAc酶活性的化合物可用于治疗与炎症相关的疾病,包括但不限于炎性疾病或变应性疾病,例如哮喘、超变应性鼻炎、超敏性肺病、超敏性肺炎、嗜酸性粒细胞肺炎、延迟型超敏反应、动脉硬化、间质性肺病(ILD)(例如特发性肺纤维化或与类风湿性关节炎相关的ILD、系统性红斑狼疮、强直性脊柱炎、系统性硬化症、舍格伦综合征、多发性肌炎或皮炎);全身变应性反应或超敏性反应、药物过敏、昆虫叮咬变态反应;自身免疫性疾病,例如类风湿性关节炎、银屑病性关节炎、多发性硬化、系统性红斑狼疮、重症肌无力、肾小球肾炎、自身免疫性甲状腺炎、移植排斥包括同种异体移植排斥或移植物抗宿主病;炎性肠病,例如克罗恩病和溃疡性结肠炎;脊柱关节病;硬皮病;银屑病(包括T细胞介导的银屑病)和炎性皮肤病例如皮炎、湿疹、异位性皮炎、变应性接触性皮炎、风疹;血管炎(例如坏死性血管炎、皮肤血管炎和超敏性血管炎)、嗜酸性粒细胞肌炎、嗜酸性粒细胞筋膜炎和癌症。

[0125] 此外,影响蛋白质O-GlcNAc修饰水平的化合物可用于治疗与免疫抑制相关的疾病,例如在进行以下治疗的个体中:化疗、放疗、增强的伤口愈合和灼伤治疗、自身免疫疾病的治疗或其它药物治疗(例如皮质类固醇治疗)或引起免疫抑制的用于治疗自身免疫疾病

和植入/移植排斥的常规药物的组合治疗,或者可用于治疗由于先天性缺乏受体功能或其它原因而引起的免疫抑制。

[0126] 本发明化合物可用于治疗神经退行性疾病,包括帕金森病和亨廷顿病。其它可治疗的病症是触发、影响或以任何其它方式与O-GlcNAc翻译后蛋白质修饰水平相关的疾病。预计本发明化合物可用于治疗这些病症,尤其是但不限于下述已经建立了与蛋白质上O-GlcNAc水平的关联性的那些:移植排斥,尤其是但不限于实体器官移植,例如心脏、肺、肝脏、肾脏和胰腺移植(例如肾脏和肺同种异体移植);癌症,尤其是但不限于乳腺癌、肺癌、前列腺癌、胰腺癌、结肠癌、直肠癌、膀胱癌、肾癌、卵巢癌;以及非何杰金淋巴瘤和黑素瘤;癫痫、疼痛或中风,例如中风后神经保护。

[0127] 药物组合物和兽医用组合、剂量和施用

[0128] 含有本发明化合物的药物组合物或用于本发明用途的药物组合物被认为包含在本发明的范围内。在某些实施方案中,提供了含有有效量的式(I)化合物的药物组合物。

[0129] 式(I)化合物及其药学上可接受的盐、立体异构体、溶剂化物和衍生物是有用的,因为它们在动物(包括人)中具有药理学活性。在一些实施方案中,当施用于对象时,根据本发明的化合物在血浆中是稳定的。

[0130] 在一些实施方案中,可以与任何其它活性剂或药物组合物相组合的形式提供本发明化合物或用于本发明用途的化合物,其中这些组合治疗可用于调节O-GlcNAc活性,例如以治疗神经退行性疾病、炎症疾病、心血管疾病或免疫调节疾病,或本文所述的任何病症。在一些实施方案中,可以与可用于预防或治疗阿尔茨海默病的一种或多种药剂相组合的形式提供本发明化合物或用于本发明用途的化合物。这些药剂的实例包括但不限于:

[0131] • 乙酰胆碱酯酶抑制剂(AChEI),例如**Aricept<sup>®</sup>**(多奈哌齐)、**Exelon<sup>®</sup>**(酒石酸卡巴拉汀)、**Razadyne<sup>®</sup>**(Razadyne**ER<sup>®</sup>**, **Reminyl<sup>®</sup>**, **Nivalin<sup>®</sup>**, 加兰他敏)、**Cognex<sup>®</sup>**(他克林)、Dimebon、石杉碱甲、苯基丝氨酸(Phenserine)、Debio-9902 SR(ZT-1 SR)、扎那哌齐(Zanapezil)(TAK0147)、更斯的明(ganstigmine)、NP7557等;

[0132] • NMDA受体拮抗剂,例如**Namenda<sup>®</sup>**(**Axura<sup>®</sup>**, **Akatinol<sup>®</sup>**, **Ebixa<sup>®</sup>**, Memantine)、Dimebon、SGS-742、Neramexane、Debio-9902 SR(ZT-1SR)等;

[0133] •  $\gamma$ -分泌酶抑制剂和/或调节剂,例如Flurizan<sup>™</sup>(Tarenflurbil, MPC-7869, R-氟比洛芬)、LY450139、MK 0752、E2101、BMS-289948、BMS-299897、BMS-433796、LY-411575等;

[0134] •  $\beta$ -分泌酶抑制剂,例如ATG-Z1等;

[0135] •  $\alpha$ -分泌酶活化剂,例如NGX267等;

[0136] •  $\beta$ -淀粉样蛋白聚集和/或纤维化抑制剂,例如Alzhemed<sup>™</sup>(3APS, Tramiprosate, 3-氨基-1-丙磺酸)、AL-108、AL-208、AZD-103、PBT2、Cereact、ONO-2506P0、PPI-558等;

[0137] • tau聚集抑制剂,例如亚甲基蓝等;

[0138] • 微管稳定剂,例如AL-108、AL-208、紫杉醇等;

[0139] • RAGE抑制剂,例如TTP488等;

[0140] • 5-HT<sub>1a</sub>受体拮抗剂,例如扎利罗登(Xaliproden)、Lecozotan等;

[0141] • 5-HT<sub>4</sub>受体拮抗剂,例如PRX-03410等;

[0142] • 激酶抑制剂,例如SRN-003-556、amfurindamide、LiCl、AZD1080、NP031112、SAR-

502250等;

[0143] • 人源化单克隆抗- $A\beta$ 抗体,例如Bapineuzumab (AAB-001)、LY2062430、RN1219、ACU-5A5等;

[0144] • 淀粉样蛋白疫苗,例如IAN-1792、ACC-001

[0145] • 神经保护剂,例如脑活素 (Cerebrolysin)、AL-108、AL-208、石杉碱甲等;

[0146] • L型钙通道拮抗剂,例如MEM-1003等;

[0147] • 烟碱受体拮抗剂,例如AZD3480、GTS-21等;

[0148] • 烟碱受体激动剂,例如MEM3454、奈非西坦等;

[0149] • 过氧化物酶体增殖因子活化受体 (PPAR)  $\gamma$ -激动剂,例如**Avandia<sup>®</sup>** (罗格列酮) 等;

[0150] • 磷酸二酯酶IV (PDE4) 抑制剂,例如MK-0952等;

[0151] • 激素替代治疗,例如雌激素 (倍美力 (Premarin)) 等;

[0152] • 单胺氧化酶 (MAO) 抑制剂,例如NS2330、雷沙吉兰 (**Azilect<sup>®</sup>**)、TVP-1012等;

[0153] • AMPA受体调节剂,例如安帕来斯 (Ampalex) (CX516) 等;

[0154] • 神经生长因子或NGF增强剂,例如CERE-110 (AAV-NGF)、T-588、T-817MA等;

[0155] • 防止垂体腺释放促黄体生成激素 (LH) 的药剂,例如亮丙瑞林 (VP-4896) 等;

[0156] • GABA受体调节剂,例如IAC-3933、NGD 97-1、CP-457920等;

[0157] • 苯二氮<sub>䜀</sub>受体反向激动剂 (inverse agonist),例如SB-737552 (S-8510)、AC-3933等;

[0158] • 去甲肾上腺素释放剂,例如T-588、T-817MA等。

[0159] 应当理解,本发明化合物或用于本发明用途的化合物与阿尔茨海默病药剂的组合并不限于本文所述的实例,还包括与可用于治疗阿尔茨海默病的任何药剂的组合。本发明化合物或用于本发明用途的化合物与其它阿尔茨海默病药剂的组合可单独或联合施用。一种药剂的施用可以在施用其它药剂之前、同时或之后进行。

[0160] 在一些替代性实施方案中,所述化合物可以在施用给对象之后释放所述化合物的“前药”或被保护形式而提供。例如,所述化合物可具有保护基,所述保护基在体液 (例如血流) 中通过水解而被切割掉从而释放活性化合物或者在体液中被氧化或还原以释放该化合物。因此,“前药”意指表示可在生理条件下或通过溶剂分解而转化成本发明生物活性化合物的化合物。因此,术语“前药”指药学上可接受的本发明化合物的可代谢前体。当施用给有此需要的对象时,前药可以是无活性的,但在体内转化成本发明的活性化合物。前药通常在体内 (例如,通过在血液中水解) 快速转化以产生本发明的母体化合物。所述前药化合物通常具有可溶解性、组织相容性或在对象中延迟释放的优点。

[0161] 术语“前药”还旨在包括当该前药施用给对象时在体内释放本发明活性化合物的任何共价键合的载体。本发明化合物的前药可通过以常规操作或在体内将所述修饰物切割成本发明母体化合物的方式修饰存在于本发明化合物中的官能团而制得。前药包括其中羟基、氨基或巯基与任何基团键合的本发明化合物,当本发明化合物的前药被施用给哺乳动物对象时其分别被切割而形成游离羟基、游离氨基或游离巯基。前药的实例包括但不限于本发明化合物中醇的乙酸酯、甲酸酯和苯甲酸酯衍生物以及胺基官能团的乙酰胺、甲酰胺

和苯甲酰胺衍生物等。

[0162] 有关前药的讨论可见于“Smith and Williams’ Introduction to the Principles of Drug Design”, H.J. Smith, Wright, Second Edition, London (1988); Bundgaard, 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; 或者 Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, 所有这些文献在此通过引用全文并入本文。

[0163] 本发明化合物的合适的前药形式包括其中 $R^1$ 是C(O)R和 $R^3$ 是OC(O)R(其中R是任选取代的烷基、烯基、炔基、芳基或杂芳基)的实施方案。在这些情形下,所述酯基可在体内(例如体液中)水解,释放出其中 $R^1$ 是H、 $R^3$ 是OH的活性化合物。本发明前药的优选实施方案是其中 $R^1$ 是C(O)CH<sub>3</sub>、 $R^3$ 是OC(O)CH<sub>3</sub>的式(I)化合物。

[0164] 本发明化合物或用于本发明用途的化合物可以在脂质体、辅剂或任何药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂的存在下以适于施用给对象(如哺乳动物,例如人、牛、绵羊等)的形式单独提供或与其它化合物相组合而提供。必要时,本发明化合物可与多种传统和现有的用于本文所述治疗适应症的疗法相组合进行治疗。可长期或间断地提供本发明的化合物。“长期”施用指以与急性方式相反的持续方式施用化合物,从而长期维持初始的治疗作用(活性)。“间断”施用表示不是无间断地连续性治疗,而实质上是周期性治疗。本文中所用的术语“施用”、“可施用的”应当理解为意指向需要治疗的对象提供本发明化合物。

[0165] “药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂”包括但不限于任何已被例如美国食品和药品管理局或其它政府机构批准为可用于人或家养动物使用的辅剂、载体、赋形剂、助流剂、甜味剂、稀释剂、防腐剂、染料/着色剂、风味增强剂(flavor enhancer)、表面活性剂、润湿剂、分散剂、混悬剂、稳定剂、等渗剂、溶剂或乳化剂。

[0166] 可以药学上可接受盐的形式施用本发明化合物。在这种情形下,本发明药物组合物可包含该化合物的盐(优选本领域公知的生理上可接受的盐)。在一些实施方案中,本文所用的术语“药学上可接受的盐”意指含有以其盐形式使用的式1化合物的活性成分,尤其是在所述盐形式与所述活性成分的游离形式或之前公开的其它盐形式相比较而言赋予了该活性成分改善的药物动力学性质的情形下。

[0167] “药学上可接受的盐为包括酸加成盐和碱加成盐。“药学上可接受的酸加成盐”指保留游离碱的生物有效性和性质(并非生物学或其它方面不需要的)并利用下述酸形成的那些盐:无机酸例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等;有机酸例如乙酸、三氟乙酸、丙酸、羧基乙酸、丙酮酸、草酸、马来酸、丙二酸、琥珀酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、水杨酸等。

[0168] “药学上可接受的碱加成盐”指保留游离酸的生物有效性和性质(并非生物学或其它方面不需要的)那些盐。这些盐是通过将无机碱或有机碱添加到游离酸中而制得。由无机碱衍生的盐包括但不限于钠盐、钾盐、锂盐、铵盐、钙盐、镁盐、铁盐、锌盐、铜盐、锰盐、铝盐

等。优选的无机盐是铵盐、钠盐、钾盐、钙盐和镁盐。由有机碱衍生的盐包括但不限于伯胺、仲胺和叔胺、取代胺(包括天然存在的取代胺)、环胺和碱性离子交换树脂的盐,例如异丙胺、三甲胺、二乙胺、三乙胺、三丙胺、乙醇胺、2-二甲基氨基乙醇、2-二乙基氨基乙醇、二环己基胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、咖啡因、普鲁卡因、哈胺(hydrabamine)、胆碱、甜菜碱、乙二胺、葡萄糖胺、葡甲胺、可可碱、嘌呤、哌嗪、哌啶、N-乙基哌啶、多胺树脂等。特别优选的有机碱是异丙胺、二乙胺、乙醇胺、三甲胺、二环己基胺、胆碱和咖啡因。

[0169] 因此,术语“药学上可接受的盐”包括所有可接受的盐,包括但不限于乙酸盐、乳酸盐、苯磺酸盐、月桂酸盐、苯甲酸盐、苹果酸盐、碳酸氢盐、马来酸盐、硫酸氢盐、扁桃酸盐、酒石酸氢盐、甲磺酸盐、硼酸盐、甲基溴化物、溴化物、甲基亚硝酸盐、依地酸钙盐、甲基硫酸盐、樟脑磺酸盐(camsylate)、粘液酸盐、碳酸盐、萘磺酸盐、氯化物、硝酸盐、克拉维酸盐、N-甲基葡萄糖胺、柠檬酸盐、铵盐、二盐酸盐、油酸盐、依地酸盐、草酸盐、乙二磺酸盐(edisylate)、双羟萘酸盐(恩波酸盐)、依托度酸盐(estolate)、棕榈酸盐、乙磺酸盐(esylate)、泛酸盐、富马酸盐、磷酸盐/磷酸氢盐、葡庚糖酸盐(gluceptate)、聚半乳糖醛酸盐、葡萄糖酸盐、水杨酸盐、谷氨酸盐(glutamate)、硬脂酸盐、甘苯肿酸盐(glycollylarsanilate)、硫酸盐、己基间苯二酚盐、碱式乙酸盐、hydradamine、琥珀酸盐、氢溴酸盐、丹宁酸盐、盐酸盐、酒石酸盐、羟萘酸盐、茶氯酸盐(teoate)、碘化物、甲苯磺酸盐、羟乙基磺酸盐(isothionate)、三乙碘化物(triethiodide)、乳酸盐、panoate、戊酸盐等。

[0170] 本发明化合物的药学上可接受的盐可以用于改变溶解度或水解性质的剂量使用,或者可用于持续释放制剂或前药制剂中。而且,本发明化合物的药学上可接受的盐可包括由阳离子例如钠、钾、铝、钙、锂、镁、锌形成的那些盐,以及由碱例如氨水、乙二胺、N-甲基-谷氨酸、赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、二乙醇胺、普鲁卡因、N-苄基苄乙基胺、二乙胺、哌嗪、三(羟甲基)氨基甲烷以及四甲基氢氧化铵。

[0171] 药物制剂通常包含制剂施用方式可接受的一种或多种载体,所述施用方式是注射、吸入、局部施用、灌洗或适用于所选治疗的其它方式。合适的载体是本领域公知的用于这些施用方式的那些载体。

[0172] 合适的药物组合物可通过本领域公知的方法进行配制,其施用方式和剂量由技术人员确定。对于胃肠外施用而言,可将化合物溶解在无菌水或盐水或用于施用非水溶性化合物的药学上可接受的载体(例如用于维生素K的载体)中。对于肠施用而言,所述化合物可以片剂、胶囊形式或溶解在液体形式中进行施用。所述片剂或胶囊可以是肠溶包衣的或是缓释制剂。许多合适的制剂是公知的,包括包封待释放化合物的聚合物微粒或蛋白质微粒、膏剂、凝胶剂、水凝胶剂或可用于表面(topically)或局部(locally)施用化合物的溶液剂。可使用持续释放贴剂或埋植剂来提供长期释放。技术人员公知的许多技术描述于 Remington: the Science & Practice of Pharmacy by Alfonso Gennaro, 20<sup>th</sup> ed., Williams & Wilkins, (2000) 中。用于胃肠外施用的制剂可例如包含赋形剂、聚亚烷基二醇例如聚乙二醇、来源于植物的油或氢化萘。生物相容性、生物可降解的丙交酯聚合物、丙交酯/乙交酯共聚物或聚氧乙烯聚氧丙烯共聚物可用于控制所述化合物的释放。其它用于调节化合物的潜在可用的胃肠外递送系统包括乙烯-乙酸乙烯酯共聚物颗粒、渗透泵、可埋植输注系统和脂质体。用于吸入的制剂可包含赋形剂(例如乳糖),或者可以是含有例如聚氧乙烯-

9-月桂基醚、甘胆酸盐和去氧胆酸盐的水溶液,或者可以是用于以滴鼻剂形式或作为凝胶剂施用的油溶液。

[0173] 本发明的化合物或药物组合物可通过口服或非口服形式施用,例如肌肉内、腹膜内、静脉内、脑池内注射或输注、皮下注射、经皮或经粘膜途径。在一些实施方案中,根据本发明或用于本发明用途的化合物或药物组合物可通过医疗装置或设备(例如植入物、移植术、假肢、支架等)的方式施用。可以设计旨在包含和释放这些化合物或组合物的植入物。一个实例是由适于在一段时间内释放所述化合物的聚合物材料制得的植入物。所述化合物可单独施用或作为与药学上可接受载体的混合物(例如固体制剂如片剂、胶囊、颗粒、粉末等;液体制剂如糖浆、注射剂等;注射剂,滴剂,栓剂,子宫套)而施用。在一些实施方案中,根据本发明或用于本发明用途的化合物或药物组合物可通过吸入喷雾、鼻腔、阴道、直肠、舌下或局部途径施用,并且可单独配制或者一起配制成含有用于每种施用途的常规无毒药学上可接受载体、辅剂和赋形剂的适当剂量单位制剂。

[0174] 本发明的化合物可用于治疗动物(包括小鼠、大鼠、马、牛、绵羊、狗、猫和猴)。然而,本发明化合物还可用于其它有机体中,例如鸟类(例如鸡)。本发明化合物还可有效用于人。术语“对象”或本文所用的“患者”是意在指称为治疗、观察或实验的对象的动物,优选哺乳动物,最优选人。然而,本发明化合物、方法和药物组合物可用于治疗动物。因此,本文所用的“对象”可以是人、非人的灵长类、大鼠、小鼠、牛、马、猪、绵羊、山羊、狗、猫等。所述对象可以疑似患有需要调节O-GlcNAc酶活性的病症或处于该病症的风险中。

[0175] 本发明化合物的“有效量”包括治疗有效量或预防有效量。“治疗有效量”指在剂量上能有效地在所需时间段内达到期望治疗结果(例如抑制O-GlcNAc酶、升高O-GlcNAc水平、抑制tau磷酸化或本文所述的任何病症)的量。化合物的治疗有效量可根据以下因素而变化:例如个体的疾病状态、年龄、性别和体重以及化合物在个体中引发期望反应的能力。可调整剂量方案以提供最佳治疗反应。治疗有效量还是其中化合物的治疗有益作用超过其毒性或有害作用的量。“预防有效量”指在剂量上能有效地在所需的时间段内达到期望预防结果(例如抑制O-GlcNAc酶、升高O-GlcNAc水平、抑制tau磷酸化或本文所述的任何病症)的量。通常,预防剂量用于患病前或处于疾病早期的对象,从而预防有效量可小于治疗有效量。化合物的治疗或预防有效量的合适范围可以是0.1nM至0.1M、0.1nM至0.05M、0.05nM至15 $\mu$ M或0.01nM至10 $\mu$ M中的任意整数。

[0176] 在一些替代性的实施方案中,在治疗或预防需要调节O-GlcNAc酶活性的病症中,合适的剂量水平通常是约0.01至500mg/kg对象体重/天,并且可以单剂量或多剂量形式施用。在一些实施方案中,所述剂量水平是约0.1至约250mg/kg/天。应当理解,任何特定患者的具体剂量水平和给药频率可改变并且将取决于多种因素,包括所用具体化合物的活性、该化合物的代谢稳定性和作用时间长短、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、施用方式和时间、排泄速度、药物组合、具体病症的严重程度和患者正在接受的治疗。

[0177] 应当指出,所述剂量值可根据待缓解的病症的严重程度而变化。对于任何特定对象而言,可根据个体需要和施用或指导施用组合物的人的职业判断随时间调整具体给药方案。本文所述的剂量范围仅是示例性的并且不限制可由执业医师选择的剂量范围。组合物中活性化合物的量可根据对象的因素(例如疾病状态、年龄、性别和体重)而变化。可调整剂量方案以提供最佳治疗反应。例如,可施用单次推注,可随时间施用几个分剂量或根据治疗



情况的紧急事件所示按比例降低或增加剂量。配制易于施用和剂量均匀的剂量单位形式的胃肠外组合物可能是有利的。一般而言,应当在不引起实质性毒性的条件下施用本发明化合物,如本文所述,所述化合物表现出用于治疗用途的适当的安全特性。

[0178] 可利用标准技术确定本发明化合物的毒性,例如通过测试细胞培养物或实验动物以及测定治疗指数(即LD50(群体50%致死的量)和LD100(群体100%致死的量)的比)。然而,在一些情形下,例如在严重疾病条件下,可能需要施用实质上过量的组合物。

#### [0179] 其它用途和检测

[0180] 式(I)化合物可用于调节糖苷酶活性尤其是O-GlcNAc酶活性的化合物的筛选检测上。可利用本文所述的或本领域中普通技术人员公知的任何检测方法来测量试验化合物抑制依赖O-GlcNAc酶的切割模型底物O-GlcNAc的能力。例如,可使用本领域公知的基于荧光或紫外线的检测。“试验化合物”是任何天然存在的或人工衍生的化合物。试验化合物可包括但不限于肽、多肽、合成有机分子、天然有机分子和核酸分子。试验化合物可通过例如干扰对依赖O-GlcNAc酶的O-GlcNAc切割的抑制或干扰式(I)化合物引起的任何生物反应而与已知化合物(例如式(I)化合物)进行“竞争”。

[0181] 一般而言,与式(I)化合物或其它参比化合物相比较而言,试验化合物可表现出10%至200%的或超过500%的调节的任意值。例如,试验化合物可表现出10%至200%调节之间的至少任何正整数或负整数,或30%至150%调节之间的至少任何正整数或负整数,或60%至100%调节之间的至少任何正整数或负整数,或超过100%调节的任何正整数或负整数。负性调节剂化合物相对于已知化合物通常将降低调节,而正性调节剂化合物相对于已知化合物通常将升高调节。

[0182] 一般而言,根据本领域中已知方法由天然产物或合成(或半合成)提取物的大文库或化学文库中鉴定试验化合物。药物发现与开发领域的技术人员应当理解,试验提取物或化合物的精确来源对于本发明方法而言并不是至关重要的。因此,事实上,任何数目的化学提取物或化合物都可利用本文所述的示例性方法进行筛选。这些提取物或化合物的实例包括但不限于基于植物、真菌、原核生物或动物的提取物、发酵肉汤和合成化合物以及现有化合物的修饰物。还可使用许多方法用于产生随机或直接合成(例如半合成或全合成)的任何数目的化合物,包括但不限于基于糖、脂质、肽和核酸的化合物。合成化合物文库是可商购的。或者,可从多个来源(包括Biotics(Sussex,UK)、Xenova(Slough,UK)、Harbor Branch Oceanographic Institute(Ft.Pierce,FL,USA)以及PharmaMar,MA,USA)商业购得细菌、真菌、植物和动物提取物形式的天然化合物文库。此外,必要时,根据本领域公知的方法,例如通过标准的提取和分离方法制备天然和合成产生的文库。此外,必要时,可利用标准的化学、物理或生物化学方法容易地对任何文库或化合物进行修饰。

[0183] 当发现粗提取物调节对依赖O-GlcNAc酶的O-GlcNAc切割或由式(I)化合物所引起的任何生物反应的抑制时,需要进一步对所述阳性先导提取物进行分级以分离出引起所观察作用的化学成分。因此,提取、分级和纯化过程的目的是仔细表征和鉴定所述粗提取物内具有O-GlcNAc酶抑制活性的化学实体。本文所述的用于检测化合物混合物活性的相同检测方法可用于纯化活性成分和测试其衍生物。这些不同种类提取物的分离和纯化方法是本领域所公知的。必要时,根据本领域公知的方法对显示为能用作治疗剂的化合物进行化学修饰。可随后利用本文所述或本领域公知的合适动物模型分析被鉴定为具有治疗、预防、诊断

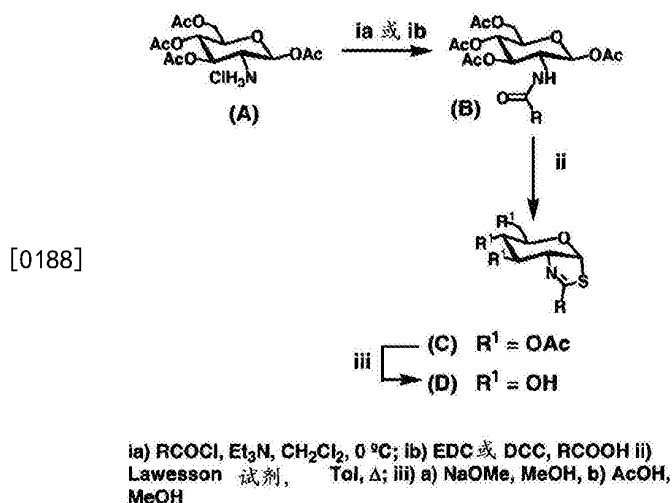
或其它价值的化合物。

[0184] 在一些实施方案中,所述化合物用于开发用于研究与O-GlcNAc酶缺乏、O-GlcNAc酶过度表达、O-GlcNAc积聚、O-GlcNAc耗竭相关的疾病或病症的动物模型以及用于研究与O-GlcNAc酶缺乏或过度表达、或O-GlcNAc积聚或耗竭相关的疾病或病症的治疗的动物模型。这些疾病和病症包括神经退行性疾病(包括阿尔茨海默病)和癌症。

[0185] 本文描述了本发明的多种替代实施方案和实施例。这些实施方案和实施例是示例性的,而不应当解释为限制本发明的范围。

## [0186] 实施例

[0187] 下述实施例旨在举例说明本发明的实施方案,而不是旨在以限制性的方式进行解释。下述实施例的许多化合物是根据方案1中所列举的合成途径进行制备的。



[0189] 方案1:化合物的制备

[0190] 一般步骤:

[0191] 一般步骤A:2-酰胺基糖(B)的合成。向三乙酸(2S,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-氨基-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯盐酸盐(2.0g,5.2mmol)在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(50mL)中的混悬液中添加三乙胺(1.45mL,10.4mmol),此时起始原料溶解。将反应混合物冷却至0℃,通过注射器加入1.5当量的适当酰氯(7.8mmol)。室温下搅拌所得混合物2小时。通过TLC分析判断反应混合物结束时,加入EtOAc(200mL)。依次用水、1M NaOH水溶液和盐水洗涤有机相。干燥有机相(MgSO<sub>4</sub>)并浓缩得到白色结晶固体。对由此得到的物质进行重结晶(EtOAc/己烷),得到期望的N-乙酰化物质。

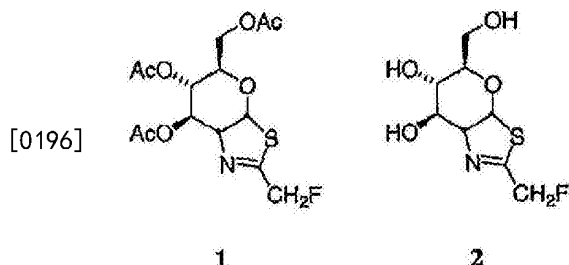
[0192] 一般步骤B:三-O-乙酰基保护的噻唑啉 (C) 的合成。将Lawesson试剂 (0.6当量) 添加到适当酰胺 (B) 在无水甲苯中的溶液中, 回流反应混合物2至8小时。当通过TLC分析判断转化结束时停止反应, 此时将溶液冷却至室温, 在真空下除去溶剂。适当时, 利用比例为5:1至10:1范围的己烷和EtOAc的溶剂系统通过快速硅胶柱色谱分离所期望的物质。分离产物, 其不需进一步纯化而用在下一步中。

[0193] 一般步骤C:脱保护噻唑啉 (D) 的合成。将一匙尖无水甲醇钠加入适当的被保护噻唑啉在MeOH中的溶液中。搅拌所述碱性溶液直到通过TLC分析判断反应完成(通常1小时)。将冰乙酸在MeOH中的溶液(1:20)滴加到反应混合物中直到发现溶液pH为中性。然后真空除去溶剂,适当时,利用比例为5:1至10:1范围的EtOAc和MeOH的溶剂系统通过快速硅胶色谱

分离作为糖状的所期望物质。

[0194] 实施例1

[0195] 化合物1和2:二乙酸 (3aR,5R,6S,7R,7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(氟甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯 (1) 和 (3aR,5R,6S,7R,7aR) -2-(氟甲基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇 (2)



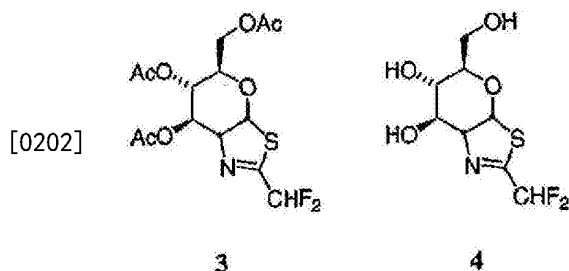
[0197] 将三乙胺 (0.8mL) 和无水吡啶 (20mL) 加入2-氨基-2-脱氧-1,3,4,6四-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖盐酸盐 (1g) 在DMF (100mL) 溶液中的冷 (0℃) 溶液中。将氟乙酸钠 (1.8g) 加入搅拌的含有干燥Dowex 50-H<sup>+</sup>树脂 (12g) 的无水DMF (90mL) 混合物中。1小时后,通过套管将DCC (3.2g) 和30mL氟乙酸溶液加入到含有所述盐酸盐的反应容器中。将所得溶液在0℃静置16小时,之后通过TLC分析判断反应完成。在真空下除去部分溶剂,加入EtOAc (300mL) 和饱和氯化钠溶液 (100mL)。收集有机层,利用EtOAc萃取水层2次。依次用水、饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (2次)、最后用盐水溶液洗涤合并的有机萃取物。用MgSO<sub>4</sub>干燥有机萃取物并过滤,在真空下除去溶剂得到无色浆。利用快速色谱在硅胶 (2:1,己烷/EtOAc) 上纯化所期望的产物,得到部分纯化的酰胺,其不需进一步纯化而用在下一步中。

[0198] 依照一般步骤B和C由如此得到的物质制得标题化合物。对于2而言:

[0199] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 3.28 (dd, 1H, J=2.5, 6.4Hz), 3.54 (m, 1H), 3.57 (m, 1H), 3.70 (m, 1H), 4.14 (t, 1H, J=4.1Hz), 4.38 (m, 1H), 5.17 (tdd, 2H, J=2.2, 13.1, 53.4Hz), 6.41 (d, 1H, J=7.0Hz)。

[0200] 实施例2

[0201] 化合物3和4:二乙酸 (3aR,5R,6S,7R,7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(二氟甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯 (3) 和 (3aR,5R,6S,7R,7aR) -2-(二氟甲基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇 (4)



[0203] 将三乙胺 (0.8mL) 和无水吡啶 (20mL) 加入2-氨基-2-脱氧-1,3,4,6四-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖盐酸盐 (1g) 在DMF (100mL) 溶液中的冷 (0℃) 溶液中。通过注射器将二环己基碳二亚胺 (DCC, 3g) 和二氟乙酸 (1.2mL) 加入到反应混合物中。将所得溶液在0℃静置16小时,之后再加入0.5mL二氟乙酸。室温下再静置3.5小时之后,通过TLC分析判断反应完成。在真空下除去部分溶剂,加入EtOAc (300mL) 和饱和氯化钠溶液 (100mL)。收集有机层,利用

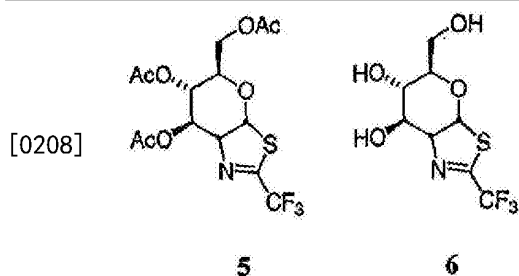
EtOAc萃取水层2次。依次用水、饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(2次)、最后用盐水溶液洗涤合并的有机萃取物。用MgSO<sub>4</sub>干燥有机提取物并过滤,在真空下除去溶剂得到无色浆。利用快速硅胶色谱(3:1,己烷/EtOAc)纯化所期望的产物,得到部分纯化的酰胺,其不需进一步纯化而用在下一步中。

[0204] 依照一般步骤B和C由如此得到的物质制得标题化合物。对于4而言:

[0205] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ: 3.27 (dd, 1H, J=2.5, 6.3Hz), 3.55 (m, 1H), 3.58 (m, 1H), 3.71 (m, 1H), 4.14 (t, 1H, J=4.6Hz), 4.44 (m, 1H), 6.43 (t, 1H, J=54.3Hz), 6.50 (d, 1H, J=7.1Hz)。

[0206] 实施例3

[0207] 化合物5和6: 二乙酸(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(三氟甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯(5)和(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-(三氟甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二-醇(6)



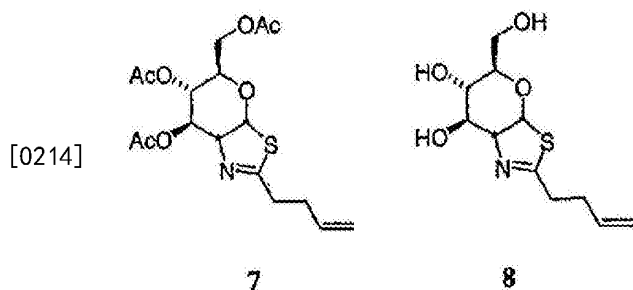
[0209] 将三乙胺(0.8mL)加入到溶解在无水二氯甲烷(20mL)中的2-氨基-2-脱氧-1, 3, 4, 6-四-O-乙酰基-β-D-吡喃葡萄糖盐酸盐(1g)的冷(0℃)溶液中。通过注射器加入三氟乙酸酐(0.6mL),将所得溶液在0℃静置16小时,之后通过TLC分析判断反应完成。将溶液稀释在50mLEtOAc中并依次用水、饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(2次)、最后用盐水溶液洗涤。用MgSO<sub>4</sub>干燥有机提取物并过滤,在真空下除去溶剂得到无色糖浆。利用快速硅胶色谱(4:1,己烷/EtOAc)纯化所期望的产物,得到部分纯化的酰胺,其不需进一步纯化而用在下一步中。

[0210] 依照一般步骤B和C由如此得到的物质制得标题化合物。对于6而言:

[0211] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ: 3.29 (m, 1H), 3.55 (m, 1H), 3.59 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 4.12 (t, 1H, J=4.5Hz), 4.38 (m, 1H), 6.64 (d, 1H, J=7.1Hz)。

[0212] 实施例4

[0213] 化合物7和8: 二乙酸(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(丁-3-烯基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯(7)和(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(丁-3-烯基)-5-(羟基甲基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二-醇(8)



[0215] 按照一般步骤A,将三乙酸(2S, 3R, 4R, 5S, 6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-氨基-四氢-

2H-吡喃-2,4,5-三基酯盐酸盐和戊-4-烯酰氯转化成三乙酸(2S,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-戊-4-烯酰胺基-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯。

[0216]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.01 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.18–2.22 (m, 2H), 2.28–2.32 (m, 2H), 3.80 (ddd, 1H,  $J=2.1, 4.6, 9.5\text{Hz}$ ), 4.10 (dd, 1H,  $J=2.1, 12.5\text{Hz}$ ), 4.24 (dd, 1H,  $J=4.6, 12.5\text{Hz}$ ), 4.30 (dd, 1H,  $J=9.2, 19.3\text{Hz}$ ), 4.95 (ddd, 1H,  $J=1.6, 3.1, 10.2\text{Hz}$ ), 5.01 (ddd, 1H,  $J=1.6, 2.6, 17.2\text{Hz}$ ), 5.10 (dd, 1H,  $J=9.5, 9.5\text{Hz}$ ), 5.16 (dd, 1H,  $J=9.5, 9.5\text{Hz}$ ), 5.68 (d, 1H,  $J=8.8\text{Hz}$ ), 5.74 (dddd, 1H,  $J=2.6, 3.1, 10.2, 17.2\text{Hz}$ ), 5.98 (d, 1H,  $J=9.5\text{Hz}$ ).

[0217] 依照一般步骤B, 将上述所得的酰胺转化成二乙酸(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(丁-3-烯基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(7)。

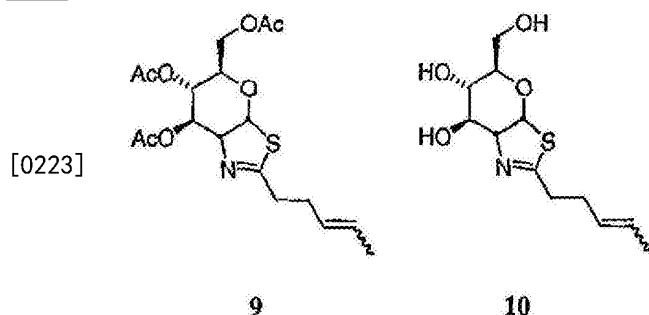
[0218]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  2.08 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 2.45 (m, 2H), 2.68 (m, 2H), 3.55 (ddd, 1H,  $J=3.2, 5.8, 12.3\text{Hz}$ ), 4.09 (dd, 1H,  $J=5.9, 12.3\text{Hz}$ ), 4.12 (dd, 1H,  $J=3.2, 12.3\text{Hz}$ ), 4.48 (ddd, 1H,  $J=1.5, 3.2, 7.0\text{Hz}$ ), 4.94 (m, 1H), 5.02 (m, 1H), 5.10 (m, 1H), 5.58 (dd, 1H,  $J=1.6, 3.2\text{Hz}$ ), 5.86 (ddd, 1H,  $J=6.5, 10.3, 17.1\text{Hz}$ ), 6.22 (d, 1H,  $J=7.2\text{Hz}$ ).

[0219] 依照一般步骤C, 将上述所得的噻唑啉转化成标题化合物(8)。

[0220]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  2.42 (m, 2H), 2.65 (m, 2H), 3.35 (ddd, 1H,  $J=2.5, 6.4, 12.1$ ), 3.56 (dd, 1H,  $J=3.6, 9.1\text{Hz}$ ), 3.61 (dd, 1H,  $J=6.4, 12.1\text{Hz}$ ), 3.73 (dd, 1H,  $J=2.5, 12.1\text{Hz}$ ), 4.12 (t, 1H,  $J=4.2\text{Hz}$ ), 4.32 (m, 1H), 5.02 (m, 1H), 5.10 (m, 1H), 5.86 (ddd, 1H,  $J=6.5, 10.2, 17.1\text{Hz}$ ), 6.35 (d, 1H,  $J=7.0\text{Hz}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  31.42, 34.08, 62.26, 70.02, 73.10, 75.08, 79.01, 89.05, 115.22, 136.71, 173.51.

[0221] 实施例5

[0222] 化合物9和10: 二乙酸(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(E,Z)-(戊-3-烯基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(9)和(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(羟基甲基)-2-(E,Z)-(戊-3-烯基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(10)



[0224] 依照一般步骤A, 将三乙酸(2S,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-氨基-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯盐酸盐和(E,Z)-己-4-烯酰氯转化成三乙酸(2S,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-((E,Z)-己-4-烯酰氨基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯。

[0225]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.61–1.65 (m, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.14–2.20 (m, 2H), 2.22–2.28 (m, 2H), 3.78–3.82 (m, 1H), 4.13 (dd, 1H,  $J=2.2, 12.5\text{Hz}$ ), 4.27 (dd, 1H,  $J=4.6, 12.5\text{Hz}$ ), 4.28–4.36 (m, 1H), 5.10–5.18 (m, 2H), 5.32–5.40

(m, 1H), 5.42-5.52 (m, 1H), 5.51-5.54 (m, 1H), 5.67-5.70 (m, 1H)。

[0226] 依照一般步骤B, 将上述所得的酰胺转化成二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(E,Z)-(戊-3-烯基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(9)。

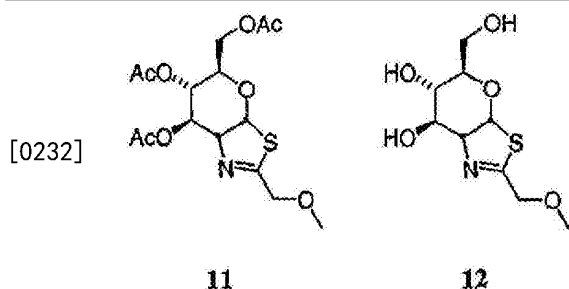
[0227]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  1.60 (m, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.35 (m, 2H), 2.61 (m, 2H), 3.5 (m, 1H), 4.08 (d, 2H,  $J=4.5\text{Hz}$ ), 4.45 (m, 1H), 4.91 (d, 1H,  $J=9.5\text{Hz}$ ), 5.45 (m, 2H), 5.55 (dd, 1H,  $J=1.3, 3.1\text{Hz}$ ), 6.18 (d, 1H,  $J=7.2\text{Hz}$ )。

[0228] 依照一般步骤C, 将上述所得的噻唑啉转化成标题化合物(10)。

[0229]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  1.64 (d, 3H,  $J=6.0\text{Hz}$ ), 2.35 (m, 2H), 2.60 (m, 2H), 3.34 (ddd, 1H,  $J=2.0, 6.3, 12.0$ ), 3.56 (dd, 1H,  $J=3.7, 9.2\text{Hz}$ ), 3.61 (dd, 1H,  $J=6.3, 12.0\text{Hz}$ ), 3.73 (dd, 1H,  $J=2.0, 12.0\text{Hz}$ ), 4.12 (t, 1H,  $J=4.2\text{Hz}$ ), 4.30 (t, 1H,  $J=5.9\text{Hz}$ ), 5.50 (m, 2H), 6.35 (d, 1H,  $J=7.0\text{Hz}$ )。  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  16.88, 30.36, 34.72, 62.30, 70.14, 73.12, 75.04, 78.97, 88.88, 126.41, 129.06, 173.81。

#### [0230] 实施例6

[0231] 化合物11和12: 二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(甲氧基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(11) 和 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(羟基甲基)-2-(甲氧基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(12)



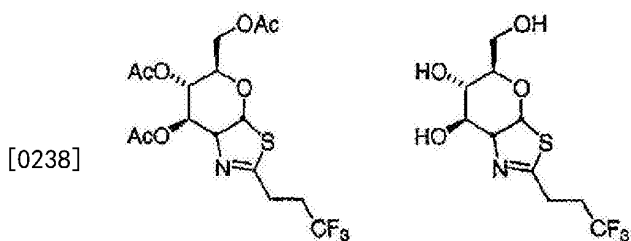
[0233] 向三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-氨基-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯盐酸盐 (0.500g, 1.31mmol) 在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20mL) 中的混悬液中添加三乙胺 (0.544mL, 3.915mmol), 之后加入2-甲氧基乙酰胺 (0.13mL, 1.44mmol)。室温下搅拌反应18小时。将反应混合物用饱和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液 (3mL) 洗涤1次、用盐水 (3mL) 洗涤1次。用  $\text{MgSO}_4$  干燥有机层并过滤, 在真空中浓缩。利用快速硅胶色谱 (5:1, EtOAc:己烷) 纯化粗物质, 得到三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-(2-甲氧基乙酰胺基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯, 为白色固体 (0.380g, 产率70%)。

[0234] 依照一般步骤B和C, 将上述所得的酰胺转化成标题化合物。对于12而言:

[0235]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  3.35 (s, 1H), 3.37 (dd, 1H,  $J=2.5, 12.1\text{Hz}$ ), 3.41 (s, 3H), 3.59 (m, 1H), 4.16 (t, 1H,  $J=4.0\text{Hz}$ ), 4.29 (m, 2H), 4.38 (m, 1H), 6.36 (d, 1H,  $J=7.0\text{Hz}$ )。

#### [0236] 实施例7

[0237] 化合物13和14: 二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(3,3,3-三氟丙基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(13) 和 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(羟基甲基)-2-(3,3,3-三氟丙基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(14)



13

14

[0239] 向三乙酸 (2S,3R,4R,5S,6R) -6-(乙酰氧基甲基) -3-氨基-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯盐酸盐 (0.500g, 1.31mmol) 在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20mL) 中的混悬液中添加4-(二甲基氨基) 吡啶 (0.478g, 3.91mmol), 之后加入1-(3-二甲基氨基丙基) -3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (0.300g, 1.57mmol) 和4,4,4-三氟丁酸 (0.222g, 1.56mmol)。室温下搅拌反应过夜。以CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (80mL) 稀释反应, 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (10mL) 洗涤有机层。然后干燥有机层 (MgSO<sub>4</sub>) 并真空浓缩。结晶 (EtOAc/己烷) 由此得到的粗物质, 得到三乙酸 (2S,3R,4R,5S,6R) -6-(乙酰氧基甲基) -3-(4,4,4-三氟丁酰胺基) -四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯, 为白色固体 (0.398g, 产率68%)。

[0240] 依照一般步骤B和C, 将上述所得的酰胺转化成标题化合物。对于13而言:

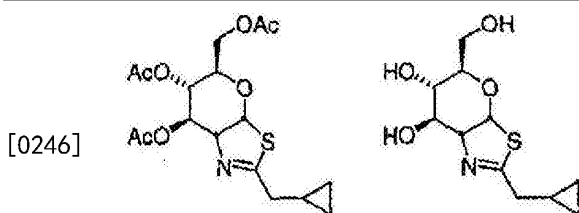
[0241] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.09 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 2.48-2.65 (m, 2H), 3.49-3.54 (m, 1H), 4.12-4.13 (m, 2H), 4.48-4.50 (m, 1H), 4.95 (dt, 1H, J=1.5, 4.9Hz), 5.56 (dd, 1H, J=1.8, 5.6Hz), 6.28 (d, 1H, J=7.2Hz)。

[0242] 对于14而言:

[0243] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 2.61 (m, 2H), 2.81 (m, 2H), 3.59 (m, 2H), 3.74 (dd, 1H, J=2.4, 12.1Hz), 4.15 (t, 1H, J=3.9Hz), 4.35 (m, 1H), 5.49 (s, 1H), 6.40 (d, 1H, J=7.0Hz)。 <sup>13</sup>C NMR (125MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 27.22, 30.94, 62.29, 70.09, 70.89, 75.13, 79.25, 89.53, 170, 207.59。

[0244] 实施例8

[0245] 化合物15和16: 二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基) -2-(环丙基甲基) -5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯 (15) 和 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -2-(环丙基甲基) -5-(羟基甲基) -5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇 (16)



15

16

[0247] 向三乙酸 (2S,3R,4R,5S,6R) -6-(乙酰氧基甲基) -3-氨基-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯盐酸盐 (0.500g, 1.31mmol) 在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20mL) 中的混悬液中添加4-(二甲基氨基) 吡啶 (0.478g, 3.91mmol), 之后加入1-(3-二甲基氨基丙基) -3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (0.300g, 1.57mmol) 和2-环丙基乙酸 (0.146mL, 1.57mmol)。搅拌反应12小时, 另外加入CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (80mL), 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (10mL) 洗涤有机层1次。然后干燥有机层 (MgSO<sub>4</sub>) 并真空浓缩。对粗物质进行快速硅胶色谱 (3:2, EtOAc:己烷), 得到三乙酸 (2S,3R,4R,5S,6R) -6-(乙酰氧基甲基) -

3-(2-环丙基乙酰胺基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯,为白色固体(0.256g,产率56%)。

[0248] 依照一般步骤B和C,将上述所得的酰胺转化成标题化合物。对于15而言:

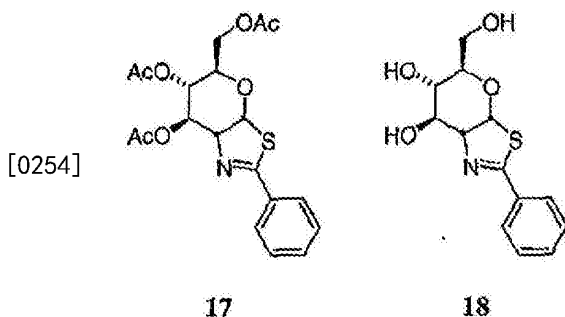
[0249]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.00–0.03 (m, 2H) , 0.30–0.37 (m, 2H) , 0.73–0.81 (m, 1H) , 1.82 (s, 3H) , 1.83 (s, 3H) , 1.89 (s, 3H) , 2.14–2.28 (m, 2H) , 3.31–3.34 (m, 1H) , 3.81–3.91 (m, 2H) , 4.23–4.26 (m, 1H) , 4.70 (d, 1H,  $J=9.5\text{Hz}$ ) , 5.33–5.34 (m, 1H) , 5.97 (d, 1H,  $J=7.1\text{Hz}$ ) .  $^{13}\text{C}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.92, 5.32, 9.48, 20.96, 21.10, 39.74, 63.63, 68.58, 69.55, 70.85, 76.34, 88.14, 169.51, 169.77, 170.78, 172.95.

[0250] 对于16而言:

[0251]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$ 0.03 (m, 2H), 0.35 (m, 2H), 0.77 (m, 1H), 2.23 (d, 2H,  $J=7.2\text{Hz}$ ), 3.15 (m, 1H), 3.44 (m, 2H), 3.52 (dd, 1H,  $J=2.7, 12.0\text{Hz}$ ), 3.94 (t, 1H,  $J=3.9\text{Hz}$ ), 4.12 (t, 1H,  $J=5.1\text{Hz}$ ), 6.15 (d, 1H,  $J=7.0\text{Hz}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$ 4.39, 8.96, 39.41, 62.27, 70.10, 73.04, 75.07, 78.70, 88.56, 174.41.

[0252] 实施例9

[0253] 化合物17和18:二乙酸(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-苯基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(17)和(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(羟基甲基)-2-苯基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(18)



[0255] 向三乙酸(2S,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-氨基-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯盐酸盐(0.500g,1.31mmol)在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(20mL)中的混悬液中添加4-(二甲基氨基)吡啶(0.478g,3.91mmol),之后加入苯甲酰氯(0.198g,1.57mmol)。搅拌反应2小时,再加入CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(80mL),用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(10mL)洗涤有机层1次。然后干燥有机层(MgSO<sub>4</sub>)并真空浓缩。结晶(EtOAc/己烷)由此得到的粗物质,得到三乙酸(2S,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-苯甲酰胺基-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯,为白色固体(0.418,产率69%)。

[0256] 依照一般步骤B和C,将上述所得的酰胺转化成标题化合物。对于17而言:

[0257]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.06 (s, 3H) , 2.07 (s, 3H) , 2.18 (s, 3H) , 3.61–3.64 (m, 1H) , 4.73–4.75 (m, 1H) , 5.00 (d, 1H,  $J=9.3\text{Hz}$ ) , 5.73–5.74 (m, 1H) , 6.37 (d, 1H,  $J=7.1\text{Hz}$ ) , 7.14–7.18 (m, 1H) , 7.25 (t, 1H,  $J=8.0\text{Hz}$ ) , 7.46 (t, 2H,  $J=7.7\text{Hz}$ ) , 7.52 (t, 1H,  $J=7.4\text{Hz}$ ) , 7.86 (d, 2H,  $J=7.2\text{Hz}$ ) .

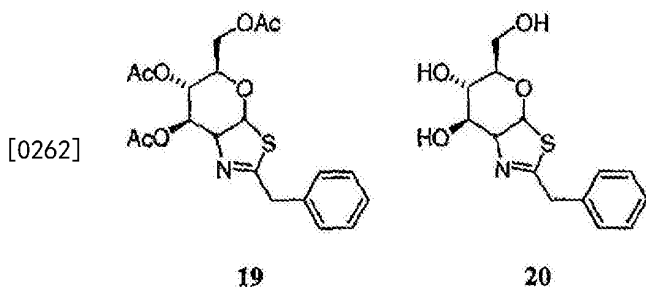
[0258] 对于18而言:

[0259]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$ 3.63 (m, 2H) , 3.76 (dd, 1H,  $J=2.5, 12.1\text{Hz}$ ) , 4.28 (t, 1H,  $J=4.3\text{Hz}$ ) , 4.57 (dd, 1H,  $J=5.0, 11.8\text{Hz}$ ) , 4.62 (m, 1H) , 6.49 (d, 1H,  $J=6.9\text{Hz}$ ) , 7.48 (m, 3H) , 7.85 (m, 2H) .  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$ 62.27, 70.27, 73.35, 75.38, 80.21, 88.85, 128.18, 128.52, 131.57, 133.32, 169.25.



## [0260] 实施例10

[0261] 化合物19和20: 二乙酸 (3aR,5R,6S,7R,7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-苄基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯 (19) 和 (3aR,5R,6S,7R,7aR) -2-苄基-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇 (20)



[0263] 向三乙酸 (2S,3R,4R,5S,6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-氨基-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯盐酸盐 (0.500g, 1.31mmol) 在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20mL) 中的混悬液中添加4-(二甲基氨基)吡啶 (0.478g, 3.91mmol), 之后加入1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (0.300g, 1.57mmol) 和2-苯基乙酸 (0.2132g, 1.57mmol)。搅拌反应12小时, 再加入CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (80mL), 用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (10mL) 洗涤有机层1次。然后用MgSO<sub>4</sub>干燥有机层并真空浓缩。对粗物质进行快速硅胶色谱 (3:2, EtOAc:己烷), 之后结晶 (EtOAc/己烷), 得到三乙酸 (2S,3R,4R,5S,6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-(2-苯基乙酰胺基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯, 为白色固体 (0.418g, 产率69%)。

[0264] 依照一般步骤B和C, 将上述所得的酰胺转化成标题化合物。对于19而言:

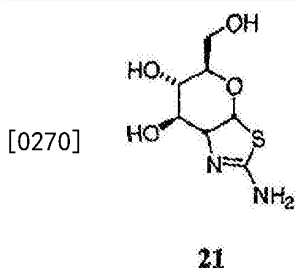
[0265] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.06 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.18 (s, 3H), 3.61-3.64 (m, 1H), 4.73-4.75 (m, 1H), 5.00 (d, 1H, J=9.3Hz), 5.73-5.74 (m, 1H), 6.37 (d, 1H, J=7.1Hz), 7.14-7.18 (m, 1H), 7.25 (t, 1H, J=8.0Hz), 7.46 (t, 2H, J=7.7Hz), 7.52 (t, 1H, J=7.4Hz), 7.86 (d, 2H, J=7.2Hz)。

[0266] 对于20而言:

[0267] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 3.35 (m, 2H), 3.62 (m, 2H), 3.70 (dd, 1H, J=2.6, 12.1Hz), 3.85 (m, 1H), 4.15 (t, 1H, J=4.48Hz), 4.36 (t, 1H, J=5.5Hz), 6.34 (d, 1H, J=7.0Hz), 7.27 (m, 5H). <sup>13</sup>C NMR (125MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 40.96, 62.12, 69.94, 73.17, 75.13, 78.89, 89.27, 127.14, 128.59, 129.01, 135.89, 173.17。

## [0268] 实施例11

[0269] 化合物21: (3aR,5R,6S,7R,7aR) -2-氨基-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇



[0271] 向三乙酸 (2S,3R,4R,5S,6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-氨基-四氢-2H-吡喃-2,4,5-

三基酯盐酸盐 (250mg, 0.65mmol) 在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5mL) 中的搅拌溶液中添加三乙胺 (90μL, 0.65mmol)。用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (20mL) 稀释溶液, 然后用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×10mL) 萃取所得混合物, 干燥合并的有机萃取物 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 并浓缩, 推测得到三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-氨基-四氢-2H-吡喃-2, 4, 5-三基酯 (220mg), 其不需进一步纯化而使用。

[0272] 将上述胺 (220mg) 溶解在吡啶 (5mL) 中, 加入异硫氰酸9-苄基甲氧基羰基酯 (180mg, 0.65mmol) 和三乙胺 (0.02mL)。然后在室温下搅拌所得混合物16小时。浓缩所述溶液, 将残留物吸入到CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20mL) 中并用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (20mL) 稀释溶液。然后用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×10mL) 萃取所得混合物, 干燥合并的有机萃取物 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 并浓缩。对残留物进行快速色谱 (EtOAc: 己烷, 2:3), 得到三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-(3-((9H-苄-9-基) 甲氧基) 羰基) 硫脲基)-四氢-2H-吡喃-2, 4, 5-三基酯, 为白色泡沫 (360mg, 两步产率 89%)。

[0273] <sup>1</sup>H NMR (600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.06 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 3.89 (ddd, 1H, J=2.4, 4.8, 9.6Hz), 4.17 (dd, 1H, J=2.4, 12.5Hz), 4.24 (dd, 1H, J=6.6, 6.6Hz), 4.33 (dd, 1H, J=4.8, 12.5Hz), 4.52 (s, 1H), 4.54 (s, 1H), 5.08-5.12 (m, 1H), 5.22 (dd, 1H, J=9.5, 9.6Hz), 5.34 (dd, 1H, J=6.6, 9.5Hz), 5.88 (d, 1H, J=6.6Hz), 7.36 (dd, 2H, J=7.2, 7.8Hz), 7.45 (dd, 2H, J=7.2, 7.8Hz), 7.57 (d, 2H, J=7.8Hz), 7.80 (d, 2H, J=7.2Hz). <sup>13</sup>C NMR (150MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 20.62, 20.72, 20.77, 21.05, 46.49, 57.59, 61.65, 67.47, 68.40, 72.21, 72.87, 92.21, 120.09, 120.29, 124.84, 124.96, 125.32, 127.30, 127.83, 128.15, 128.25, 129.06, 141.37, 142.80, 152.16, 169.27, 169.34, 170.46, 170.72, 180.22.

[0274] 将上述硫脲 (200mg, 0.32mmol) 溶解在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4mL) 中, 加入SnCl<sub>4</sub> (0.5mL, 4.0mmol)。然后在室温下搅拌所得混合物16小时。用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (20mL) 稀释溶液, 然后用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×10mL) 萃取所得混合物, 干燥合并的有机萃取物 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 并浓缩, 对残留物进行快速色谱 (EtOAc: 己烷, 2:3), 得到二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(((9H-苄-9-基) 甲氧基) 羰基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯, 为浅无色泡沫 (125mg, 产率69%)。

[0275] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.88 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 3.69 (m, 1H), 3.81 (ddd, 1H, J=2.5, 5.5, 6.5Hz), 4.12 (dd, 1H, J=2.5, 12.5Hz), 4.21-4.26 (m, 2H), 4.55 (dd, 1H, J=6.0, 12.5Hz), 4.72-4.75 (dd, 1H, J=6.5, 6.5Hz), 4.95 (dd, 1H, J=5.5, 9.5Hz), 5.24 (dd, 1H, J=6.5, 9.5Hz), 6.01 (d, 1H, J=6.5Hz), 7.35 (dd, 2H, J=7.1, 7.8Hz), 7.44 (dd, 2H, J=7.0, 7.8Hz), 7.59 (d, 2H, J=7.1Hz), 7.81 (d, 2H, J=7.0 Hz). <sup>13</sup>C NMR (125MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 20.62, 20.71, 21.35, 46.78, 57.91, 63.70, 67.92, 69.46, 71.88, 72.52, 90.23, 120.71, 120.89, 123.83, 124.04, 125.15, 127.76, 127.97, 129.61, 129.72, 130.08, 141.31, 142.86, 152.11, 161.43, 169.11, 169.63, 170.23.

[0276] 将上述三乙酸酯 (114mg, 0.20mmol) 溶解在MeOH (2.0mL) 中, 然后加入NaOMe (14mg, 0.25mmol)。然后在室温下搅拌所得混合物2小时。通过加入AcOH猝灭反应。将浓缩得到的无色油溶解在吡啶 (3mL) 中, 然后加入哌啶 (0.6mL)。在室温下搅拌所得混合物2小时。然后浓缩混合物, 将任何残留的哌啶与吡啶共蒸发。用EtOAc研磨所得残留物, 得到白色固体的标题化合物 (38mg, 产率81%)。

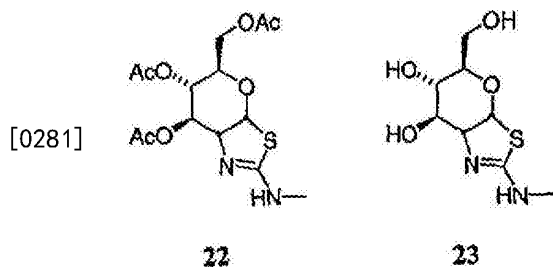
[0277] <sup>1</sup>H NMR (600MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 3.47 (dd, 1H, J=5.0, 9.0Hz), 3.57-3.66 (m, 2H), 3.78

(dd, 1H, J=2.0, 12.5Hz), 3.90 (dd, 1H, J=5.5, 5.5Hz), 4.04 (dd, 1H, J=6.0, 6.0Hz), 6.31 (d, 1H, J=6.0Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 61.15, 69.14, 73.45, 74.14, 74.52, 89.62, 161.08.

[0278] 针对 $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ 的分析计算值:C, 38.17; H, 5.49; N, 12.72; 实测值:C, 38.05; H, 5.37; N, 12.66。

[0279] 实施例12

[0280] 化合物22和23: 二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(甲基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯 (22) 和 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(羟基甲基)-2-(甲基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇 (23)



[0282] 向三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-异硫氰酸根合-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯 (0.51g, 1.32mmol) (Jochims, J.C. et al, Tetrahedron, 1965, 21 (9), 2611-16) 在 $\text{CH}_3\text{CN}$ 中的搅拌溶液中添加纯甲胺盐酸盐 (0.18g, 2.64mmol)。室温下搅拌反应直到通过TLC分析反应完成为止 (1.5小时)。用最小量的饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液 (15mL) 洗涤反应物。然后用DCM萃取水层3次, 合并有机层, 用 $\text{MgSO}_4$ 干燥、过滤并浓缩。通过快速硅胶柱色谱 (EtOAc: 己烷, 1:1) 纯化浓缩的混合物, 得到三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-(3-甲基硫脒基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯 (0.35g, 产率62%)。

[0283]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 2.06 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 2.98 (s, 3H), 3.82-3.88 (m, 1H), 4.10-4.16 (m, 2H), 4.28 (dd, 1H, J=4.6, 12.5Hz), 5.17-5.22 (m, 2H), 5.74 (d, 1H, J=8.1Hz), 5.92 (s, 1H), 6.21 (s, 1H)。

[0284] 将三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-(3-甲基硫脒基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯 (0.457g, 1.09mmol) 加入到无水DCM中, 并滴加 $\text{SnCl}_4$  (1.13g, 4.33mmol)。室温下搅拌反应过夜 (16小时)。用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液猝灭反应直到溶液为碱性并且不再产生气体。然后用DCM萃取水层3次, 将合并的有机层用 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并浓缩。通过快速色谱 (硅胶, EtOAc) 纯化粗物质, 得到油状的二乙酸 (5R, 6S, 7R) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(甲基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯 (22) (0.30g, 产率77%)。

[0285]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 2.05 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.90 (s, 3H), 3.84 (m, 1H), 4.12 (m, 2H), 4.34 (dd, 1H, J=4.3, 6.2Hz), 4.90 (ddd, 1H, J=0.8, 2.8, 9.6Hz), 5.39 (dd, 1H, J=2.9, 4.1Hz), 6.21 (d, 1H, J=6.5Hz)。  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 21.00, 21.10, 21.23, 31.19, 63.40, 68.67, 69.40, 72.24, 73.01, 90.03, 161.21, 169.72, 169.90, 170.89。

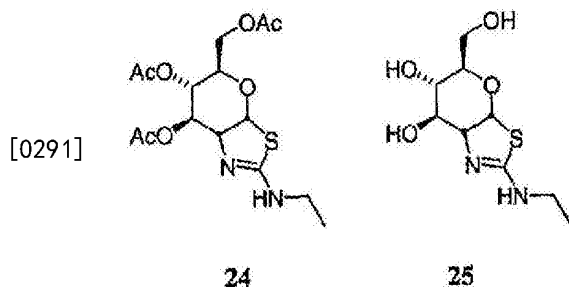
[0286] 将上述分离的产物 (0.090g, 0.250mmol) 溶解在无水MeOH中。向所述溶液中加入固体 $\text{K}_2\text{CO}_3$ 直到呈碱性, 室温下搅拌反应5小时。从溶液中沉淀出白色固体的所期望产物。通过分离该固体并用MeOH洗涤数次而纯化最终产物 (5R, 6S, 7R) -5-(羟基甲基)-2-(甲基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇 (23) (0.038g, 产率64%)。

[0287]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  2.67 (s, 3H), 3.40–3.43 (m, 1H), 3.48–3.54 (m, 2H), 3.65–3.68 (m, 1H), 3.90 (t, 1H,  $J=5.1\text{Hz}$ ), 4.04 (t, 1H,  $J=5.8\text{Hz}$ ), 6.14 (d, 1H,  $J=6.4\text{Hz}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  29.83, 61.39, 69.28, 73.24, 73.61, 74.19, 88.52, 163.73. MS (CI):  $m/z$  235 (M+1).

[0288] 针对  $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$  的分析计算值: C, 41.01; H, 6.02; N, 11.96; 实测值: C, 40.60; H, 5.56; N, 10.99。

[0289] 实施例13

[0290] 化合物24和25: 二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(乙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯 (24) 和 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -2-(乙基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇 (25)



[0292] 向三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-氨基-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯盐酸盐 (2.04g, 5.19mmol) 在  $\text{CH}_3\text{CN}$  (80mL) 中的搅拌的溶液中添加异硫氰酸乙酯 (1.36g, 15.57mmol), 之后加入三乙胺 (0.94g, 9.31mmol)。将反应混合物加热回流并搅拌3小时。浓缩有机层, 并重新溶解在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中。然后用最小量的饱和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液洗涤反应物。再用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  萃取水层两次。干燥有机层 ( $\text{MgSO}_4$ )、过滤并真空浓缩。通过快速色谱 (EtOAc/己烷, 1:1) 得到所期望的黄色油状三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-(3-乙基硫脲基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯 (2.21g, 产率98%)。

[0293]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.19 (m, 3H), 1.81 (d, 1H,  $J=4.0\text{Hz}$ ), 2.05 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 3.40 (s, 1H), 3.85 (m, 1H), 4.12 (m, 1H), 4.28 (m, 1H), 4.81 (s, 1H), 5.19 (m, 1H), 5.73 (d, 1H,  $J=7.7\text{Hz}$ ), 6.00 (s, 1H), 6.12 (d, 1H,  $J=15.0\text{Hz}$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.39, 20.81, 20.96, 21.07, 21.25, 57.84, 60.67, 61.95, 68.08, 72.99, 73.31, 93.12, 163.03, 169.60, 170.97, 171.88.

[0294] 将上述分离的硫脲 (1.74g, 4.01mmol) 溶解在无水  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中。滴加  $\text{SnCl}_4$  (1.88mL, 16.05mmol), 反应变为浅黄色。搅拌反应过夜。用饱和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液猝灭反应直到溶液为中性并且不再产生  $\text{CO}_2$  气体。用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  萃取水层3次, 将合并的有机级分干燥 ( $\text{MgSO}_4$ )、过滤并真空浓缩。通过快速色谱 (硅胶, EtOAc) 纯化粗物质, 得到浅黄色固体的24 (1.35g, 产率90%)。

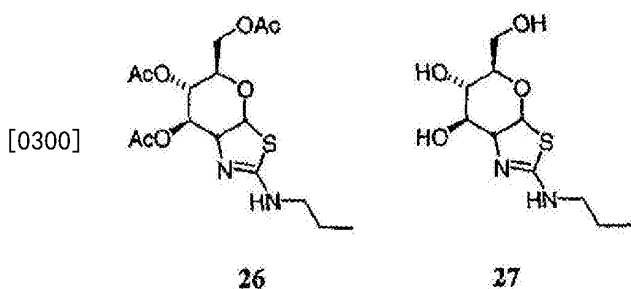
[0295]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.22 (t, 3H,  $J=7.1\text{Hz}$ ), 2.08 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.12 (g, 3H), 3.34 (m, 2H), 3.85 (m, 1H), 4.14 (d, 2H,  $J=4.3\text{Hz}$ ), 4.37 (ddd, 1H,  $J=0.8, 4.1, 6.4\text{Hz}$ ), 4.96 (ddd, 1H,  $J=0.9, 2.6, 9.6\text{Hz}$ ), 5.43 (m, 1H), 6.24 (d, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.28, 20.81, 20.96, 21.07, 21.25, 57.84, 61.95, 68.08, 72.99, 73.31, 93.12, 169.60, 170.97, 171.88.

[0296] 依照一般步骤C,将上述的噻唑啉24进行脱保护,得到白色固体的标题化合物(25)。

[0297]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  1.22 (t, 3H,  $J=7.3\text{Hz}$ ), 3.35 (m, 2H), 3.49 (dd, 1H,  $J=6.1, 9.0\text{Hz}$ ), 3.66, (m, 2H), 3.82 (dd, 1H,  $J=1.8, 11.7\text{Hz}$ ), 3.89 (t, 1H,  $J=6.2\text{Hz}$ ), 4.09 (t, 1H,  $J=6.4\text{Hz}$ ), 6.44 (d, 1H,  $J=6.4\text{Hz}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  13.73, 38.35, 62.07, 69.99, 74.57, 75.11, 89.72, 161.92. MS (CI):  $m/z$  249 (M+1) 针对 $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ 的分析计算值:C, 43.53;H, 6.49;N, 11.28;实测值:C, 43.82;H, 6.62;N, 11.02.

[0298] 实施例14

[0299] 化合物26和27:二乙酸(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(丙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(26)和(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-(丙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(27)



[0301] 向三乙酸(2S, 3R, 4R, 5S, 6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-异硫氰酸根合-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(530mg, 1.36mmol)在 $\text{CH}_3\text{CN}$  (7mL)中的搅拌的溶液中添加丙基胺盐酸盐(260mg, 2.72mmol),之后加入三乙胺(378 $\mu\text{L}$ , 2.72mmol)并将反应混合物搅拌1小时。加入饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液(20mL),然后用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 $\times$ 10mL)萃取所得的混合物。将合并的有机萃取物干燥( $\text{MgSO}_4$ )并浓缩。通过快速硅胶色谱(己烷/ $\text{EtOAc}$ , 1:1)纯化所得的粗物质,得到作为白色泡沫的三乙酸(2S, 3R, 4R, 5S, 6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-(3-丙基硫脒基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(532mg, 产率87%)。

[0302]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.97 (t, 3H,  $J=7.5\text{Hz}$ ), 1.59-1.64 (m, 2H), 1.53-1.59 (m, 2H), 2.06 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 3.35 (br s, 2H), 3.81-3.85 (m, 1H), 4.13-4.17 (m, 2H), 4.20-4.25 (m, 1H), 4.29 (dd, 1H,  $J=4.5, 12.5\text{Hz}$ ), 5.17-5.23 (m, H), 5.73 (d, 1H,  $J=8.5\text{Hz}$ ), 6.07 (br s, 1H)。

[0303] 将上述硫脒(230mg, 0.51mmol)溶解在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2.6mL)中,加入 $\text{SnCl}_4$  (240 $\mu\text{L}$ , 2.1mmol)。然后搅拌所得混合物4小时。用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液(50mL)稀释溶液,然后用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 $\times$ 20mL)萃取反应混合物,将合并的有机萃取物干燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )并浓缩。通过快速硅胶色谱(己烷/ $\text{EtOAc}$ , 1:1至1:1.5)纯化所得粗物质,得到浅黄色泡沫的二乙酸(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(丙基氨基)-5,6,7,7a-四氢吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(26) (150mg, 产率75%)。

[0304]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz)  $\delta$  0.93 (t, 3H,  $J=7.5\text{Hz}$ ), 1.56-1.63 (m, 2H), 2.06 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 3.15-3.20 (m, 1H), 3.26-3.31 (m, 1H), 4.12 (d, 2H,  $J=4.0\text{Hz}$ ), 4.33-4.35 (m, 1H), 4.91-4.94 (m, 1H), 5.41 (dd, 1H,  $J=3.0, 4.0\text{Hz}$ ), 6.21 (d, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ )。

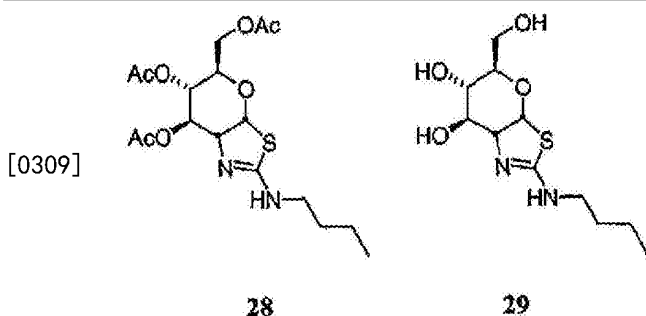
[0305] 将上述三乙酸酯(150mg, 0.39mmol)溶解在 $\text{MeOH}$  (2.5mL)中,然后加入 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (55mg,

0.39mmol)。室温下搅拌所得混合物2小时。将混合物用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (9mL) 稀释,然后倒入到碱性 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (1g) 柱的顶部。用在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中的10~25% MeOH洗脱所述柱,得到白色固体的标题化合物27 (57.4mg,产率57%)。

[0306] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 0.94 (t, 3H, J=7.5Hz), 1.54-1.60 (m, 2H), 3.14-3.24 (m, 2H), 3.47 (dd, 1H, J=5.0, 8.5Hz), 3.58-3.66 (m, 2H), 3.78 (dd, 1H, J=2.0, 11.5Hz), 3.91 (t, 1H, J=6.0Hz), 4.03 (t, 1H, J=6.0Hz), 6.28 (d, 1H, J=6.5Hz). <sup>13</sup>C NMR (125MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 10.59, 22.47, 45.56, 62.03, 69.98, 74.54, 75.10, 89.62, 89.66, 162.17. MS (EI): m/z 263 (M+1). 针对C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S的分析计算值: C, 45.79; H, 6.92; N, 10.68; 实测值: C, 45.58; H, 6.86; N, 10.77.

#### [0307] 实施例15

[0308] 化合物28和29: 二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(丁基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯 (28) 和 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -2-(丁基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇 (29)



[0310] 向三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-异硫氰酸根合-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯 (489mg, 1.26mmol) 在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5mL) 中的搅拌溶液中添加丁胺 (197μL, 2.00mmol), 将所得混合物搅拌30分钟。加入饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (20mL), 然后用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×10mL) 萃取所得混合物, 将合并的有机萃取物干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并浓缩。通过快速硅胶色谱 (己烷/EtOAc, 1:1) 纯化所得的粗物质, 得到作为白色泡沫的三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-(3-丁基硫脲基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯 (566mg, 产率97%)。

[0311] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.94 (t, 3H, J=7.5Hz), 1.35-1.41 (m, 2H), 1.53-1.59 (m, 2H), 2.06 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.14 (s, 3H), 3.38 (br s, 2H), 3.82-3.85 (m, 1H), 4.13-4.16 (m, 2H), 4.20-4.25 (m, 1H), 4.29 (dd, 1H, J=4.5, 12.5Hz), 5.17-5.22 (m, 2H), 5.73 (d, 1H, J=8.0Hz), 6.10 (br s, 1H).

[0312] 将上述硫脲 (560mg, 1.21mmol) 溶解在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (6mL) 中, 加入SnCl<sub>4</sub> (567μL, 4.84mmol), 然后搅拌反应混合物16小时。用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液 (50mL) 稀释溶液, 然后用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3×20mL) 萃取所得混合物, 将合并的有机萃取物干燥 (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 并浓缩。通过快速硅胶色谱 (己烷/EtOAc, 1:1至1:1.5) 纯化所得粗物质, 得到浅黄色油的二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(丁基氨基)-5,6,7,7a-四氢吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯 (28) (320mg, 产率66%)。

[0313] <sup>1</sup>H NMR (500MHz) δ 0.93 (t, 3H, J=7.5Hz), 1.34-1.40 (m, 2H), 1.53-1.58 (m, 2H), 2.07 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 3.20-3.26 (m, 1H), 3.31-3.36 (m, 1H), 3.82-3.86 (m, 1H), 4.14 (d, 2H, J=4.5Hz), 4.35-4.37 (m, 1H), 4.56 (br s, 1H), 4.94-4.96 (m, 1H), 5.43

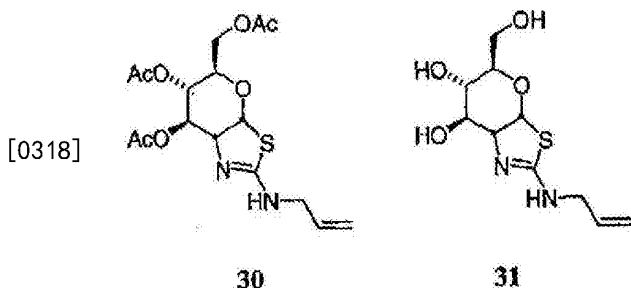
(t, 1H, J=3.2Hz), 6.22 (d, 1H, J=6.5Hz) .

[0314] 将上述三乙酸酯(130mg, 0.32mmol)溶解在MeOH(2mL)中, 然后加入K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(50mg, 0.36mmol), 然后室温下搅拌所得混合物2小时。用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(8mL)稀释混合物, 然后倒入到碱性Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(1g)柱的顶部。用在CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中的10~25%MeOH洗脱所述柱, 得到白色固体的标题化合物29(18.1mg, 产率20%)。

[0315] <sup>1</sup>H NMR(500MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ0.94 (t, 3H, J=7.5Hz), 1.34-1.41 (m, 2H), 1.51-1.56 (m, 2H), 3.18-3.27 (m, 1H), 3.47 (dd, 1H, J=5.0, 8.5Hz), 3.50-3.66 (m, 2H), 3.78 (dd, 1H, J=2.0, 11.5Hz), 3.91 (t, 1H, J=5.5Hz), 4.03 (t, 1H, J=5.5Hz), 6.28 (d, 1H, J=6.5Hz) . <sup>13</sup>C NMR(125MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ12.98, 19.96, 31.37, 43.52, 62.06, 70.01, 74.55, 74.59, 75.14, 89.66, 162.13. MS (EI): m/z 277 (M+1) . 针对C<sub>11</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S • 0.2 (CH<sub>4</sub>O) • 0.1 (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) 的分析计算值: C, 48.65; H, 7.68; N, 9.61; 实测值: C, 48.30; H, 7.96; N, 9.64.

[0316] 实施例16

[0317] 化合物30和31: 二乙酸(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(烯丙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(30)和(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(烯丙基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(31)



[0319] 向三乙酸(2S, 3R, 4R, 5S, 6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-异硫氰酸根合-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(0.50g, 1.31mmol)在CH<sub>3</sub>CN中的搅拌的溶液中滴加纯的3-异硫氰酸根合丙-1-烯(0.155g, 1.2mmol)。室温下搅拌反应直到通过TLC反应完成(3小时)。用最小量的饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(15mL)洗涤反应物。然后用DCM萃取水层3次。合并有机提取物, 用MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩。通过快速柱色谱在1:1的EtOAc和己烷的溶剂系统中纯化浓缩的混合物, 得到三乙酸(2S, 3R, 4R, 5S, 6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-(3-烯丙基硫脒基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(0.410g, 产率81%)。

[0320] <sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ1.98 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 3.81-3.83 (m, 1H), 4.02-4.08 (m, 3H), 4.21 (dd, 1H, J=4.6, 12.5Hz), 5.06-5.15 (m, 3H), 5.20-5.30 (m, 2H), 5.72 (d, 1H, J=8.6Hz), 5.75-5.8 (s, 1H), 6.42-6.52 (m, 2H) .

[0321] 将上述分离的产物(0.410g, 0.92mmol)溶解在DCM中, 向该溶液中加入三氟乙酸(0.80g, 7.0mmol), 搅拌反应过夜(16小时)。通过用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(20mL)洗涤反应混合物而促进(work up)反应。用DCM萃取水层3次, 将合并的有机萃取物用MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤并浓缩。通过快速柱色谱在EtOAc溶剂系统中纯化浓缩的混合物, 分离出二乙酸(5R, 6S, 7R)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(烯丙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(30)(0.281g, 产率90%)。

[0322] <sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ1.97 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 3.76-3.90 (m, 3H),

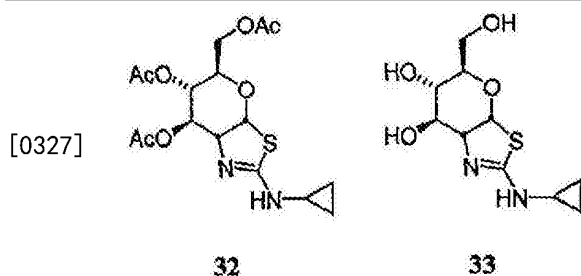
4.04-4.05 (m, 2H), 4.27-4.29 (m, 1H), 4.84 (dd, 1H,  $J=2.4, 9.4\text{Hz}$ ), 5.06 (d, 1H,  $J=11.3\text{Hz}$ ), 5.16 (d, 1H,  $J=17.2\text{Hz}$ ), 5.30 (t, 1H,  $J=3.3\text{Hz}$ ), 5.77-5.84 (m, 1H), 6.17 (d, 1H,  $J=6.6\text{Hz}$ ), 6.34 (s, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  20.87, 21.00, 21.16, 47.43, 63.26, 68.75, 68.85, 68.98, 71.26, 71.43, 88.82, 117.08, 133.64, 169.61, 161.84, 170.76.

[0323] 将二乙酸 (5R, 6S, 7R) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(烯丙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯 (0.281g, 0.73mmol) 溶解在无水MeOH中。向溶液中加入固体 $\text{K}_2\text{CO}_3$ 直到呈碱性。室温下搅拌反应1.5小时。过滤反应物,然后在真空下浓缩。通过快速柱色谱(DCM:MeOH, 5:2)纯化粗物质,得到(5R, 6S, 7R) -2-(烯丙基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇 (31) (0.048g, 产率18%)。

[0324]  $^1\text{H}$  NMR: (500MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  3.50 (dd, 1H,  $J=5.5, 8.9\text{Hz}$ ), 3.6-3.7 (m, 2H), 3.81 (d, 1H,  $J=10.7\text{Hz}$ ), 3.87-3.95 (m, 3H), 4.09 (t, 1H,  $J=6.2\text{Hz}$ ), 5.15 (d, 1H,  $J=10.3\text{Hz}$ ), 5.25 (d, 1H,  $J=17.2\text{Hz}$ ), 5.88-5.96 (m, 1H), 6.36 (d, 1H,  $J=6.4\text{Hz}$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$ : 39.23, 61.80, 69.52, 73.52, 74.51, 75.39, 90.67, 161.87, 165.33.

#### [0325] 实施例17

[0326] 化合物32和33: 二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(环丙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯 (32) 和 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -2-(环丙基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇 (33)



[0328] 向三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-异硫氰酸根合-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯<sup>115</sup> (300mg, 0.77mmol) 在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 中的搅拌溶液中添加纯环丙胺 (107 $\mu\text{L}$ , 1.54mmol) 并将所得混合物搅拌1小时。加入饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液 (10mL), 然后用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 $\times$  10mL) 萃取所得混合物, 将合并有机提取物干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) 并浓缩。通过快速硅胶色谱 (己烷/ $\text{EtOAc}$ , 1:1) 纯化所得的粗物质, 得到作为浅黄色油的三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-(3-环丙基硫脲基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯 (306mg, 产率89%)。

[0329]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.55-0.59 (m, 2H), 0.77-0.80 (m, 2H), 2.02 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.38 (br s, 1H), 3.79-3.83 (m, 1H), 4.11 (dd, 1H,  $J=2.0, 12.5\text{Hz}$ ), 4.24 (dd, 1H,  $J=4.5, 12.5\text{Hz}$ ), 5.20 (t, 1H,  $J=9.5\text{Hz}$ ), 5.26 (t, 1H,  $J=10.0\text{Hz}$ ), 5.84 (d, 1H,  $J=8.5\text{Hz}$ ), 6.34 (d, 1H,  $J=10.0\text{Hz}$ ), 6.75 (br s, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$ : 6.47, 26.00, 61.43, 65.04, 68.57, 73.36, 76.68, 87.89.

[0330] 将上述硫脲 (306mg, 0.69mmol) 溶解在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL) 中, 加入TFA (153 $\mu\text{L}$ , 2.06mmol), 然后搅拌所得混合物18小时。此时, 减压除去溶剂, 将残留物重新溶解在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5mL) 中。加入固体 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (215mg, 1.55mmol), 然后将混合物过滤并浓缩。通过快速硅胶色谱 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ , 5:1) 纯化所得粗物质, 得到作为浅黄色油的二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(环丙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯



(32) (188mg, 产率71%)。

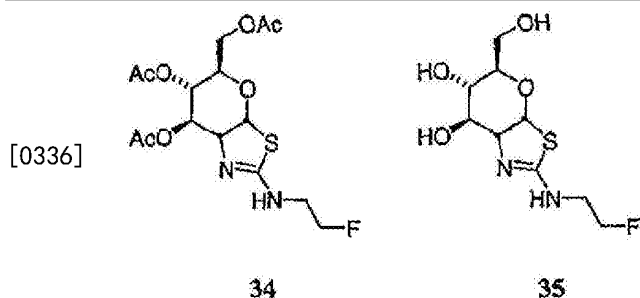
[0331]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz)  $\delta$  0.61–0.64 (m, 2H), 0.75–0.78 (m, 2H), 2.09 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.65–2.69 (m, 1H), 3.85 (dt, 1H,  $J=4.5, 9.5\text{Hz}$ ), 4.15 (d, 2H,  $J=4.0\text{Hz}$ ), 4.34 (dd, 1H,  $J=4.2, 6.4\text{Hz}$ ), 4.95 (ddd, 1H,  $J=0.5, 2.0, 9.6\text{Hz}$ ), 5.31 (br s, 1H), 5.41 (dd, 1H,  $J=2.9, 4.0\text{Hz}$ ), 6.21 (d, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ )。

[0332] 将上述三乙酸酯 (188mg, 0.49mmol) 溶解在 MeOH (5mL) 中并加入  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (3mg, 0.02mmol), 然后强力搅拌所得混合物1小时。此时, 将混合物过滤并浓缩。通过快速硅胶色谱 ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}, 5:2$ ) 纯化如此得到的粗物质, 得到作为白色泡沫的标题化合物33 (66mg, 产率52%)。

[0333]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  0.74–0.77 (m, 2H), 0.90–0.94 (m, 2H), 2.76–2.80 (m, 1H), 3.52 (dd, 1H,  $J=6.5, 9.0\text{Hz}$ ), 3.65–3.68 (m, 1H), 3.72 (dd, 1H,  $J=6.0, 12.0\text{Hz}$ ), 3.85 (dd, 1H,  $J=2.5, 12.0\text{Hz}$ ), 3.91 (t, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ ), 4.19 (t, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ ), 6.62 (d, 1H,  $J=7.0\text{Hz}$ )。

#### [0334] 实施例18

[0335] 化合物34和35: 二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(2-氟乙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯 (34) 和 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -2-(氟乙基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇 (35)



[0337] 向三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-异硫氰酸根合-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯 (0.54g, 1.39mmol) 在  $\text{CH}_3\text{CN}$  中的搅拌的溶液中滴加纯2-氟乙胺 (0.28g, 2.79mmol)。室温下搅拌反应直到通过TLC反应完成 (3小时)。用最小量的饱和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液 (15mL) 洗涤反应物, 然后用DCM萃取水层3次, 合并有机层, 用  $\text{MgSO}_4$  干燥、过滤并浓缩。通过快速柱色谱在1:1的EtOAc和己烷的溶剂系统中纯化浓缩的混合物, 得到三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-(3-(2-氟乙基) 硫脲基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯 (0.358g, 产率57%)。

[0338]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.23 (t, 2H,  $J=7.3\text{Hz}$ ), 2.02 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 3.85–3.88 (m, 2H), 4.07–4.12 (m, 1H), 4.25 (dd, 1H,  $J=4.6, 12.5\text{Hz}$ ), 4.47–4.53 (m, 1H), 4.54–4.63 (m, 1H), 5.14 (t, 1H,  $J=9.7\text{Hz}$ ), 5.25 (t, 1H,  $J=5.4\text{Hz}$ ), 5.73 (d, 1H,  $J=8.6\text{Hz}$ ), 6.50 (d, 1H,  $J=9.3\text{Hz}$ ), 6.68 (t, 1H,  $J=5.4\text{Hz}$ )。

[0339] 将上述分离产物 (0.276g, 0.61mmol) 溶解在无水DCM中, 滴加  $\text{SnCl}_4$  (0.64g, 2.46mmol)。室温下搅拌反应混合物过夜 (16小时)。用饱和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液猝灭反应直到溶液呈碱性并且不再产生气体。用DCM萃取水层3次。将合并的有机层用  $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤并浓缩。通过快速色谱 (EtOAc) 纯化粗物质, 得到二乙酸 (5R, 6S, 7R) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(2-

氟乙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(34)(0.100g,产率42%)。

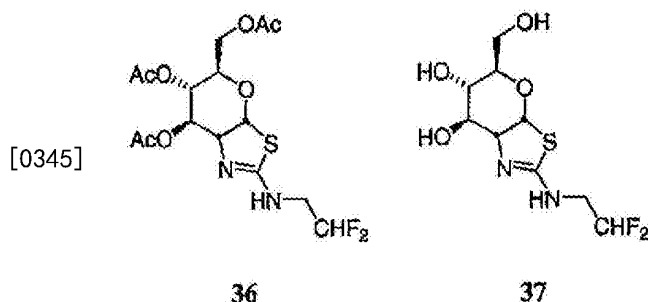
[0340]  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.04 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 3.47–3.66 (m, 2H), 3.7–3.8 (m, 1H), 4.00–4.14 (m, 3H), 4.32 (t, 1H,  $J=6.3\text{Hz}$ ), 4.42–4.46 (m, 1H), 4.52–4.57 (m, 1H), 4.62–4.66 (m, 1H), 4.92 (d, 1H,  $J=9.5\text{Hz}$ ), 5.37 (t, 1H,  $J=3.1\text{Hz}$ ), 6.21 (d, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ )。

[0341] 将二乙酸(5R,6S,7R)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(2-氟乙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(0.074g,0.19mmol)溶解在无水MeOH中。向溶液中加入 $\text{K}_2\text{CO}_3$ 直到呈碱性,室温下搅拌反应1.5小时。过滤反应物,然后在真空下浓缩。通过快速柱色谱利用5:1的DCM和MeOH的溶剂系统纯化粗物质,得到(5R,6S,7R)-2-(2-氟乙基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(35)(0.045g,产率90%)。

[0342]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, : 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  3.47–3.67 (m, 5H), 3.78 (dd, 1H,  $J=2.1, 11.8\text{Hz}$ ), 3.92 (t, 1H,  $J=5.6\text{Hz}$ ), 4.06 (t, 1H,  $J=6.1\text{Hz}$ ), 4.40–4.50 (m, 1H), 4.50–4.56 (m, 1H), 6.31 (d, 1H,  $J=6.4\text{Hz}$ )。  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$  62.02, 69.93, 74.41, 75.15, 81.31, 82.64, 89.84, 89.87, 162.00。

#### [0343] 实施例19

[0344] 化合物36和37:二乙酸(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(2,2-二氟乙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(36)和(3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(2,2-二氟乙基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(37)



[0346] 向三乙酸(2S,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-异硫氰酸根合-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(0.64g,1.63mmol)在 $\text{CH}_3\text{CN}$ 中的搅拌的溶液中滴加纯的2,2-二氟乙胺(0.23g,1.97mmol)。室温下搅拌反应直到通过TLC反应完成(3.5小时)。用最少量的饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液(15mL)洗涤反应物,然后用DCM萃取水层3次,合并有机层,用 $\text{MgSO}_4$ 干燥、过滤并浓缩。通过快速柱色谱在EtOAc和己烷的溶剂系统(分别是1:1,2:1,然后纯EtOAc)中纯化浓缩的混合物,得到三乙酸(2S,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-(3-(2,2-二氟乙基)硫脲基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(0.433g,产率56%)。

[0347]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.99 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 3.83–3.86 (m, 2H), 3.95 (s, 1H), 4.02–4.09 (m, 2H), 4.18–4.23 (m, 1H), 5.05–5.11 (m, 1H), 5.21–5.30 (m, 1H), 5.72 (d, 1H,  $J=8.6\text{Hz}$ ), 5.94 (t, 1H,  $J=56.1\text{Hz}$ ), 6.63–6.73 (m, 2H)。

[0348] 将上述分离的产物(0.320g,0.68mmol)溶解在无水DCM中,滴加 $\text{SnCl}_4$ (0.71g,2.73mmol)。室温下搅拌反应混合物过夜(16小时)。用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液猝灭反应直到溶

液呈碱性并且不再产生气体。用DCM萃取水层3次。将合并的有机层用MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。通过快速色谱(EtOAc:己烷1:1,然后2:1,然后纯EtOAc)纯化粗物质,得到二乙酸(5R,6S,7R)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(2,2-二氟乙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(36)(0.209g,产率75%)。

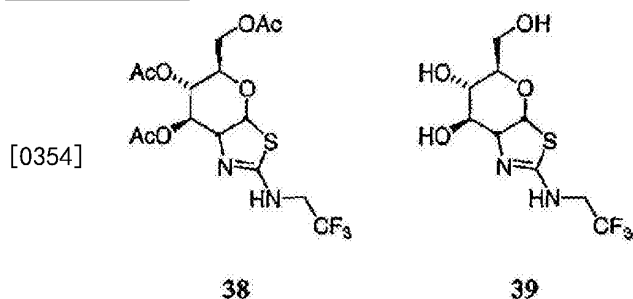
[0349] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.04 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 3.45-3.55 (m, 1H), 3.67-3.77 (m, 2H), 4.06-4.14 (m, 2H), 4.31-4.34 (m, 1H), 4.91-4.93 (d, 1H, J=9.4Hz), 5.27 (s, 1H), 5.35-5.37 (m, 1H), 6.00 (tt, 1H, J=3.7, 57.5Hz), 6.24 (d, 1H, J=6.5Hz) . .

[0350] 将二乙酸(5R,6S,7R)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(2,2-二氟乙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(0.209g, 0.51mmol)溶解在无水MeOH中。向溶液中加入固体K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>直到呈碱性,室温下搅拌反应1.5小时。过滤反应物,然后在真空下浓缩。通过快速柱色谱利用5:1的DCM和MeOH的溶剂系统纯化所得油,得到(5R,6S,7R)-2-(2-氟乙基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(37)(0.106g,产率74%)。

[0351] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 3.26-3.27 (m, 1H), 3.43-3.46 (m, 1H), 3.51-3.56 (m, 2H), 3.58-3.61 (m, 1H), 3.74 (dd, 1H, J=2.3, 11.9Hz), 3.93 (t, 1H, J=5.4Hz), 4.08 (t, 1H, J=6.0Hz), 6.01 (tt, 1H, J=4.3, 56.4Hz), 6.34 (d, 1H, J=6.4Hz). <sup>13</sup>C NMR (125MHz, 甲醇-d<sub>4</sub>) δ 58.84, 69.85, 74.23, 75.17, 90.09, 114.19 (t, J<sub>C-F</sub>=241Hz), 161.92.

#### [0352] 实施例20

[0353] 化合物38和39: 二乙酸(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(2,2,2-三氟乙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(38)和(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(羟基甲基)-2-(2,2,2-三氟乙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(39)



[0355] 向三乙酸(2S,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-异硫氰酸基-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(0.56g, 1.44mmol)在CH<sub>3</sub>CN中的搅拌的溶液中滴加纯2,2,2-三氟乙胺(0.236g, 1.74mmol)。室温下搅拌反应直到通过TLC反应完成(3小时)。用饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(15mL)猝灭反应。然后用DCM萃取水层3次。合并有机层,用MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩。通过快速柱色谱在1:1的EtOAc和己烷的溶剂系统中纯化浓缩的混合物,得到三乙酸(2S,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-(3-(2,2,2-三氟乙基)硫脲基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(0.576g,产率81%)。

[0356] <sup>1</sup>H NMR (500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.00 (6H, s), 2.04 (s, 3H), 3.87-3.90 (m, 1H), 4.03-4.11 (m, 1H), 4.20-4.26 (m, 2H), 4.36 (s, 1H), 5.07 (t, 1H, J=9.6Hz), 5.27 (t, 1H, J=9.8Hz), 5.73 (d, 1H, J=8.5Hz), 6.75 (s, 2H) .

[0357] 将上述分离的产物(0.576g, 1.18mmol)溶解在无水DCM中,滴加 $\text{SnCl}_4$ (1.23g, 4.72mmol)。室温下搅拌反应混合物过夜(16小时)。用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液猝灭反应直到溶液呈碱性并且不再产生气体。用DCM萃取水层3次。将合并的有机层用 $\text{MgSO}_4$ 干燥,过滤并浓缩。通过快速色谱(EtOAc:己烷1:1,然后2:1)纯化粗物质,得到二乙酸(5R,6S,7R)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(2,2,2-三氟乙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(38)(0.328g,产率65%)。

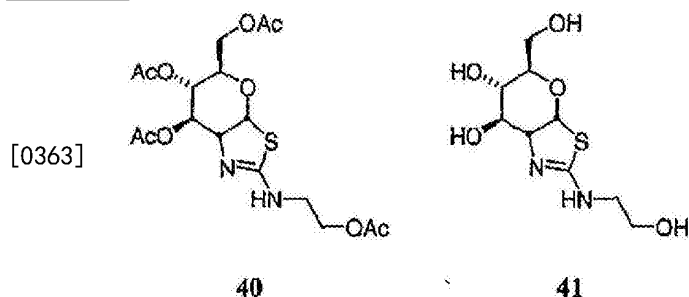
[0358]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 2.00 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 3.71-4.75 (m, 1H), 3.77-3.84 (m, 1H), 3.99-4.11 (m, 3H), 4.29-4.31 (m, 1H), 4.87 (d, 1H,  $J=10.4\text{Hz}$ ), 5.33-5.34 (m, 1H), 6.58 (d, 1H,  $J=6.6\text{Hz}$ )。

[0359] 将二乙酸(5R,6S,7R)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(2,2,2-三氟乙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(0.328g, 0.776mmol)溶解在无水MeOH中。向溶液中加入固体 $\text{K}_2\text{CO}_3$ 直到呈碱性,然后室温下搅拌反应1小时。过滤反应物,然后在真空下浓缩。通过快速柱色谱利用5:1的DCM和MeOH的溶剂系统纯化最终反应混合物,得到(5R,6S,7R)-5-(羟基甲基)-2-(2,2,2-三氟乙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(39)(0.110g,产率47%)。

[0360]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$ 3.47-3.50 (m, 1H), 3.61-3.69 (m, 2H), 3.81 (d, 1H,  $J=11.8\text{Hz}$ ), 3.92 (m, 3H), 4.03 (s, 1H), 4.10 (q, 1H,  $J=6.9\text{Hz}$ ), 6.35 (d, 1H,  $J=6.0\text{Hz}$ )。  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz, 甲醇- $\text{d}_4$ )  $\delta$ 61.94, 69.79, 74.31, 75.35, 123.82, 126.04, 175.25, 225.56。

#### [0361] 实施例21

[0362] 化合物40和41:二乙酸(3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(2-乙酰氧基乙基氨基)-5-(乙酰氧基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(40)和(3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(2-羟基乙基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(41)



[0364] 向三乙酸(2S,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-异硫氰酸根合-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(500mg, 1.3mmol)在 $\text{CH}_3\text{CN}$ (10mL)中的搅拌溶液中添加2-氨基乙基乙酸酯三氟乙酸酯(2-aminoethyl acetate trifluoroacetate)(600mg, 3mmol)和三乙胺(0.5mL, 3.5mmol)。室温下搅拌反应混合物1小时。用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (50mL)稀释溶液,用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液(20mL)洗涤,将有机萃取物干燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )并浓缩。通过快速硅胶色谱(己烷/EtOAc, 1:1)纯化残留物,得到白色泡沫的三乙酸(2S,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-(3-(2-乙酰氧基乙基)硫脲基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(580mg,产率92%)。

[0365]  $^1\text{H}$  NMR (600MHz,  $\text{DMSO}-\text{d}_6$ )  $\delta$ 2.06 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 3.66-3.80 (m, 2H), 3.85 (ddd, 1H,  $J=2.5, 4.5, 9.0\text{Hz}$ ), 4.14 (dd, 1H,  $J=2.0$ ,

12.5Hz), 4.22 (dd, 1H, J=5.0, 5.0Hz), 4.29 (dd, 1H, J=4.5, 12.5Hz), 4.65-4.75 (m, 1H), 5.13-5.22 (m, 2H), 5.73 (d, 1H, J=8.5Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ 20.82, 20.86, 20.98, 21.04, 21.19, 40.51, 57.21, 61.85, 62.75, 68.25, 71.84, 73.12, 92.65, 169.34, 169.73, 170.13, 170.49, 170.77, 184.26.

[0366] 将上述硫脲 (300mg, 0.35mmol) 溶解在  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5mL) 中, 加入 TFA (0.4mL, 5.4mmol), 然后室温下搅拌所得混合物 5 小时。用饱和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液 (20mL) 稀释溶液, 然后用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3  $\times$  10mL) 萃取所得混合物, 将合并的有机萃取物干燥 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) 并浓缩, 得到作为无色油的二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(2-乙酰氧基乙基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯 (40) (248mg, 产率 93%)。对于下一步反应而言, 该物质是足够纯的。

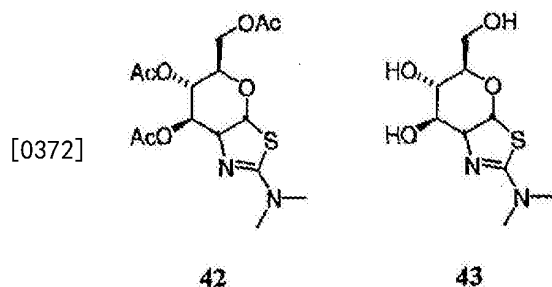
[0367]  $^1\text{H}$  NMR (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 2.11 (s, 9H), 2.14 (s, 3H), 3.52 (ddd, 1H, J=4.2, 7.2, 14.0Hz), 3.63 (ddd, 1H, J=3.6, 4.2, 14.0Hz), 3.83 (ddd, 1H, J=3.0, 5.5, 9.0Hz), 4.13-4.18 (m, 2H), 3.63 (ddd, 1H, J=3.6, 4.2, 11.0Hz), 4.31 (ddd, 1H, J=4.2, 7.2, 11.0Hz), 4.38 (dd, 1H, J=3.5, 6.6Hz), 4.97 (dd, 1H, J=5.5, 9.0Hz), 5.44 (dd, 1H, J=3.5, 5.5Hz), 6.26 (d, 1H, J=6.6Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 20.81, 20.86, 20.91, 21.03, 43.34, 62.72, 63.27, 68.51, 69.08, 71.71, 72.69, 89.98, 159.71, 169.53, 169.75, 170.68, 171.04.

[0368] 将上述三乙酸酯 (195mg, 0.45mmol) 溶解在 MeOH (10mL) 中并加入  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (10mg, 0.07mmol)。室温下搅拌所得混合物 1 小时。将混合物浓缩, 然后用  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (9mL) 稀释, 然后倒入硅胶柱的顶部。洗脱柱 (MeOH/EtOAc 1:1), 得到作为无色油的标题化合物 41 (105mg, 产率 88%)。

[0369]  $^1\text{H}$  NMR (600MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 3.35 (dd, 1H, J=4.8, 6.0Hz), 3.40-3.45 (m, 1H), 3.49 (dd, 1H, J=5.4, 9.0Hz), 3.61-3.69 (m, 4H), 3.79 (dd, 1H, J=1.8, 11.4Hz), 3.95 (dd, 1H, J=5.4, 5.4Hz), 4.08 (dd, 1H, J=6.0, 6.0Hz), 6.32 (d, 1H, J=6.0Hz).  $^{13}\text{C}$  NMR (150MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 47.21, 62.08, 63.36, 71.25, 75.62, 75.72, 76.32, 91.11, 163.68.

#### [0370] 实施例 22

[0371] 化合物 42 和 43: 二乙酸 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -5-(乙酰氧基甲基)-2-(二甲基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯 (42) 和 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR) -2-(二甲基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇 (43)



[0373] 向三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-(乙酰氧基甲基)-3-异硫氰酸根合-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯 (0.51g, 1.32mmol) 在  $\text{CH}_3\text{CN}$  中的搅拌的溶液中添加固体二甲基胺盐酸盐。室温下搅拌反应直到通过 TLC 反应完成 (1 小时)。用最小量的饱和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液 (15mL) 洗涤反应物, 然后用 DCM 萃取水层 3 次。合并有机层, 用  $\text{MgSO}_4$  干燥, 过滤并浓缩。通过快速柱色谱在 1:1 的 EtOAc 和己烷溶剂的系统中纯化浓缩的混合物, 得到三乙酸 (2S, 3R, 4R, 5S, 6R) -6-

(乙酰氧基甲基)-3-(3,3-二甲基硫脒基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(0.51g,产率91%)。

[0374]  $^1\text{H}$  NMR(500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 2.00(s, 3H), 2.02(s, 3H), 2.06(s, 3H), 2.08(s, 3H), 3.17(s, 6H), 3.79-3.82(m, 1H), 4.06-4.13(m, 1H), 4.22(dd, 1H,  $J=4.7, 12.5\text{Hz}$ ), 5.16-5.24(m, 2H), 5.31(dd, 1H,  $J=9.4\text{Hz}$ ), 5.72(d, 1H,  $J=9.2\text{Hz}$ ), 5.77(d, 1H,  $J=8.4\text{Hz}$ )。

[0375] 将上述分离的产物(0.51g, 1.17mmol)溶解在DCM中。向该溶液中加入三氟乙酸(1.0g, 8.76mmol), 然后搅拌反应过夜(16小时)。用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液(20mL)猝灭反应。用DCM萃取水层3次, 将合并的有机层用 $\text{MgSO}_4$ 干燥, 过滤并浓缩。通过快速柱色谱(EtOAc:己烷, 1:1)纯化浓缩的混合物, 得到二乙酸(5R, 6S, 7R)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(二甲基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(42)(0.19g, 产率42%)。

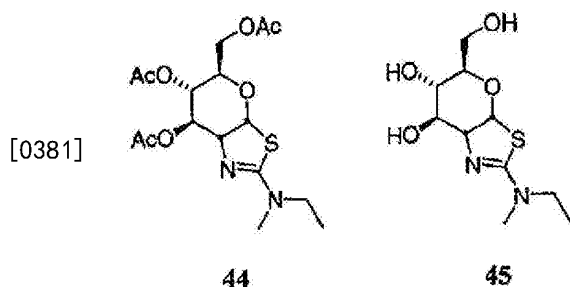
[0376]  $^1\text{H}$  NMR(500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 1.99(s, 3H), 2.00(s, 3H), 2.02(s, 3H), 3.10(s, 6H), 3.90-3.94(m, 1H), 4.00-4.16(m, 2H), 4.42(t, 1H,  $J=6.1\text{Hz}$ ), 4.92(dd, 1H,  $J=5.1, 9.5\text{Hz}$ ), 5.32(t, 1H,  $J=5.3\text{Hz}$ ), 6.35(d, 1H,  $J=6.7\text{Hz}$ )。  $^{13}\text{C}$  NMR(125MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 14.28, 20.80, 41.62, 50.22, 60.60, 62.53, 66.08, 67.65, 70.15, 71.15, 88.07, 88.12, 167.37, 169.77, 170.27, 170.86。

[0377] 将上述分离的产物(0.185g, 0.494mmol)溶解在无水MeOH中。向溶液中加入 $\text{K}_2\text{CO}_3$ 直到呈碱性并在室温下搅拌反应1.5小时。过滤反应物, 然后在真空下浓缩。通过快速柱色谱利用5:1的DCM和MeOH的溶剂系统纯化最终反应混合物, 得到(5R, 6S, 7R)-2-(二甲基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(43)(0.092g, 产率75%)。

[0378]  $^1\text{H}$  NMR(500MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 3.04(s, 6H), 3.48(dd, 1H,  $J=6.0\text{Hz}$ ), 3.62-3.69(m, 2H), 3.81(d, 1H,  $J=11.7\text{Hz}$ ), 3.87(t, 1H,  $J=6.1\text{Hz}$ ), 4.07(t, 1H,  $J=6.3\text{Hz}$ ), 6.38(d, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ )。  $^{13}\text{C}$  NMR(125MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$ 39.23, 69.80, 69.52, 73.43, 73.52, 74.51, 79.39, 90.67, 161.87, 165.33。

#### [0379] 实施例23

[0380] 化合物44和45: 二乙酸(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(乙基(甲基)氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(44)和(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-2-(乙基(甲基)氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(45)



[0382] 向三乙酸(2S, 3R, 4R, 5S, 6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-异硫氰酸根合-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(1.10g, 2.8mmol)在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (10mL)中的搅拌的溶液中滴加纯的乙基(甲基)胺(310 $\mu\text{L}$ , 3.6mmol)。室温下搅拌混合物1小时。浓缩除去溶剂。通过快速硅胶色谱(己烷/EtOAc, 1:1)纯化残留物, 得到作为白色泡沫的三乙酸(2S, 3R, 4R, 5S, 6R)-6-(乙酰氧基甲

基)-3-(3-乙基-3-甲基硫脒基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(1.09g,产率86%)。

[0383]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.15 (t, 3H,  $J=7.0\text{Hz}$ ), 2.05 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 3.74-3.81 (m, 3H), 4.16 (dd, 1H,  $J=2.0, 12.5\text{Hz}$ ), 4.27 (dd, 1H,  $J=4.5, 12.5\text{Hz}$ ), 5.14 (t, 1H,  $J=10.0\text{Hz}$ ), 5.26 (t, 1H,  $J=10.0\text{Hz}$ ), 5.34-5.40 (m, 2H), 5.78 (d, 1H,  $J=8.0\text{Hz}$ )。

[0384] 将上述硫脒(155mg, 0.35mmol)溶解在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1.5mL)中,加入TFA (20 $\mu\text{L}$ , 2.63mmol)。然后在室温下搅拌所得混合物16小时。用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液(20mL)稀释溶液,然后用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 $\times$ 10mL)萃取所得混合物,将合并的有机萃取物干燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )并浓缩,得到作为浅黄色泡沫的二乙酸(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(乙基(甲基)氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(44)(134mg,产率100%)。对于下一步反应而言,该物质是足够纯的。

[0385]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz)  $\delta$  1.16 (t, 3H,  $J=7.0\text{Hz}$ ), 2.06 (s, 3H), 2.08 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.98 (s, 3H), 3.24-3.31 (m, 1H), 3.39-3.45 (m, 1H), 3.83-3.86 (m, 1H), 4.14 (d, 2H,  $J=4.5\text{Hz}$ ), 4.34 (dd, 1H,  $J=4.5, 6.5\text{Hz}$ ), 4.93 (dd, 1H,  $J=3.0, 10.0\text{Hz}$ ), 5.40 (dd, 1H,  $J=3.0, 4.5\text{Hz}$ ), 6.21 (d, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ )。

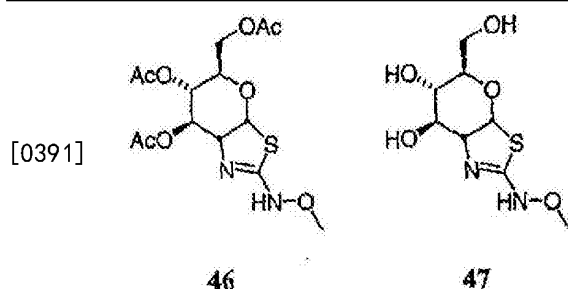
[0386] 将上述三乙酸酯(134mg, 0.35mmol)溶解在MeOH (2.0mL)中,然后加入 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (72mg, 0.52mmol)。室温下搅拌所得混合物2小时。用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (9mL)稀释混合物,然后倒入碱性 $\text{Al}_2\text{O}_3$  (1g)柱的顶部。用在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中的10~25% MeOH洗脱所述柱,得到白色固体的标题化合物45 (57.4mg,产率57%)。

[0387]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.07 (t, 3H,  $J=7.0\text{Hz}$ ), 2.88 (s, 3H), 3.21-3.28 (m, 2H), 3.58-3.60 (m, 2H), 3.67-3.73 (m, 2H), 3.79 (dd, 1H,  $J=3.5, 7.0\text{Hz}$ ), 3.88 (t, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ ), 4.07 (t, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ ), 4.60 (br s, 3H), 6.28 (d, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ )。  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  11.88, 35.70, 46.93, 60.82, 68.02, 73.03, 73.76, 74.02, 90.19, 162.40。MS (EI):  $m/z$  263 ( $M+1$ )。针对 $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ 的分析计算值:C, 45.79;H, 6.92;N, 10.68;

[0388] 实测值:C, 46.01;H, 7.18;N, 10.46。

#### [0389] 实施例24

[0390] 化合物46和47:二乙酸(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(甲氧基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(46)和(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(羟基甲基)-2-(甲氧基氨基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(47)



[0392] 向甲氧基胺盐酸盐(180mg, 2.16mmol)在乙腈(7mL)中的混悬液中添加三乙酸(2S, 3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-异硫氰酸基-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(560mg, 1.44mmol),之后加入三乙胺(300 $\mu\text{L}$ , 2.16mmol)。室温下搅拌混合物2小时。浓缩除去溶剂。

通过快速硅胶色谱(己烷/EtOAc, 1:1)纯化残留物, 得到白色固体的三乙酸(2S, 3R, 4R, 5S, 6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-(3-甲氧基硫脒基)-四氢-2H-吡喃-2, 4, 5-三基酯(545mg, 产率87%)。

[0393]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.05 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.10 (s, 6H), 2.13 (s, 3H), 3.67 (s, 3H), 3.82-3.85 (m, 1H), 4.15 (dd, 1H,  $J=2.5, 12.5\text{Hz}$ ), 4.28 (dd, 1H,  $J=4.5, 12.5\text{Hz}$ ), 5.03 (dd, 1H,  $J=10.0, 13.0\text{Hz}$ ), 5.20-5.30 (m, 2H), 5.84 (d, 1H,  $J=8.5\text{Hz}$ ), 7.01 (d, 1H,  $J=10.0\text{Hz}$ )。

[0394] 将上述硫脒(210mg, 0.48mmol)溶解在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2mL)中, 加入TFA (180 $\mu\text{L}$ , 2.41mmol)。在室温下搅拌所述混合物16小时。用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液(10mL)稀释溶液, 用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 $\times$ 10mL)萃取, 将合并的有机萃取物干燥( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )并浓缩得到粗产物。通过硅胶柱利用1:1的己烷/EtOAc洗脱该粗产物, 得到作为白色泡沫的二乙酸(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-(甲氧基氨基)-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯(46) (122mg, 产率67%)。 $^1\text{H}$  NMR谱显示其为旋转异构体(rotamer)的约1:1的混合物。

[0395]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz)  $\delta$  2.05 (s, 3H), 2.07 (s, 3H), 2.08 (s, 6H), 2.09 (s, 3H), 2.11 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.88 (t, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ ), 3.99 (td, 1H,  $J=6.5, 1.5\text{Hz}$ ), 4.11-4.14 (m, 2H), 4.23-4.31 (m, 4H), 4.98 (d, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ ), 5.00 (d, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ ), 5.16 (d, 1H,  $J=7.0\text{Hz}$ ), 5.19 (d, 1H,  $J=5.5\text{Hz}$ ), 5.20 (br s, 1H), 5.60 (brs, 1H), 6.10 (d, 1H,  $J=6.5\text{Hz}$ ), 6.16 (d, 1H,  $J=6.0\text{Hz}$ )。

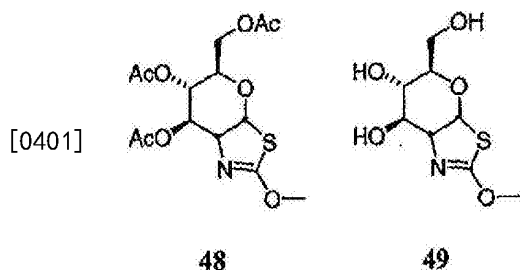
[0396] 将上述三乙酸酯(63mg, 0.17mmol)溶解在MeOH (1.0mL)中, 然后加入 $\text{K}_2\text{CO}_3$  (54mg, 0.39mmol)。室温下搅拌所得混合物30分钟。用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (9mL)稀释混合物, 然后倒入硅胶柱的顶部。用在 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中的5~15% MeOH洗脱所述柱, 得到白色固体的标题化合物47 (40mg, 产率95%)。 $^1\text{H}$  NMR谱显示其为旋转异构体的约2:1的混合物。

[0397]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  3.35-3.41 (m, 1H), 3.54-3.85 (m, 5H), 3.65 (s, 1H), 3.69 (s, 2H), 6.16 (d, 0.34H,  $J=6.0\text{Hz}$ ), 6.31 (d, 0.66H,  $J=6.0\text{Hz}$ )。  $^{13}\text{C}$  NMR (125MHz,

[0398] 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  60.65, 60.76, 61.14, 61.73, 62.45, 68.75, 68.88, 74.18, 74.83, 75.33, 75.66, 84.21, 84.70, 94.99, 157.65, 160.96. MS (CI):  $m/z$  251 (M+1)。针对 $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ 的分析计算值: C, 38.39; H, 5.64; N, 11.19; 实测值: C, 38.20; H, 5.89; N, 11.06。

#### [0399] 实施例25

[0400] 化合物48和49: 二乙酸(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-甲氧基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二基酯(48)和(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-甲氧基-5, 6, 7, 7a-四氢-3aH-吡喃并[3, 2-d]噻唑-6, 7-二醇(49)



[0402] 加热回流三乙酸(2S, 3R, 4R, 5S, 6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-异硫氰酸根合-四氢-2H-吡喃-2, 4, 5-三基酯(1.0g, 2.57mmol)在无水甲醇(10mL)中的溶液。1小时后通过TLC确



定反应完成。在真空下除去溶剂。然后通过快速硅胶柱色谱利用3:1的己烷/EtOAc的溶剂系统纯化所述产物,得到三乙酸(2R,3R,4R,5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)-3-(甲氧基羰基亚硫酰基氨基)-四氢-2H-吡喃-2,4,5-三基酯(1.0g,产率92%),为浅黄色的浆。

[0403]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.11 (s, 3H), 2.12 (s, 6H), 3.81 (ddd, 1H), 3.95 (s, 3H), 4.1 (m, 2H), 4.31 (m, 1H), 5.17 (m, 2H), 5.73 (d, 1H,  $J=8.6\text{Hz}$ ), 6.21 (d, 1H,  $J=10.0\text{Hz}$ ) .

[0404] 将上述硫代氨基甲酸酯(1.0g, 2.37mmol)溶解在无水 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL)中,并滴加 $\text{SnCl}_4$  (2.47g, 9.49mmol)。室温下搅拌反应混合物过夜(16小时)。用饱和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液猝灭反应直到溶液为碱性并且不再产生气体。用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 萃取水层3次。将合并的有机层用 $\text{MgSO}_4$ 干燥,过滤并浓缩。通过快速色谱(EtOAc/己烷, 1:1)纯化粗物质,得到二乙酸(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(乙酰氧基甲基)-2-甲氧基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二基酯(48) (0.65g, 产率76%),为澄清的油。

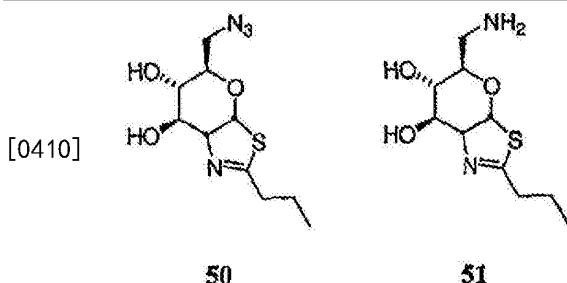
[0405]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.08 (s, 3H), 2.09 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 3.89 (ddd, 1H,  $J=3.7, 4.6, 9.8\text{Hz}$ ), 3.92 (s, 3H), 4.12 (m, 2H), 4.36 (ddd, 1H,  $J=1.0, 4.0, 6.9\text{Hz}$ ), 4.96 (ddd, 1H,  $J=1.0, 2.9, 9.4\text{Hz}$ ), 5.40 (dd, 1H,  $J=2.9, 4.0\text{Hz}$ ), 6.30 (d, 1H,  $J=6.9\text{Hz}$ ) .

[0406] 依照一般步骤C,将上述所得的物质转化为标题化合物49,然后在纯化后将其分离得到无色油(0.33g, 产率78%)。在此情形下,利用快速硅胶色谱(EtOAc)进行纯化。

[0407]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 甲醇- $d_4$ )  $\delta$  3.45 (dd, 1H,  $J=5.5, 9.2\text{Hz}$ ), 3.56 (ddd, 1H,  $J=1.8, 8.7, 9.3\text{Hz}$ ), 3.62 (dd, 1H,  $J=6.1, 11.8\text{Hz}$ ), 3.75 (dd, 1H,  $J=1.7, 11.8\text{Hz}$ ), 3.84 (dd, 1H,  $J=5.7, 5.8\text{Hz}$ ), 3.86 (s, 3H), 4.07 (dd, 1H,  $J=6.2, 6.4\text{Hz}$ ), 6.39 (d, 1H,  $J=6.7\text{Hz}$ ) .

[0408] 实施例26

[0409] 化合物50和51: (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(叠氮基甲基)-2-丙基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(50)和(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(氨基甲基)-2-丙基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(51)



[0411] 将(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-丙基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二-醇(200mg, 0.81mmol)溶解在吡啶(2mL)和 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2mL)中并冷却至 $0^\circ\text{C}$ 。然后加入对甲苯磺酰氯(230mg, 1.2mmol),并使溶液温热至室温1小时以上。用 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10mL)稀释混合物并用水( $2 \times 5\text{mL}$ )洗涤,干燥( $\text{MgSO}_4$ )、过滤并浓缩。将所得无色残留物(280mg)吸收到DMF (3mL)中,加入 $\text{NaN}_3$  (158mg, 2.4mmol)。在 $55^\circ\text{C}$ 搅拌所得混合物2天。浓缩混合物得到残留物,将其吸收到 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20mL)中并用水洗涤( $2 \times 5\text{mL}$ ),干燥( $\text{MgSO}_4$ )、过滤并浓缩。对所述残留物进行快速硅胶色谱( $\text{MeOH}:\text{EtOAc}$ , 1:9),得到180mg(产率为82%)作为无色油的(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(叠氮基甲基)-2-丙基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(50)。

[0412]  $^1\text{H}$  NMR (500MHz, 甲醇- $d_4$ ) :  $\delta$  0.98 (t, 3H,  $J=7.3\text{Hz}$ ), 1.63-1.67 (m, 2H), 2.46-2.50

(m, 2H), 3.33 (m, 1H), 3.54 (dd, 1H,  $J=4.3, 9.5\text{Hz}$ ), 3.44 (dd, 1H,  $J=2.3, 12.0\text{Hz}$ ), 3.55 (dd, 1H,  $J=6.2, 12.0\text{Hz}$ ), 4.06 (dd, 1H,  $J=4.4, 4.6\text{Hz}$ ), 4.29 (m, 1H,  $J=4.3\text{Hz}$ ), 6.31 (d, 1H,  $J=6.9\text{Hz}$ ).

[0413] 将上述得到的叠氮化物 (200mg, 0.81mmol) 溶解在3:1的THF:H<sub>2</sub>O (5mL) 中, 加入三苯基膦 (310mg, 1.2mmol)。然后室温下搅拌溶液过夜。浓缩混合物, 之后对所得残留物在硅胶上进行快速色谱 (MeOH:EtOAc, 2:3), 得到130mg (产率为75%) 作为无色油的 (3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(氨基甲基)-2-丙基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇 (51)。当以纯物质在0℃储存7天时, 观察到该物质随时间慢慢降解。

[0414] <sup>1</sup>H NMR (500MHz: 甲醇-d<sub>4</sub>): δ 0.97 (t, 3H,  $J=7.4\text{Hz}$ ), 1.63-1.67 (m, 2H), 2.43-2.49 (m, 2H), 3.39 (ddd, 1H,  $J=2.5, 4.1, 9.0\text{Hz}$ ), 3.51 (dd, 1H,  $J=4.1, 9.5\text{Hz}$ ), 3.64 (dd, 1H,  $J=2.5, 12.5\text{Hz}$ ), 3.75 (dd, 1H,  $J=6.1, 12.5\text{Hz}$ ), 4.04 (dd, 1H,  $J=4.4, 4.5\text{Hz}$ ), 4.28 (m, 1H), 6.35 (d, 1H,  $J=7.0\text{Hz}$ ).

#### [0415] 实施例27

##### [0416] 用于确定抑制O-GlcNAc酶活性的K<sub>I</sub>值的测定

[0417] 动力学分析的实验步骤: 在PBS缓冲液 (pH7.4) 中利用pNP-GlcNAc作为底物 (0.5mM) 进行酶反应, 并用配备Peltier温度控制器的Cary 3E紫外可见分光光度计于37℃和400nm处连续监测。将反应物在500μL石英比色皿中预热约5分钟, 之后通过注射器加入10μL酶 (最终酶浓度为0.002mg/ml)。通过第一分钟和第三分钟之间的反应进程曲线的线性区域的线性回归测定反应速率。在每个情况下使用1/5至5倍K<sub>I</sub>的抑制剂浓度范围。

[0418] 当在上述测定中进行检测时, 本文实施例中所述的许多化合物表现出在1nM~50μM范围内的抑制O-GlcNAc酶的K<sub>I</sub>值。例如, 表4中所示的抑制O-GlcNAc酶的K<sub>I</sub>值由化合物2、4和6所得到。所有K<sub>I</sub>值均是利用Dixon作图的线性回归测定的。

[0419] 表4: O-GlcNAc酶的抑制常数

[0420]	2	10
	4	7.7
	6	5.6

#### [0421] 实施例28

##### [0422] 用于确定抑制β-氨基己糖苷酶活性的K<sub>I</sub>值的测定

[0423] 动力学分析的实验步骤: 于37℃利用终止测定法 (stopped assay) 通过测量所释放的4-硝基苯酚的量 (通过在400nm处的吸光度测量值所确定) 一式三份进行所有的酶测定。通过注射器添加酶 (3μL) 启动反应 (50μL)。β-氨基己糖苷酶的时间依赖性测定表明所述酶于检测期间在缓冲液中是稳定的: 50mM柠檬酸盐、100mM NaCl、0.1% BSA, pH4.25。β-氨基己糖苷酶的使用浓度为0.036mg/mL, 作为底物的pNP-GlcNAc的使用浓度为0.5mM。以5至1/5倍K<sub>I</sub>范围内的5个浓度测试抑制剂。通过来自Dixon作图的数据的线性回归测定K<sub>I</sub>值。

[0424] 当在上述测定中进行检测时, 本文实施例中所述的许多化合物表现出在5μM~10mM范围内的抑制β-氨基己糖苷酶的K<sub>I</sub>值。

[0425] 相对于β-氨基己糖苷酶的抑制O-GlcNAc酶的选择性比率定义如下:

[0426]  $K_I(\beta\text{-氨基己糖苷酶})/K_I(\text{O-GlcNAc酶})$

[0427] 一般而言,本文实施例中所述的化合物表现出约1000至100000范围的选择性比率。例如,与表3的化合物相比较而言,本文实施例中所述的多种化合物表现出对O-GlcNAc酶的更高选择性。因此,本发明的化合物表现出相对于 $\beta$ -氨基己糖苷酶的对O-GlcNAc酶抑制的高选择性。

[0428] 实施例29

[0429] 大鼠脑和肌肉O-GlcNAc水平的剂量依赖性升高

[0430] 测量了静脉内(IV)施用(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(羟基甲基)-2-丙基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(化合物54,下文称为NAG-Bt)对Sprague-Dawley大鼠脑和肌肉组织中O-GlcNAc修饰水平的影响。动物得自Charles-River,为5周龄的健康雄性Sprague-Dawley大鼠。使动物适应1周,于第六周龄开始进行适当的处理。通过尾静脉对8只动物注射不同浓度的NAG-Bt或单独的载体(PBS);NAG-Bt的剂量包括0、2、5、10、25、50、100和250mg/kg。7小时后处死动物,尽可能快地取出动物组织以将死后延迟(post-mortem delay)降到最低程度。立即将组织冷冻在液氮中并贮存在-80℃备用。组织匀浆如下进行:通过手工研磨,之后利用组织匀浆器(IKA)于4℃在细胞裂解缓冲液(50mM Tris, pH8.0, 1mM PMSF, 0.1%NP-40, 1mM NAG-Bt)中进行匀浆。于17,900×g和4℃下离心20分钟除去不溶解的细胞碎片,将所得上清液贮存于-20℃备用。

[0431] 如前所述利用抗-O-GlcNAc抗体(CTD110.6;Covance)和抗-肌动蛋白抗体对由此到得的样品进行Western印迹<sup>106</sup>。通过SDS-PAGE分离利用NAG-Bt或单独载体处理之动物的等量匀浆后脑和肌肉组织,之后用所述抗 $\alpha$ -O-GlcNAc第一抗体和抗IgM小鼠IgG-HRP缀合物进行探测。所得Western印迹显示在图1A-F中,清楚地表明脑和肌肉组织中O-GlcNAc水平呈剂量依赖性升高。图1C和1D是上图(图1A和1B)中所加载样品利用抗- $\beta$ -肌动蛋白mAb克隆AC-40、之后利用抗小鼠IgG-HRP缀合物进行探测的Western印迹,表明样品加载量相等。通过对Western印迹结果的光密度测定分析(图1E-F)表明,与对肌肉组织的作用(相比于基线,O-GlcNAc水平升高约10倍)相比较而言,在250mg/kg剂量下对脑组织的影响更显著(相比于基线,O-GlcNAc水平升高约25倍)。这些结果证实,通过静脉内施用NAG-Bt来升高脑和肌肉O-GlcNAc水平存在剂量-效应关系,在所用条件下,脑中出现可观察小于的所需最小静脉内剂量是约5mg/kg。

[0432] 实施例30

[0433] 大鼠脑tau磷酸化水平的降低

[0434] 测量了口服施用NAG-Bt对Sprague-Dawley大鼠脑组织中tau磷酸化水平的作用。所有动物均得自Charles-River,为5周龄的健康雄性Sprague-Dawley大鼠。使动物适应1周,于第六周龄开始进行适当的处理。给4只动物喂食含有100mg/kg/天的NAG-Bt的食物5天。给另外4只动物喂食不含抑制剂的食物作为对照。第5天结束时,动物被禁食11小时,然后接受含有NAG-Bt的食物的4只动物各自通过尾静脉注射50mg/kg NAG-Bt。所有动物再禁食5小时,然后将其处死,取出脑,贮存并如实施例29所述进行处理。

[0435] 如前所述利用抗-O-GlcNAc抗体(CTD110.6;Covance)和抗-肌动蛋白抗体对由此得到的样品进行Western印迹<sup>106</sup>。对于Tau印迹而言,根据制造商说明书使用pS199、pS214、pS217、pS262、pS396和pS422(Biosource)、Tau-5(Lab Vision;非PTM依赖性tau抗体)、Tau-1(Chemicon;对非磷酸化的Ser195、Ser198、Ser199和Ser202具有选择性)以及pS404

(Sigma) 抗体。通过SDS-PAGE分离利用或未利用NAG-Bt进行处理之动物的等量匀浆化脑组织,之后用各自的第一抗体和合适的第二抗体(适当的,抗小鼠或抗兔IgG-HRP缀合物)进行探测。所得Western印迹显示在图2A-I中,表明在利用NAG-Bt处理之后脑中多个位点的tau磷酸化降低。标记“+”的泳道表示来自接受NAG-Bt的动物的样品,而标记“-”的泳道表示来自接受单独载体的动物的样品。被处理的动物表明Tau-1表位(包括Ser195、Ser198、Ser199和Ser202)、Ser199、Ser262、Ser396、Ser422和Thr231处的磷酸化降低;利用Tau-5第一抗体探测的脑裂解物显示样品加载量相等。利用NAG-Bt的处理升高了Ser214和Ser404处的磷酸化,该结果与利用非选择性O-GlcNAc酶抑制剂在培养细胞中所观察到的一致<sup>16</sup>。给予NAG-Bt基本上阻滞了涉及tau的毒性自组装的两个至关重要的位点(Thr231和Ser396)的磷酸化<sup>116,117</sup>。这些数据证实了口服施用NAG-Bt具有总体上降低脑中tau磷酸化水平的作用。

[0436] 实施例31

[0437] 大鼠心脏O-GlcNAc水平的升高

[0438] 测量了静脉内(IV)施用(3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(乙基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(化合物25,下文称为NAG-AE)对Sprague-Dawley大鼠心脏组织中O-GlcNAc水平的作用。动物得自Charles-River,为5周龄的健康雄性Sprague-Dawley大鼠。使动物适应1周,于第六周龄开始进行适当的处理。通过尾静脉对9只动物注射50mg/kg NAG-AE;注射之后,分别在下述每个时间点处死1只动物:0、1、2、4、7、10、13、16和20小时。此外,给1只动物注射载体(PBS-pH7.4)并于2小时后处死作为对照。尽可能快地取出处死动物的组织以将死后延迟降到最低程度。立即将每只动物的心脏冷冻在液氮中并贮存在-80℃备用。如下进行匀浆:通过手工研磨心脏组织之后利用组织匀浆器(IKA)于4℃在细胞裂解缓冲液(50mM Tris,pH8.0,1mM PMSF,0.1%NP-40,1mM NAG-Bt)中进行匀浆。于17,900×g和4℃下离心20分钟除去不溶解的细胞碎片,将所得上清液贮存于-20℃备用。

[0439] 如前所述利用抗-O-GlcNAc抗体(CTD110.6;Covance)和抗-肌动蛋白抗体对由此得到的样品进行Western印迹<sup>106</sup>。通过SDS-PAGE分离利用NAG-AE处理不同时间段的动物的等量匀浆化心脏组织,之后用所述抗-O-GlcNAc第一抗体和抗IgM小鼠IgG-HRP缀合物进行探测。所得Western印迹显示在图3A-B中,清楚地表明心脏组织中O-GlcNAc水平呈剂量依赖性升高,其中在4至13小时之间出现最大效应。图3B显示上图(图3A)中所加载样品利用抗-β-肌动蛋白mAb克隆AC-40随后利用抗小鼠IgG-HRP缀合物进行探测的Western印迹,表明样品加载量相等。这些结果证实,通过静脉内施用NAG-AE导致心脏O-GlcNAc水平升高。本发明的其它化合物的表现与NAG-AE相似。

[0440] 实施例32

[0441] 转基因P301L JNPL3小鼠中NFT形成的减少

[0442] 动物给药和组织收获过度表达人突变tau蛋白(P301L)的半合子转基因雌性JNPL3小鼠和野生型对照小鼠得自Taconic Farms, Inc. (模型号分别为001638-T-F和001638-W-F)。发送时小鼠为10-12周龄,称为研究的“第1周”。在第1周,将小鼠分成4组:A组(转基因小鼠)在整个研究期间单独接受载体;B组(转基因小鼠)在第1周至第15周接受食物中含有100mg/kg/天的NAG-Bt,然后在第16周至第32周接受饮水中含有1000mg/kg/天的NAG-Bt;D组(转基因小鼠)在第1周至第15周单独接受载体,然后在第16周至第32周接受饮水中含有

500mg/kg/天的NAG-AE;E组(野生型)在整个研究期间单独接受载体。在第32周,处死每组3只动物并收获组织。利用CO<sub>2</sub>室处死转基因小鼠和对照小鼠。在它们停止呼吸后约45秒钟,经心脏灌注30mL 0.9%NaCl缓冲液,之后灌注30mL 4%多聚甲醛(w/v在1×磷酸盐缓冲液PBS中,pH7.4)。然后小心地切除脑,在4%多聚甲醛中后固定,然后于4℃冷冻保护在20%蔗糖(w/v,在1×PBS中)中24小时。

[0443] 冷冻切片。然后用最佳切割温度(OCT)介质(Tissue Tek)固定脑,利用Feather切片机刀片(Tissue Tek)在Reichert-Jung Cryocut1800(Leica)上以50μm进行矢状切片,并置于1×PBS中用于下一步处理。冷冻温度设置在-17℃至-19℃。

[0444] 免疫组织化学染色将自由浮动的50μm矢状切片(距中线约0.6mm的侧部,George Paxinos和Leith B.J. Franklin, Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates(第二版))在含有0.3%Triton X-100的1×PBS中透化15分钟。室温下用10%山羊血清和2.5%BSA封闭1小时后,于4℃用特异性抗体孵育切片过夜(第一抗体:抗OGlcNAc, Covance;抗磷酸化Tau-ser404, Santa Cruz)。然后用在PBS中的0.3%Triton X-100洗涤切片3次,每次15分钟,并在室温下于黑暗中与用Cy3或FITC缀合的特异性第二抗体一起孵育1.5小时。在1×PBS中洗涤数次后,将切片固定在载玻片上并在黑暗中风干。一旦变干,将Vectashield封固液(Vector Laboratories, Inc.)加到所述载玻片上,之后加上盖玻片。用透明的指甲油密封盖玻片,于4℃和黑暗中贮存载玻片。对于阴性对照染色而言,在没有第一抗体的情况下孵育切片。

[0445] 成像利用Leica荧光显微镜(DM4000B)显示切片。第一组滤光片(激发峰:480nm,发射峰:520nm, Leica)用于0-GlcNAc/FITC成像,另一组滤光片(激发峰:530-550nm,发射峰:570nm, Leica)用于磷酸化Tau-ser404/Cy3成像。利用Spot数码相机(Diagnostic Instruments, Sterling Heights, MI, USA)获取脑海马区的10倍图像,并用LAS(Leica Application Suite)软件处理。

[0446] 每组中代表性小鼠的海马脑切片图像显示在图4A-H中。右侧图像(图4E-H)是利用抗OGlcNAc抗体染色的切片,亮区对应于蛋白质0-GlcNAc修饰水平高的区域。左侧图像(图4A-D)是利用抗磷酸化Tau-ser404抗体染色的切片,亮区对应于磷酸化tau蛋白质水平高的区域;尤其是,亮点对应于过度磷酸化tau蛋白的聚集体或神经纤维缠结(NFT)。为了对比目的,用灰色框突出相似切片区。显然,单独接受载体的组(E组和A组,图4E-F)表现出低水平的0-GlcNAc修饰,而接受NAG-Bt或NAG-AE的那些组(B组和D组,图4G-H)显示出显著升高的蛋白质0-GlcNAc修饰水平(右侧图)。两组之间的过度磷酸化tau和NFT形成的差异更显著。如所预期的,野生型小鼠(E组,图4A)显示低水平的磷酸化tau,而未处理的转基因动物(A组)表现出广泛的tau磷酸化和NFT形成。然而,接受NAG-Bt或NAG-AE的那些组(B组和D组,分别是图4C和4D)与未处理的转基因动物(A组,图4B)相比较而言显示出tau磷酸化和NFT形成显著降低。这些图像提供了本发明化合物在阿尔茨海默病鼠科动物模型中具有期望的降低NFT数目和总体tau磷酸化作用的具有说服力的证据。

[0447] 实施例33

[0448] 大鼠中重复给药8个月的毒理学研究

[0449] 测量了给Sprague-Dawley大鼠重复口服施用(3aR, 5R, 6S, 7R, 7aR)-5-(羟基甲基)-2-丙基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(NAG-Bt)8个月的毒理作

用。所有动物均得自Charles-River,为5周龄的健康雄性Sprague-Dawley大鼠。使动物适应1周,于第六周龄开始进行适当的处理。给8只动物喂食含有100mg/kg/天的NAG-Bt的食物8个月。给另外8只动物喂食不含抑制剂的食物作为对照。在此期间,监测各组动物的体重、食物消耗、水消耗和血液葡萄糖水平(分别为图5A-D;对照大鼠的数据用方形表示,给药大鼠的数据用圆形表示);两组之间未观察到显著性差异。在此期间在接受NAG-Bt的组中未观察到明显的病理学异常或行为差异。给药4个月后,收获每组四只大鼠的血样和尿样。通过血液学(CBC)、血清化学和尿分析来分析这些样品(表5和6);各组之间未观察到统计学显著性差异。

[0450] 表5显示以100mg/kg/天口服施用NAG-Bt 4个月的大鼠与对照大鼠的血液学(CBC)和血清化学试验的结果

[0451]

CBC/血清测量	未处理的 (n=4只大鼠)		处理的 (n=4只大鼠)	
	平均值	sd	平均值	sd
非酯化脂肪酸 (mM)	1.8	0.6	1.8	0.8
红细胞计数 (L-1)	9.3	1.0	10.1	0.7
白细胞计数 (1e9/L)	4.5	1.7	3.8	0.8
淋巴细胞%	88.3	3.3	82.3	6.8
单核细胞%	4.3	2.2	4.3	1.9
多形核细胞%	7.5	2.4	10.8	5.0
血红蛋白 (g/L)	157.8	13.4	169.5	10.3
血细胞比容 (l/l)	0.5	0.0	0.5	0.0
平均红细胞体积 (fL)	53.8	1.5	53.3	1.3
平均红细胞血红蛋白 (pg)	16.9	0.6	16.9	0.6
平均红细胞血红蛋白浓度 (g/l)	314.5	6.0	318.5	4.4
RDW	16.6	1.5	17.4	0.8
血小板计数 (10e9/L)	441.8	173.0	561.8	360.0
平均血小板体积 (fL)	11.5	2.1	9.3	2.3
葡萄糖 (mM)	1.9	0.6	2.0	1.0
血尿素氮 (mM)	8.1	2.4	8.9	0.8

[0452]

肌酸酐 (μM)	23.8	11.0	29.0	9.1
钠 (mM)	147.0	0.8	145.8	2.1
钾 (mM)	6.4	0.6	5.9	0.6
钙 (mM)	2.7	0.0	2.7	0.1
磷 (mM)	2.3	0.2	2.2	0.2
总蛋白 (g/l)	78.0	2.7	78.0	4.5
白蛋白 (g/l)	49.8	1.5	47.8	4.7
球蛋白 (g/l)	28.3	2.5	30.3	1.0
白蛋白/球蛋白	1.8	0.2	1.6	0.2
总胆红素 (μM)	0.0	0.0	0.0	0.0
碱性磷酸酶 (iu/l)	152.5	28.2	168.3	27.8
AST (iu/l)	255.8	56.2	202.3	37.9
γ gt (iu/l)	12.0	4.3	17.5	4.2
氯化物 (mM)	106.0	0.0	104.5	1.9
二氧化碳 (mM)	15.8	1.3	17.5	1.3
摩尔渗透压浓度 (mmol/Kg)	295.3	3.5	292.9	3.4
阴离子间隙	31.8	1.7	29.8	2.2
肌酸酐磷酸激酶 (iu/l)	1591.0	325.5	1324.5	321.6
ALT (iu/l)	124.3	29.5	109.3	18.4
山梨醇脱氢酶 (iu/l)	15.8	7.6	22.3	7.3
胆固醇 (mM)	1.9	0.3	2.9	0.6
甘油三酯 (mM)	1.8	0.5	2.7	1.4

[0453] 表6显示以100mg/kg/天口服施用NAG-Bt 4个月的大鼠对比对照大鼠的尿分析试验的结果

[0454]

尿测量	未处理的 (-)				处理的 (+)		
SP.GRV.	1.06	1.05	1.05	1.05	1.042	1.046	1.036
外观	清澈	slcld	清澈	slcld	混浊	混浊	清澈
颜色	黄色	黄色	灰白色	黄色	黄色	黄色	黄色
蛋白质 (g/L)	痕量	1	痕量	痕量	1	阴性	阴性
葡萄糖	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
血液	2+	痕量	阴性	1+	2+	阴性	2+
胆红素	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
尿胆素原	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常
WBC	0-3	0-3	阴性	阴性	0-3	阴性	阴性
RBC	6.0-10	0-3	0-3	0-3	0-3	0-3	阴性
上皮细胞	很少	很少	很少	阴性	阴性	阴性	阴性
透明管型	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性

[0455]	颗粒型	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
	RBC 型	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性	阴性
	细菌	阴性	阴性	阴性	阴性	中度	阴性	阴性
	粘液	阴性	很少	阴性	阴性	阴性	很少	阴性
	结晶量	PO4 很多	PO4 中度	PO4 很少	PO4 很多	PO4 很多	PO4 很多	

[0456] 显然,在给药组中未观察到ALT、AST、胆红素或山梨醇脱氢酶的改变,表明不存在肝脏毒性。在8个月结束时,处死所有动物并取其器官称重。每组6只动物的器官重量(脑、肝脏、胰腺、脾脏、心脏、脂肪、肌肉)显示在图6中;各组之间未观察到显著性差异。这些结果表明,在大鼠中长期给予NAG-Bt不导致严重的毒性结果。此证据支持了本发明化合物在人中安全治疗响应于蛋白质O-GlcNAc水平调节的疾病病症的用途;具体来说,这些数据表明本发明化合物具有用于治疗目的合适的特性。

#### [0457] 实施例34

#### [0458] 大鼠脑tau磷酸化水平的降低

[0459] 测量了口服施用(3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(乙基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(化合物25,NAG-AE)对Sprague-Dawley大鼠脑组织中tau磷酸化水平的作用。所有动物均得自Charles-River,为5周龄的健康雄性Sprague-Dawley大鼠。使动物适应1周,于第六周龄开始进行适当的处理。3只动物接受在饮用水中含有的200mg/kg/天的NAG-AE 1天。另外3只动物接受不含NAG-AE的饮用水而作为对照。在给药期之后立即处死所有动物,取脑、贮存并如实施例29所述进行处理。

[0460] Western印迹通过10%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)分离样品,然后转移到硝酸纤维素(Bio-Rad)膜上。在室温(RT)下利用在含有0.1%Tween-20(Sigma)的PBS(PBS-T)中的1%牛血清白蛋白(BSA)封闭所述膜,随后利用在PBS-T中的1%BSA递送的合适的第一抗体进行探测(RT下1小时或4℃下过夜)。然后用PBS-T充分洗涤所述膜,再次在室温下利用在PBS-T中的1%BSA阻断30分钟,然后在室温下利用合适的在PBS-T中的1%BSA递送的缀合HRP的第二抗体进行探测1小时。最后,充分洗涤所述膜,然后用SuperSignal West Pico化学发光底物(Pierce)显影并曝光在CL-XPosure膜(Pierce)上。

[0461] 抗体以非磷酸化依赖性方式识别tau中央区的小鼠单克隆抗体抗-Tau-5购自Lab Vision Corporation并以1:500的稀释度使用。分别识别磷酸化的Thr-231、Ser-396和Ser-422的兔多克隆抗-Tau[pS<sup>231</sup>]、 $\alpha$ -Tau[pT<sup>396</sup>]和 $\alpha$ -Tau[pS<sup>422</sup>]购自Biosource International并以1:1000的稀释度使用。识别O-GlcNAc单糖修饰的小鼠单克隆 $\alpha$ -O-GlcNAc(CTD110.6)购自Covance并以1:2500的稀释度使用。小鼠单克隆 $\alpha$ -肌动蛋白(克隆AC-40)购自Sigma并以1:1000的稀释度使用。

[0462] 由图7B-D可见,利用NAG-AE处理健康大鼠分别导致Ser-396、Thr-231和Ser-422上tau磷酸化的降低。通过光密度测定检测,这些残基上的磷酸化分别降低约3.1倍、约2.7倍和约1.8倍(图7E)。利用Tau-5-抗体的Western印迹表明各个泳道中tau蛋白总量相等(图7A),因此所观察到的各组之间的差异不归因于tau总加样量的差异。然后将这些相同的样品与O-GlcNAc特异性抗体进行免疫印迹,表明NAG-AE处理的动物中O-GlcNAc总体水平升高,如图7F所示。图7G显示了上图(图7F)中所加载样品利用抗- $\beta$ -肌动蛋白mAb抗体进行探针检测的Western印迹,表明加样量相等。



[0463] 实施例35

[0464] 大鼠中重复给药9个月的毒理学研究

[0465] 测量了给野生型JNPL3小鼠重复口服施用(3aR,5R,6S,7R,7aR)-5-(羟基甲基)-2-丙基-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(NAG-Bt)和(3aR,5R,6S,7R,7aR)-2-(乙基氨基)-5-(羟基甲基)-5,6,7,7a-四氢-3aH-吡喃并[3,2-d]噻唑-6,7-二醇(NAG-AE)9个月的毒理作用。所有动物均得自Taconic Farms, Inc. (模型号为001638-W-F), 递送时小鼠为10-12周龄,称为研究的“第1周”。在第1周,将小鼠分成3组:E组在整个研究期间接受单独的载体;F1组在第1周至第15周接受食物中含有的100mg/kg/天的NAG-Bt,然后在第16周至第40周接受饮水中含有的500mg/kg/天的NAG-AE;F2组在第1周至第15周接受食物中含有的100mg/kg/天的NAG-Bt,然后在第16周至第40周接受饮水中含有的1000mg/kg/天的NAG-Bt。在此期间,监测各组动物的体重、食物消耗和水消耗;各组之间未观察到显著性差异。在此期间在接受NAG-Bt或NAG-AE的组中未观察到明显的病理学异常或行为差异。在第40周,收获各组动物的血样和尿样;在分析之前将每组动物的尿样合并,而血样则是单独进行分析。通过血液学(CBC)、血清化学和尿分析来分析这些样品(表7和8);各组之间未观察到统计学显著性差异。

[0466] 表7显示口服施用NAG-Bt或NAG-AE 9个月的小鼠与对照小鼠的血液学(CBC)和血清化学试验的结果

[0467]

CBC/血清测量	组E 未处理的(-) (n=4只小鼠)		组F2 NAG-Bt处理的 (n=2只小鼠)		组F1 NAG-AE处理的 (n=4只小鼠)	
	平均值	sd	平均值	sd	平均值	sd
血液学						
白细胞计数(1e9/L)	3.3	1.3	1.8	0.3	3.0	0.9
分化						
嗜酸性粒细胞%	0	-	3	3	2	3
中性粒细胞%	7	3	37	33	6	3
淋巴细胞%	91	3	52	32	86	6
单核细胞%	3	3	8	2	6	2
形态学						
血小板	适度		适度		适度	
RBC形态	正常		正常		正常	
手动pcv L/L	0.45	0.01	0.42	0.02	0.44	0.02
化学						
葡萄糖(mM)	0.8	-	1.5	0.2	1.3	0.9
血尿素氮(mM)	7	3	6.3	0.2	6	3
肌酸酐(μM)	35	24	6.2	0.4	13	6
Bun/Cr比	87	59	256	9	114	68
钠(mM)	122	25	136	24	148	13
钾(mM)	13	2	13	2	15	4

[0468]

Na/K比	9.0	0.7	10.5	0.5	11	2
氯化物 (mM)	89	20	100	17	112	13
二氧化碳 (mM)	0.6	0.3	0.75	0.05	1.3	0.7
阴离子间隙	46	7	49	9	50	4
钙 (mM)	2.6	0.2	2.5	0.1	2.4	0.2
磷 (mM)	7	3	6.2	1.6	6.7	1.3
总蛋白 (g/l)	70	33	72	3	76	5
白蛋白 (g/l)	29	13	33	11	38	8
球蛋白 (g/l)	41	20	39	9	38	11
白蛋白/球蛋白比	0.8	0.2	1	0.5	1.3	0.8
碱性磷酸酶 (IU/L)	54	31	70	13	116	43
AST (IU/L)	272	136	250	93	201	62
$\gamma$ gt (IU/L)	37	25	39	15	30	9
肌酸酐磷酸激酶 (IU/L)	2448	1236	1452	776	1981	1229
摩尔渗透压浓度 (mmol/Kg)	204	-	286	48	142	143
ALT (IU/L)	18	1.3	26	11	15	1
山梨醇脱氢酶 (IU/L)	297	24	184	71	234	99

[0469] 表8显示口服施用NAG-Bt或NAG-AE 9个月的小鼠与对照小鼠的尿分析试验的结果

[0470]

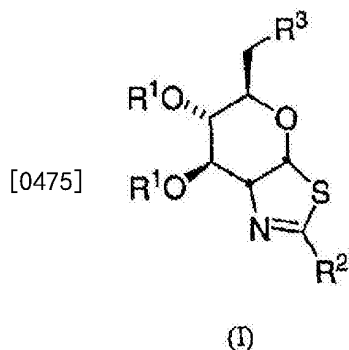
尿测量值	组 E 未处理的 (-) (n=3 只小鼠, 合并)	组 F2 处理的 (NAG-Bt) (n=2 只小鼠, 合并)	组 F1 处理的 (NAG-AE) (n=3 只小鼠, 合并)
SP.GRV	1.050	1.05	1.039
外观	清澈	清澈	稍混浊
颜色	黄色	黄色	黄色
蛋白质 (g/L)	阴性	阴性	阴性
葡萄糖	阴性	阴性	阴性
酮	阴性	阴性	阴性
血液	4+	NSQ	阴性
胆红素	阴性	阴性	阴性
尿胆素原	正常	正常	正常
WBC	0-3	阴性	阴性
RBC	6-10	阴性	阴性
上皮细胞	很少	很少	很少
杆菌	阴性	阴性	阴性
球菌	阴性	阴性	阴性
pH	5	5	6
尿肌酸酐	5693.6	7790.9	3105.4

[0471] 显然,在给药组中未观察到ALT、AST或山梨醇脱氢酶的改变,表明不存在肝脏毒性。这些结果表明,在小鼠中以相对高剂量长期给予NAG-Bt或NAG-AE不导致严重的毒性结果。此证据支持了本发明化合物在人中安全治疗响应于蛋白质O-GlcNAc水平调节的疾病病症的用途;具体来说,这些数据表明本发明化合物具有用于治疗目的合适的安全特性。

[0472] 已经根据一个或多个实施方案描述了本发明。然而,对本领域技术人员很明显的是,在不背离如权利要求中所限定的本发明范围的情形下可进行许多改动和修改。

[0473] 以下内容对应于母案申请中的原始权利要求书,现作为说明书的一部分并入此处:

[0474] 1. 式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐:



[0476] 其中

[0477] 每个R¹各自独立地是无干扰取代基;

[0478] R²是烷基、芳基、杂芳基、OR⁴、NR⁴₂和NR⁴OR⁴,其各自可任选地被无干扰取代基取代;

[0479] R³是OR⁴、N₃或NR⁴₂;以及

[0480] 每个R⁴各自独立地是无干扰取代基,

[0481] 前提是当每个R¹是H且R³是OH时,R²不包括CH₃、CH₂CH₃、(CH₂)₂CH₃、(CH₂)₃CH₃、(CH₂)₄CH₃、(CH₂)₆CH₃、CH(CH₃)₂、CH₂CH(CH₃)₂、NH(苯基)、NH(4-甲氧基苯基)、N(CH₃)₂、(CH₂)₂P(O)(OH)(OCH₃)以及(CH₂)₂P(O)(OH)(O(CH₂)₇CH₃);

[0482] 前提是当每个R¹是COCH₃且R³是OC(O)CH₃时,R²不包括CH₃、CH₂CH₃、(CH₂)₂CH₃、(CH₂)₃CH₃、(CH₂)₄CH₃、(CH₂)₆CH₃、CH(CH₃)₂、CH₂CH(CH₃)₂、NH(苯基)、NH(4-甲氧基苯基)、N(CH₃)₂、(CH₂)₂P(O)(OH)(OCH₃)以及(CH₂)₂P(O)(OH)(O(CH₂)₇CH₃)、NHCH₃、NH(CH₂)₂CH₃、NHCH(CH₃)₂、NH(CH₂)₃CH₃、NH(环己基)、NH(苄基)、CH₂Br、CHBr₂、CH₂P(O)(OCH₂CH₃)₂、(CH₂)₂P(O)(OCH₃)(O(CH₂)₇CH₃)、(CH₂)₂P(O)(OCH₃)₂、(CH₂)₂P(O)(OCH₃)₂、N(COCH₃)(苯基)以及N(COCH₃)(4-甲氧基苯基);以及

[0483] 前提是式 (I) 不包括表2中所述的化合物74至85。

[0484] 2. 项1的化合物,其中每个R¹各自可相连形成另外的环结构。

[0485] 3. 项1或2的化合物,其中当R³是OR⁴时,R⁴可以与任何一个R¹相连而形成另外的环结构。

[0486] 4. 项1至3中任一项的化合物,其中所述无干扰取代基选自烷基、烯基、炔基、芳基、芳基烷基、芳基烯基、芳基炔基中的一种或多种。

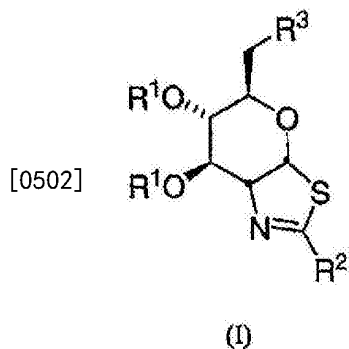
[0487] 5. 项1至4中任一项的化合物,其中所述无干扰取代基包括选自P、O、S和N的一个或多个杂原子。

[0488] 6. 项1至4中任一项的化合物,其中所述无干扰取代基任选地被取代。

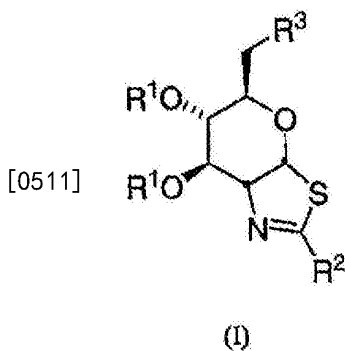
[0489] 7. 项1至3中任一项的化合物,其中R¹是H或C(O)CH₃。

[0490] 8. 项1至3中任一项的化合物,其中R²是CH₂F、CHF₂、CF₃、(CH₂)₂CH=CH₂、(CH₂)₂CH=CHCH₃、CH₂OCH₃、(CH₂)₂CF₃、环丙基甲基、苯基、苄基、NH₂、NHCH₃、NHCH₂CH₃、NH(CH₂)₂CH₃、NH(CH₂)₃CH₃、NHCH₂CH=CH₂、NH环丙基、NHCH₂CH₂F、NHCH₂CHF₂、NHCH₂CF₃、NHCH₂CH₂OH、NHCH₂CH₂OC(O)CH₃、N(CH₃)₂、N(CH₃)(CH₂CH₃)、NHCH₃、OCH₃或(CH₂)₂CH₃。

- [0491] 9. 项1至3中任一项的化合物, 其中 $R^3$ 是OH、OC(O)CH<sub>3</sub>、N<sub>3</sub>或NH<sub>2</sub>。
- [0492] 10. 项1的化合物, 其中所述化合物是表1中所述的化合物。
- [0493] 11. 项1的化合物, 前提是所述化合物不包括表2或表3中所述化合物中的一种或多种。
- [0494] 12. 项1的化合物, 其中所述化合物是前药。
- [0495] 13. 项1至12中任一项的化合物, 其中所述化合物选择性地抑制O-糖蛋白2-乙酰胺基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖苷酶(O-GlcNAc酶)。
- [0496] 14. 项1至13中任一项的化合物, 其中所述化合物选择性地结合O-GlcNAc酶。
- [0497] 15. 项1至14中任一项的化合物, 其中所述化合物选择性地抑制2-乙酰氨基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖苷(O-GlcNAc)的切割。
- [0498] 16. 项13的化合物, 其中所述O-GlcNAc酶是哺乳动物O-GlcNAc酶。
- [0499] 17. 项1至16中任一项的化合物, 其中所述化合物基本上不抑制哺乳动物β-氨基己糖苷酶。
- [0500] 18. 一种药物组合物, 其包含项1至17中任一项的化合物和药学上可接受载体。
- [0501] 19. 一种选择性抑制有此需求的对象中O-GlcNAc酶的方法, 所述方法包括给所述对象施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐:



- [0503] 其中
- [0504] 每个 $R^1$ 各自独立地是无干扰取代基;
- [0505]  $R^2$ 是烷基、芳基、杂芳基、 $OR^4$ 、 $NR^4_2$ 和 $NR^4OR^4$ , 其各自可任选地被无干扰取代基取代;
- [0506]  $R^3$ 是 $OR^4$ 、N<sub>3</sub>或 $NR^4_2$ ; 以及
- [0507] 每个 $R^4$ 各自独立地是无干扰取代基,
- [0508] 前提是当每个 $R^1$ 是H且 $R^3$ 是OH时,  $R^2$ 不包括CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>、CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>以及CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; 以及
- [0509] 前提是当每个 $R^1$ 是COCH<sub>3</sub>且 $R^3$ 是OC(O)CH<sub>3</sub>时,  $R^2$ 不包括CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>、CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>以及CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。
- [0510] 20. 一种提高有此需求的对象中O-GlcNAc水平的方法, 所述方法包括给所述对象施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐:



[0512] 其中

[0513] 每个R<sup>1</sup>各自独立地是无干扰取代基；

[0514] R<sup>2</sup>是烷基、芳基、杂芳基、OR<sup>4</sup>、NR<sup>4</sup><sub>2</sub>和NR<sup>4</sup>OR<sup>4</sup>，其各自可任选地被无干扰取代基取代；

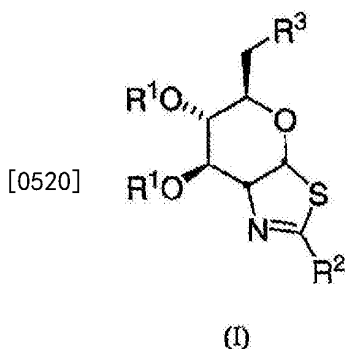
[0515] R<sup>3</sup>是OR<sup>4</sup>、N<sub>3</sub>或NR<sup>4</sup><sub>2</sub>；以及

[0516] 每个R<sup>4</sup>各自独立地是无干扰取代基，

[0517] 前提是当每个R<sup>1</sup>是H且R<sup>3</sup>是OH时，R<sup>2</sup>不包括CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>、CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>以及CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>；

[0518] 前提是当每个R<sup>1</sup>是COCH<sub>3</sub>且R<sup>3</sup>是OC(O)CH<sub>3</sub>时，R<sup>2</sup>不包括CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>、CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>以及CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。

[0519] 22. 一种治疗有此需求的对象中由O-GlcNAc酶调节之病症的方法，所述方法包括给所述对象施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐：



[0521] 其中

[0522] 每个R<sup>1</sup>各自独立地是无干扰取代基；

[0523] R<sup>2</sup>是烷基、芳基、杂芳基、OR<sup>4</sup>、NR<sup>4</sup><sub>2</sub>和NR<sup>4</sup>OR<sup>4</sup>，其各自可任选地被无干扰取代基取代；

[0524] R<sup>3</sup>是OR<sup>4</sup>、N<sub>3</sub>或NR<sup>4</sup><sub>2</sub>；以及

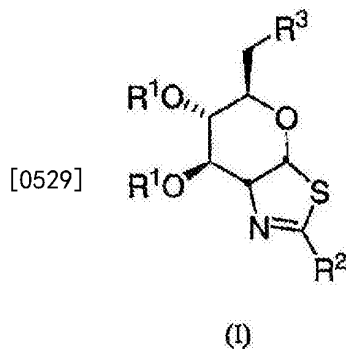
[0525] 每个R<sup>4</sup>各自独立地是无干扰取代基，

[0526] 前提是所述病症排除神经退行性疾病、tau病、癌症或应激。

[0527] 23. 项22的方法，其中所述病症选自以下病症中的一种或多种：炎性疾病、变态反应、哮喘、变应性鼻炎、超敏性肺病、超敏性肺炎、嗜酸性粒细胞肺炎、延迟型超敏反应、动脉硬化、间质性肺病(ILD)、特发性肺纤维化、与类风湿性关节炎相关的ILD、系统性红斑狼疮、强直性脊柱炎、系统性硬化症、舍格伦综合征、多发性肌炎或皮肌炎、全身过敏性反应或超敏性反应、药物变态反应、昆虫叮咬变态反应、自身免疫性疾病、类风湿性关节炎、银屑病性关节炎、多发性硬化、系统性红斑狼疮、重症肌无力、肾小球肾炎、自身免疫性甲状腺炎、移

植排斥、同种异体移植排斥、移植物抗宿主病、炎性肠病、克罗恩病、溃疡性结肠炎、脊柱关节病、硬皮病、银屑病、T细胞介导的银屑病、炎性皮肤病、皮炎、湿疹、异位性皮炎、变应性接触性皮炎、风疹、血管炎、坏死性血管炎、皮肤血管炎和超敏性血管炎、嗜酸性粒细胞肌炎、嗜酸性粒细胞筋膜炎、实体器官移植排斥、心脏移植排斥、肺移植排斥、肝移植排斥、肾移植排斥和胰腺移植排斥、肾脏同种异体移植、肺同种异体移植、癫痫、疼痛、中风、神经保护。

[0528] 24. 一种治疗有此需求的对象中选自神经退行性疾病、tau病、癌症和应激的病症的方法,所述方法包括给所述对象施用有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐:



[0530] 其中

[0531] 每个R<sup>1</sup>各自独立地是无干扰取代基;

[0532] R<sup>2</sup>是烷基、芳基、杂芳基、OR<sup>4</sup>、NR<sup>4</sup><sub>2</sub>和NR<sup>4</sup>OR<sup>4</sup>,其各自可任选地被无干扰取代基取代;

[0533] R<sup>3</sup>是OR<sup>4</sup>、N<sub>3</sub>或NR<sup>4</sup><sub>2</sub>;以及

[0534] 每个R<sup>4</sup>各自独立地是无干扰取代基,

[0535] 前提是当每个R<sup>1</sup>是H且R<sup>3</sup>是OH时,R<sup>2</sup>不包括CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>、CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>以及CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>;

[0536] 前提是当每个R<sup>1</sup>是COCH<sub>3</sub>且R<sup>3</sup>是OC(O)CH<sub>3</sub>时,R<sup>2</sup>不包括CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>、CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>以及CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。

[0537] 25. 项24的方法,其中所述病症选自以下病症中的一种或多种:阿尔茨海默病、肌萎缩性侧索硬化症(ALS)、肌萎缩性侧索硬化症合并认知功能障碍(ALSci)、嗜银颗粒性痴呆、Bluit病、皮质基底节变性(CBD)、拳击员痴呆、弥散性神经纤维缠结伴有钙化、唐氏综合征、家族性英国型痴呆、家族性丹麦型痴呆、与17号染色体连锁的额颞痴呆伴帕金森综合征(FTDP-17)、格-施-沙病、瓜德罗普岛帕金森病、哈-施病(1型脑内铁沉积性神经退化)、多系统萎缩、强直性肌营养不良、尼-皮病(C型)、苍白球脑桥黑质变性、关岛型帕金森综合征痴呆复合征、皮克病(PiD)、脑炎后帕金森综合征(PEP)、朊病毒病(包括克-雅病(CJD)、变异型克-雅病(vCJD)、致死性家族性失眠症和库鲁病)、进行性皮层上神经胶质增生、进行性核上性麻痹(PSP)、Richardson综合征、亚急性硬化全脑炎、单纯缠结性痴呆、亨廷顿舞蹈病和帕金森病。

[0538] 26. 项24的方法,其中所述应激是心脏病。

[0539] 27. 项26的方法,其中所述心脏病选自缺血、出血、低血容量性休克、心肌梗塞、介入性心脏病手术、心脏旁路手术、溶栓治疗、血管成形术和支架置入中的一种或多种。

[0540] 28. 项19至27中任一项的方法,其中R<sup>1</sup>是H或C(O)CH<sub>3</sub>。

[0541] 29. 项19至28中任一项的方法,其中R<sup>2</sup>是CH<sub>2</sub>F、CHF<sub>2</sub>、CF<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH=

CHCH<sub>3</sub>、CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、环丙基甲基、苯基、苄基、NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>3</sub>、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>、NHCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>、NH环丙基、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F、NHCH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>、NHCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OC(O)CH<sub>3</sub>、N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、N(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)、NHOCH<sub>3</sub>、OCH<sub>3</sub>或(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>。

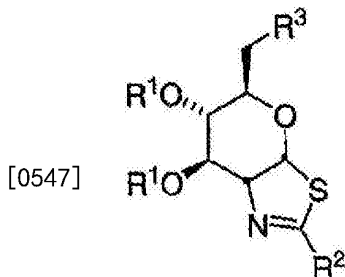
[0542] 30. 项19至29中任一项的方法, 其中R<sup>3</sup>是OH、OC(O)CH<sub>3</sub>、N<sub>3</sub>或NH<sub>2</sub>。

[0543] 31. 项19至27中任一项的方法, 其中所述化合物选自表2和表3中所述化合物中的一种或多种。

[0544] 32. 项19至31中任一项的方法, 其中所述施用升高所述对象中O-GlcNAc的水平。

[0545] 33. 项19至32中任一项的方法, 其中所述对象是人。

[0546] 34. 有效量的式(I)化合物或其药学上可接受的盐在制备药物中的用途:



(I)

[0548] 其中

[0549] 每个R<sup>1</sup>各自独立地是无干扰取代基;

[0550] R<sup>2</sup>是烷基、芳基、杂芳基、OR<sup>4</sup>、NR<sup>4</sup><sub>2</sub>和NR<sup>4</sup>OR<sup>4</sup>, 其各自可任选地被无干扰取代基取代;

[0551] R<sup>3</sup>是OR<sup>4</sup>、N<sub>3</sub>或NR<sup>4</sup><sub>2</sub>; 以及

[0552] 每个R<sup>4</sup>各自独立地是无干扰取代基,

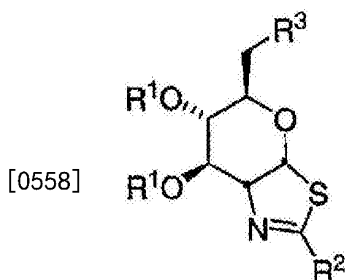
[0553] 前提是式(I)化合物不包括表2和表3中所述的化合物。

[0554] 35. 项34的用途, 其中所述药物用于选择性抑制O-GlcNAc酶, 用于升高O-GlcNAc水平, 用于治疗由O-GlcNAc酶调节的病症, 用于治疗神经退行性疾病、tau病、癌症或应激。

[0555] 36. 一种筛选O-GlcNAc酶的选择性抑制剂的方法, 所述方法包括:

[0556] a) 使第一样品与试验化合物相接触;

[0557] b) 使第二样品与式(I)化合物相接触:



(I)

[0559] 其中

[0560] 每个R<sup>1</sup>各自独立地是无干扰取代基;

[0561] R<sup>2</sup>是烷基、芳基、杂芳基、OR<sup>4</sup>、NR<sup>4</sup><sub>2</sub>和NR<sup>4</sup>OR<sup>4</sup>, 其各自可任选地被无干扰取代基取代;

- [0562]  $R^3$ 是 $OR^4$ 、 $N_3$ 或 $NR^4_2$ ;以及
- [0563] 每个 $R^4$ 各自独立地是无干扰取代基,
- [0564] c) 测定所述第一样品和第二样品中O-GlcNAc酶的抑制水平,
- [0565] 其中如果与式(I)化合物相比较而言所述试验化合物表现出对O-GlcNAc酶相同或更大的抑制作用,则所述试验化合物是O-GlcNAc酶的选择性抑制剂。
- [0566] 参考文献
- [0567] 1.C.R.Torres,G.W.Hart,J Biol Chem 1984,259,3308.
- [0568] 2.R.S.Haltiwanger,G.D.Holt,G.W.Hart,J Biol Chem 1990,265,2563.
- [0569] 3.L.K.Kreppel,M.A.Blomberg,G.W.Hart,J Biol Chem 1997,272,9308.
- [0570] 4.W.A.Lubas,D.W.Frank,M.Krause,J.A.Hanover,J Biol Chem 1997,272,9316.
- [0571] 5.W.A.Lubas,J.A.Hanover,J Biol Chem 2000,275,10983.
- [0572] 6.D.L.Dong,G.W.Hart,J Biol Chem 1994,269,19321.
- [0573] 7.Y.Gao,L.Wells,F.L Comer,G.J.Parker,G.W.Hart,J Biol Chem 2001,276,9838.
- [0574] 8.E.P.Roquemore,M.R.Chevrier,R.J.Cotter,G.W.Hart,Biochemistry 1996,35,3578.
- [0575] 9.S.P.Jackson,R.Tjian,Cell 1988,55,125.
- [0576] 10.W.G.Kelly,M.E.Dahmus,G.W.Hart,J Biol Chem 1993,268,10416.
- [0577] 11.M.D.Roos,K.Su,J.R.Baker,J.E.Kudlow,Mol Cell Biol 1997,17,6472.
- [0578] 12.N.Lamarre-Vincent,L.C.Hsieh-Wilson,J Am Chem Soc 2003,125,6612.
- [0579] 13.F.Zhang,K.Su,X.Yang,D.B.Bowe,A.J.Paterson,J.E.Kudlow,Cell 2003,115,715.
- [0580] 14.K.Vosseller,L.Wells,M.D.Lane,G.W.Hart,Proc Natl Acad Sci U S A 2002,99,5313.
- [0581] 15.W.A.Lubas,M.Smith,C.M.Starr,J.A.Hanover,Biochemistry 1995,34,1686.
- [0582] 16.L.S.Griffith,B.Schmitz,Biochem Biophys Res Commun 1995,213,424.
- [0583] 17.R.N.Cole,G.W.Hart,J Neurochem 1999,73,418.
- [0584] 18.I.Braidman,M.Carroll,N.Dance,D.Robinson,Biochem J 1974,143,295.
- [0585] 19.R.Ueno,C.S.Yuan,Biochim Biophys Acta 1991,1074,79.
- [0586] 20.C.Toleman,A.J.Paterson,T.R.Whisenhunt,J.E.Kudlow,J Biol Chem 2004.
- [0587] 21.F.Liu,K.Iqbal,I.Grundke-Iqbal,G.W.Hart,C.X.Gong,Proc Natl Acad Sci U S A 2004,101,10804.
- [0588] 22.T.Y.Chou,G.W.Hart,Adv Exp Med Biol 2001,491,413.
- [0589] 23.M.Goedert,M.G.Spillantini,N.J.Cairns,R.A.Crowther,Neuron 1992,8,159.
- [0590] 24.M.Goedert,M.G.Spillantini,R.Jakes,D.Rutherford,R.A.Crowther,Neuron 1989,3,519.
- [0591] 25.E.Kopke,Y.C.Tung,S.Shaikh,A.C.Alonso,K.Iqbal,I.Grundke-Iqbal,J Biol Chem 1993,268,24374.



- [0592] 26.H.Ksiezak-Reding,W.K.Liu,S.H.Yen,Brain Res 1992,597,209.
- [0593] 27.B.Henrissat,A.Bairoch,Biochem J 1996,316 (Pt 2),695.
- [0594] 28.B.Henrissat,A.Bairoch,Biochem J 1993,293 (Pt 3),781.
- [0595] 29.C.X.Gong,F.Liu,I.Grundke-Iqbal,K.Iqbal,J Neural Transm 2005,112,813.
- [0596] 30.K.Iqbal,C.Alonso Adel,E.El-Akkad,C.X.Gong,N.Haque,S.Khattoon,I.Tsujio,I.Grundke-Iqbal,J Neural Transm Suppl 2002,309.
- [0597] 31.K.Iqbal,C.Alonso Adel,E.El-Akkad,C.X.Gong,N.Haque,S.Khattoon,J.J.Pei,H.Tanimukai,I.Tsujio,et al.,J Mol Neurosci 2003,20,425.
- [0598] 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.
- [0599] 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.
- [0600] 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.
- [0601] 35.G.Li,H.Yin,J.Kuret,J Biol Chem 2004,279,15938.
- [0602] 36.T.Y.Chou,G.W.Hart,C.V.Dang,J Biol Chem 1995,270,18961.
- [0603] 37.X.Cheng,G.W.Hart,J Biol Chem 2001,276,10570.
- [0604] 38.X.Cheng,R.N.Cole,J.Zaia,G.W.Hart,Biochemistry 2000,39,11609.
- [0605] 39.L.S.Griffith,B.Schmitz,Eur J Biochem 1999,262,824.
- [0606] 40.K.Kamemura,G.W.Hart,Prog Nucleic Acid Res Mol Biol 2003,73,107.
- [0607] 41.L.Wells,L.K.Kreppel,F.I.Comer,B.E.Wadzinski,G.W.Hart,J Biol Chem 2004,279,38466.
- [0608] 42.L.Bertram,D.Blacketer,K.Mullin,D.Keeney,J.Jones,S.Basu,S.Yhu,M.G.McInnis,R.C.Go,et al.,Science 2000,290,2302.
- [0609] 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.
- [0610] 44.C.X.Gong,F.Liu,I.Grundke-Iqbal,K.Iqbal,Journal of Alzheimers Disease 2006,9,1.
- [0611] 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.
- [0612] 46.S.Hoyer,Experimental Gerontology 2000,35,1363.
- [0613] 47.S.Hoyer,in Frontiers in Clinical Neuroscience:Neurodegeneration and Neuroprotection,Vol.541,2004,pp.135.
- [0614] 48.R.N.Kalaria,S.I.Harik,Journal of Neurochemistry 1989,53,1083.
- [0615] 49.I.A.Simpson,K.R.Chundu,T.Davieshill,W.G.Honer,P.Davies,Annals of Neurology 1994,35,546.

- [0616] 50.S.M.de la Monte,J.R.Wands,Journal of Alzheimers Disease 2005,7,45.
- [0617] 51.X.W.Zhu,G.Perry,M.A.Smith,Journal of Alzheimers Disease 2005,7,81.
- [0618] 52.J.C.de la Torre,Neurological Research 2004,26,517.
- [0619] 53.S.Marshall,W.T.Garvey,R.R.Traxinger,Faseb J 1991,5,3031.
- [0620] 54.S.P.Iyer,Y.Akimoto,G.W.Hart,J Biol Chem 2003,278,5399.
- [0621] 55.K.Brickley,M.J.Smith,M.Beck,F.A.Stephenson,J Biol Chem 2005,280,14723.
- [0622] 56.S.Knapp,C.H.Yang,T.Haimowitz,Tetrahedron Letters 2002,43,7101.
- [0623] 57.S.P.Iyer,G.W.Hart,J Biol Chem 2003,278,24608.
- [0624] 58.M.Jinek,J.Rehwinkel,B.D.Lazarus,E.Izaurrealde,J.A.Hanover,E.Conti,Nat Struct Mol Biol 2004,11,1001.
- [0625] 59.K.Kamemura,B.K.Hayes,F.I.Comer,G.W.Hart,J Biol Chem 2002,277,19229.
- [0626] 60.Y.Deng,B.Li,F.Liu,K.Iqbal,I.Grundke-Iqbal,R.Brandt,C.-X.Gong,FASEB J.2007,fj.07,
- [0627] 61.L.F.Lau,J.B.Schachter,P.A.Seymour,M.A.Sanner,Curr Top Med Chem 2002,2,395.
- [0628] 62.P.Bounelis,J.Liu,Y.Pang,J.C.Chatham,R.B.Marchase,Shock 2004,21 170Suppl.2,58.
- [0629] 63.N.Fulop,V.Champattanachal,R.B.Marchase,J.C.Chatham,Circulation Research 2005,97,E28.
- [0630] 64.J.Liu,R.B.Marchase,J.C.Chatham,Faseb Journal 2006,20,A317.
- [0631] 65.R.Marchase,P.Bounelis,J.Chatham,I.Chaudry,Y.Pang,PCT Int.Appl.WO 2006016904 2006.
- [0632] 66.N.Fulop,P.P.Wang,R.B.Marchase,J.C.Chatham,Journal of Molecular and Cellular Cardiology 2004,37,286.
- [0633] 67.N.Fulop,P.P.Wang,R.B.Marchase,J.C.Chatham,Faseb Journal 2005,19, A689.
- [0634] 68.J.Liu,R.B.Marchase,J.C.Chatham,Journal of Molecular and Cellular Cardiology 2007,42,177.
- [0635] 69.L.G.Not,C.A.Brocks,N.Fulop,R.B.Marchase,J.C.Chatham,Faseb Journal 2006,20,A1471.
- [0636] 70.S.L.Yang,L.Y.Zou,P.Bounelis,I.Chaudry,J.C.Chatham,R.B.Marchase, Shock 2006,25,600.
- [0637] 71.L.Y.Zou,S.L.Yang,P.Bounelis,I.H.Chaudry,J.C.Chatham,R.B.Marchase, Faseb Journal 2005,19,A1224.
- [0638] 72.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.
- [0639] 73.J.Liu,Y.Pang,T.Chang,P.Bounelis,J.C.Chatham,R.B.Marchase,Journal

of Molecular and Cellular Cardiology 2006,40,303.

[0640] 74.J.Liu,J.C.Chatham,R.B.Marchase,Faseb Journal 2005,19,A691.

[0641] 75.T.Nagy,V.Champattanachai,R.B.Marchase,J.C.Chatham,American Journal of Physiology-Cell Physiology 2006,290,C57.

[0642] 76.N.Fulop,R.B.Marchase,J.C.Chatham,Cardiovascular Research 2007,73,288.

[0643] 77.T.Lefebvre,C.Guinez,V.Dehennaut,O.Beseme-Dekeyser,W.Morelle,J.C.Michalski,Expert Review of Proteomics 2005,2,265.

[0644] 78.L.Wells,K.Vosseller,G.W.Hart,Science 2001,291,2376,

[0645] 79.J.A.Hanover,FASEB J 2001,15,1865.

[0646] 80.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.

[0647] 81.P.J.Yao,P.D.Coleman,J Neurosci 1998,18,2399.

[0648] 82.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.

[0649] 83.B.Triggs-Raine,D.J.Mahmran,R.A.Gravel,Adv Genet 2001,44,199.

[0650] 84.D.Zhou,J.Mattner,C.Cantu Iii,N.Schrantz,N.Yin,Y.Gao,Y.Sagiv,K.Hudspeth,Y.Wu,et al.,Science 2004.

[0651] 85.G.Legler,E.Lullau,E.Kappes,F.Kastenholz,Biochim Biophys Acta 1991,1080,89.

[0652] 86.M.Horsch,L.Hoesch,A.Vasella,D.M.Rast,Eur J Biochem 1991,197,815.

[0653] 87.J.Liu,A.R.Shikhman,M.K.Lotz,C.H.Wong,Chem Biol 2001,8,701.

[0654] 88.S.Knapp,D.J.Vocadlo,Z.N.Gao,B.Kirk,J.P.Lou,S.G.Withers,J.Am.Chem.Soc.1996,118,6804.

[0655] 89.V.H.Lillelund,H.H.Jensen,X.Liang,M.Bols,Chem Rev 2002,102,515.

[0656] 90.R.J.Konrad,I.Mikolaenko,J.F.Tolar,K.Liu,J.E.Kudlow,Biochem J2001,356,31.

[0657] 91.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.

[0658] 92.G.Parker,R.Taylor,D.Jones,D.McClain,J Biol Chem 2004,279,20636.

[0659] 93.E.B.Arias,J.Kim,G.D.Cartee,Diabetes 2004,53,921.

[0660] 94.A.Junod,A.E.Lambert,L.Orci,R.Pictet,A.E.Gonet,A.E.Rebold,Proc Soc Exp Biol Med 1967,126,201.

[0661] 95.R.A.Bennett,A.E.Pegg,Cancer Res 1981,41,2786.

[0662] 96.K.D.Kroncke,K.Fehsel,A.Sommer,M.L.Rodriguez,V.Kolb-Bachofen,Biol Chem Hoppe Seyler 1995,376,179.

[0663] 97.H.Yamamoto,Y.Uchigata,H.Okamoto,Nature 1981,294,284.

[0664] 98.K.Yamada,K.Nonaka,T.Hanafusa,A.Miyazaki,H.Toyoshima,S.Tarui,Diabetes 1982,31,749.

- [0665] 99.V.Burkart,Z.Q.Wang,J.Radons,B.Heller,Z.Herceg,L.Stingl,E.F.Wagner,H.Kolb,Nat Med 1999,5,314.
- [0666] 100.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.
- [0667] 101.Y.Gao,G.J.Parker,G.W.Hart,Arch Biochem Biophys 2000,383,296.
- [0668] 102.R.Okuyama,M.Yachi,Biochem Biophys Res Commun 2001,287,366.
- [0669] 103.N.E.Zachara,N.O'Donnell,W.D.Cheung,J.J.Mercer,J.D.Martha,G.W.Hart,J Biol Chem 2004,279,30133.
- [0670] 104.J.A.Hanover,Z.Lai,G.Lee,W.A.Lubas,S.M.Sato,Arch Biochem Biophys 1999,362,38.
- [0671] 105.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.
- [0672] 106.M.S.Macauley,G.E.Whitworth,A.W.Debowski,D.Chin,D.J.Vocadlo,J Biol Chem 2005,280,25313.
- [0673] 107.B.L.Mark,D.J.Vocadlo,S.Knapp,B.L.Triggs-Raine,S.G.Withers,M.N.James,J Biol Chem 2001,276,10330.
- [0674] 108.R.S.Haltiwanger,K.Grove,G.A.Philipsberg,J Biol Chem 1998,273,3611.
- [0675] 109.D.J.Miller,X.Gong,B.D.Shur,Development 1993,118,1279.
- [0676] 110.L.Y.Zou,S.L.Yang,S.H.Hu,I.H.Chaudry,R.B.Marchase,J.C.Chatham,Shock 2007,27,402.
- [0677] 111.J.B.Huang,A.J.Clark,H.R.Petty,Cellular Immunology 2007,245,1.
- [0678] 112.U.J.G.Conference,in US/Japan Glyco 2004 Conference,Honolulu,Hawaii,2004.
- [0679] 113.L.Y.Zou,S.L.Yang,S.H.Hu,I.H.Chaudry,R.B.Marchase,J.C.Chatham,Faseb Journal 2006,20,A1471.
- [0680] 114.V.Champattanachai,R.B.Marchase,J.C.Chatham,American Journal of Physiology-Cell Physiology 2007,292,C178.
- [0681] 115.J.C.Jochims,A.Seeliger,Tetrahedron 1965,21,2611.
- [0682] 116.G.T.Bramblett,M.Goedert,R.Jakes,S.E.Merrick,J.Q.Trojanowski,V.M.Lee,Neuron 1993,10,1089.
- [0683] 117.A.d.C.Alonso,A.Mederlyova,M.Novak,I.Grundke-Iqbal,K.Iqbal,J Biol Chem 2004,279,34873.
- [0684] 所有参考文献在此通过引用并入本文。

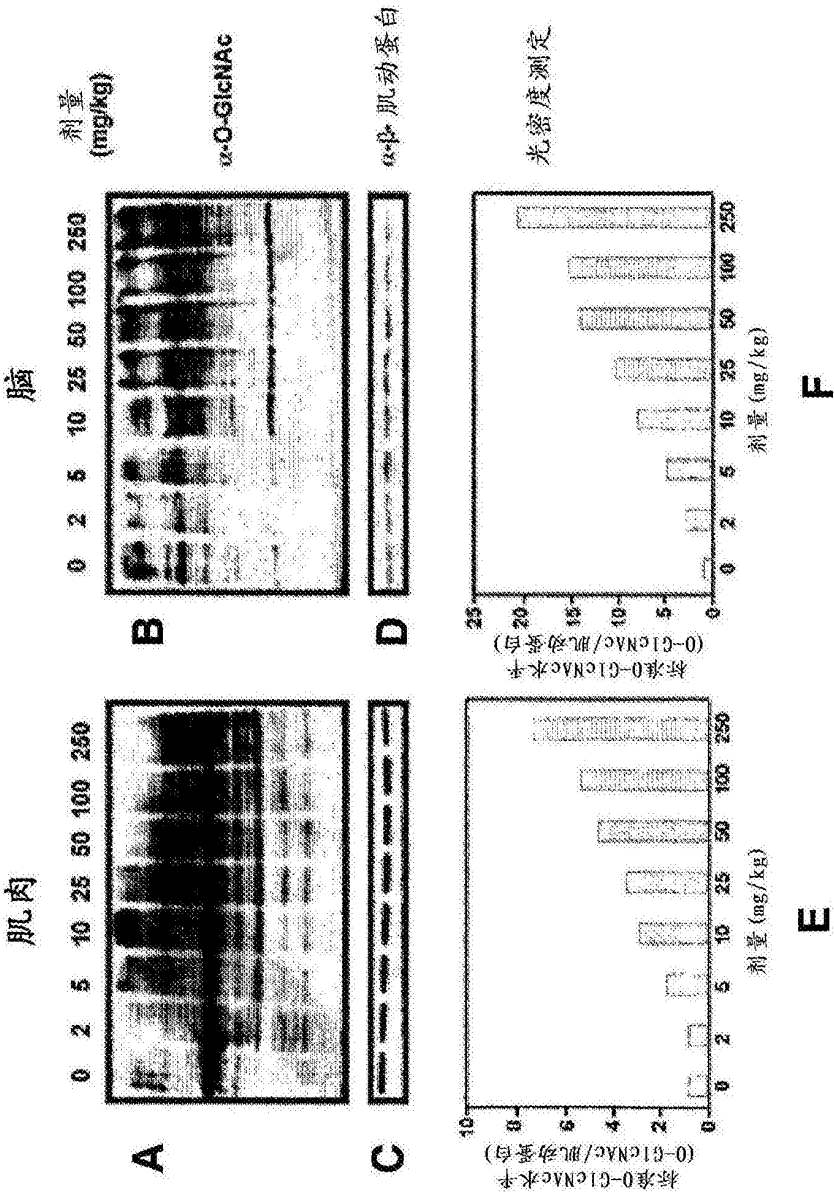


图1

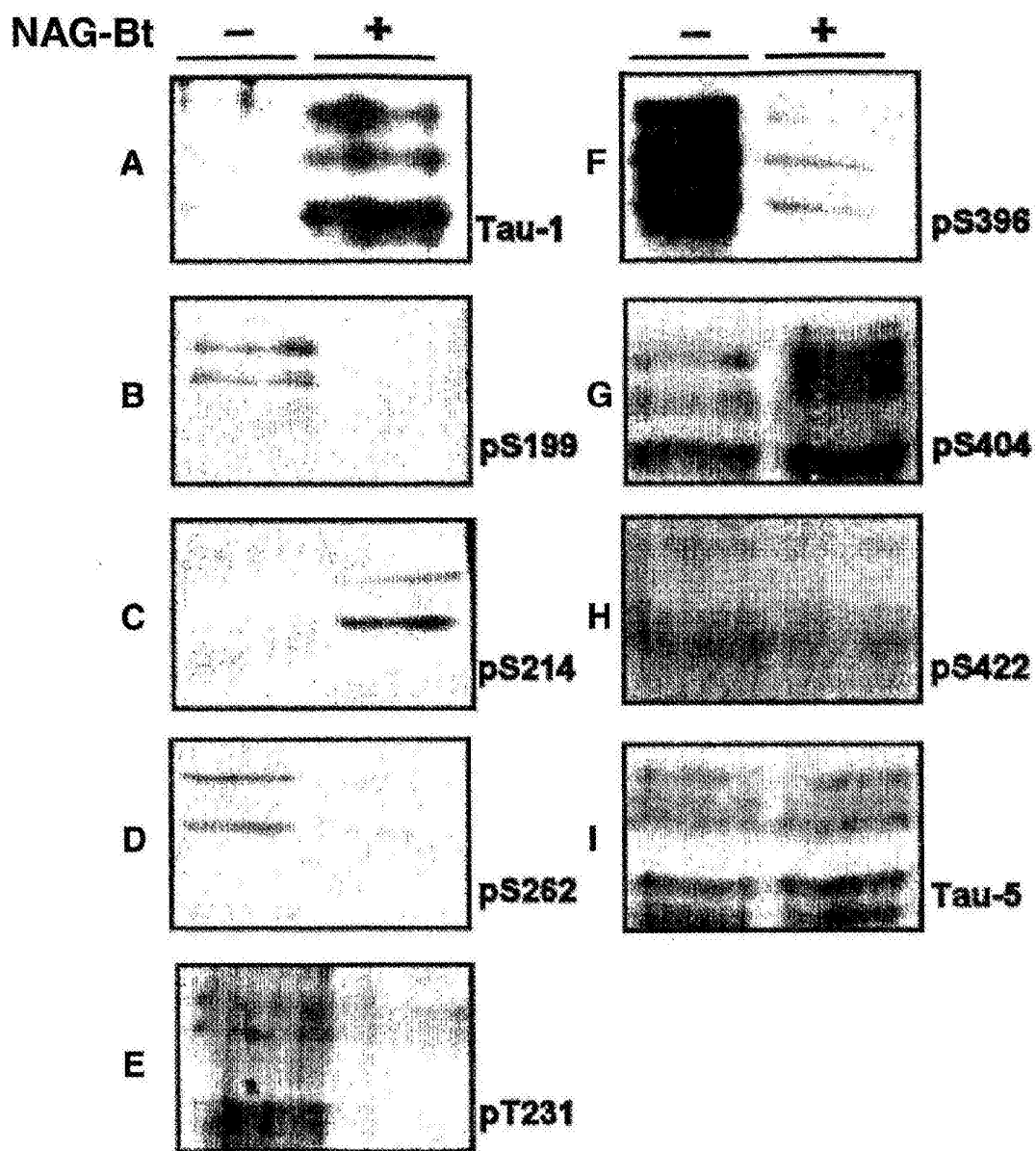


图2

大鼠心脏组织中O-GlcNAc水平

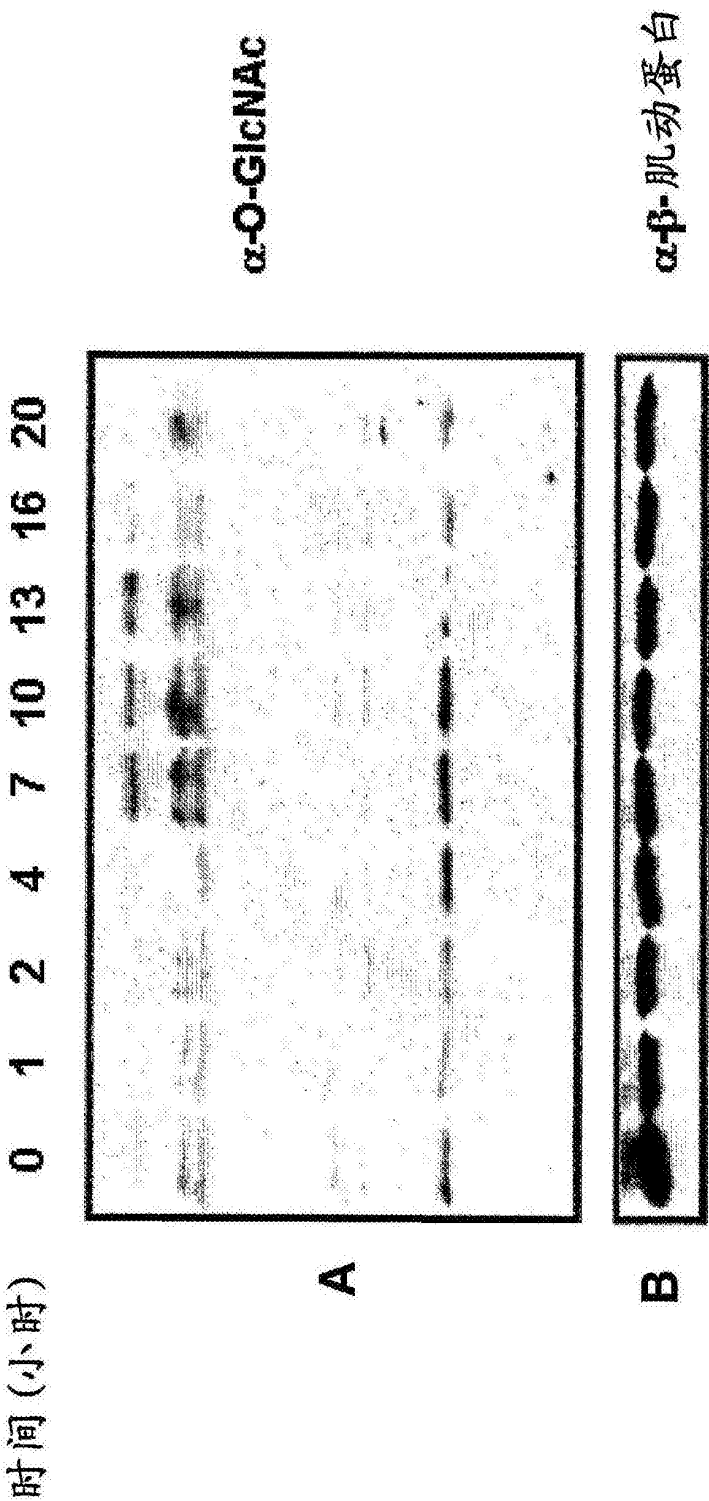


图3

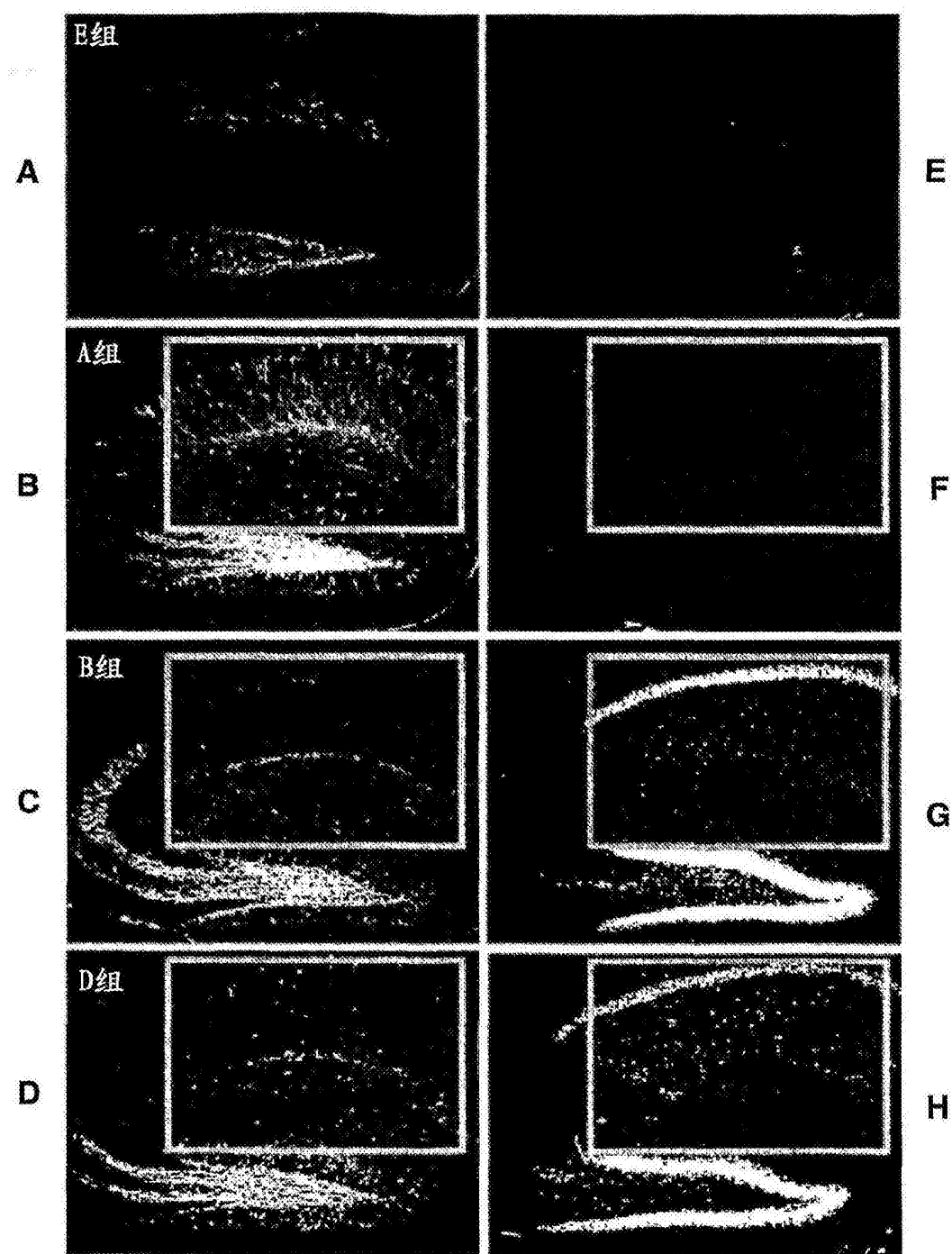


图4



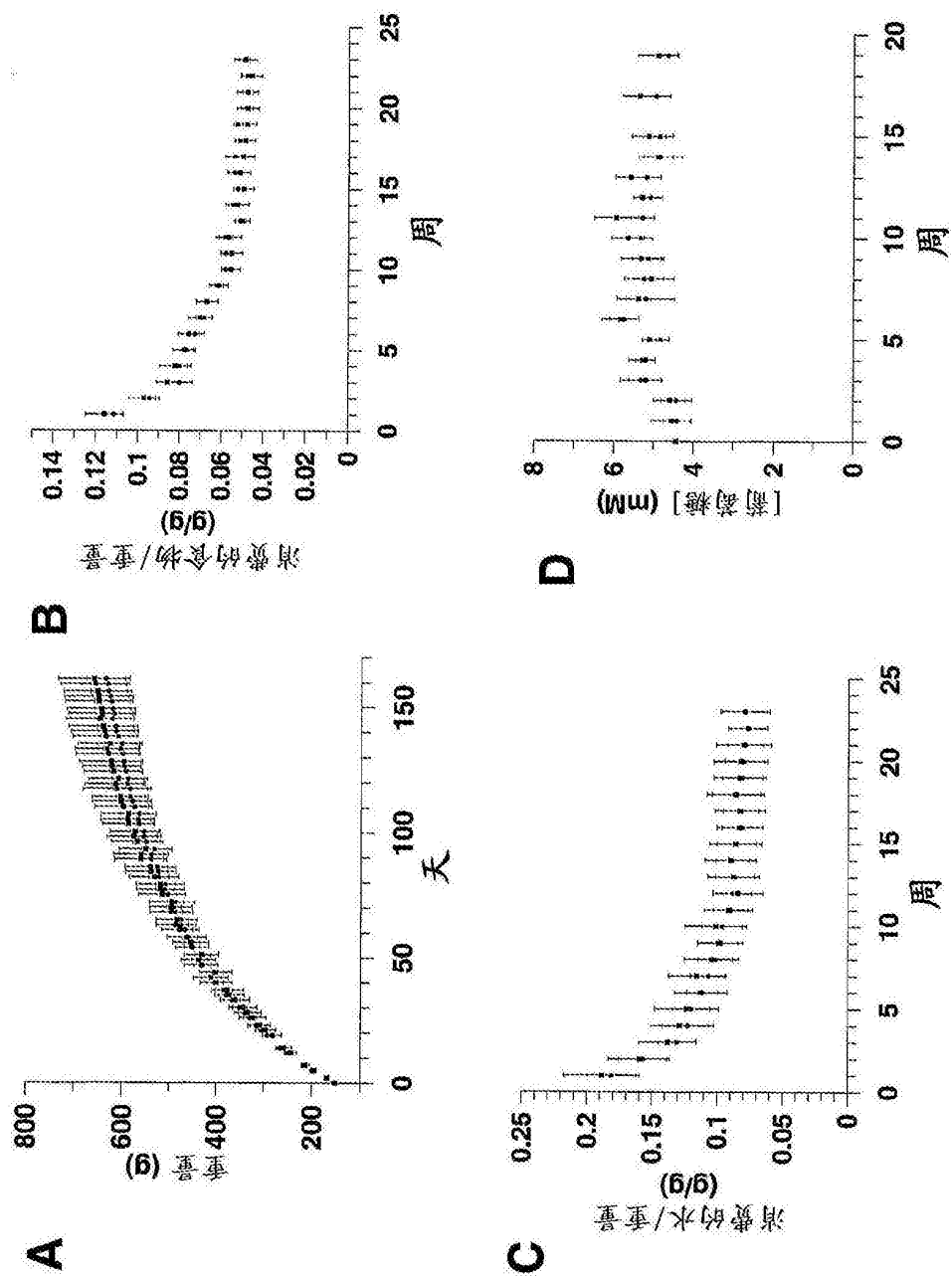


图5

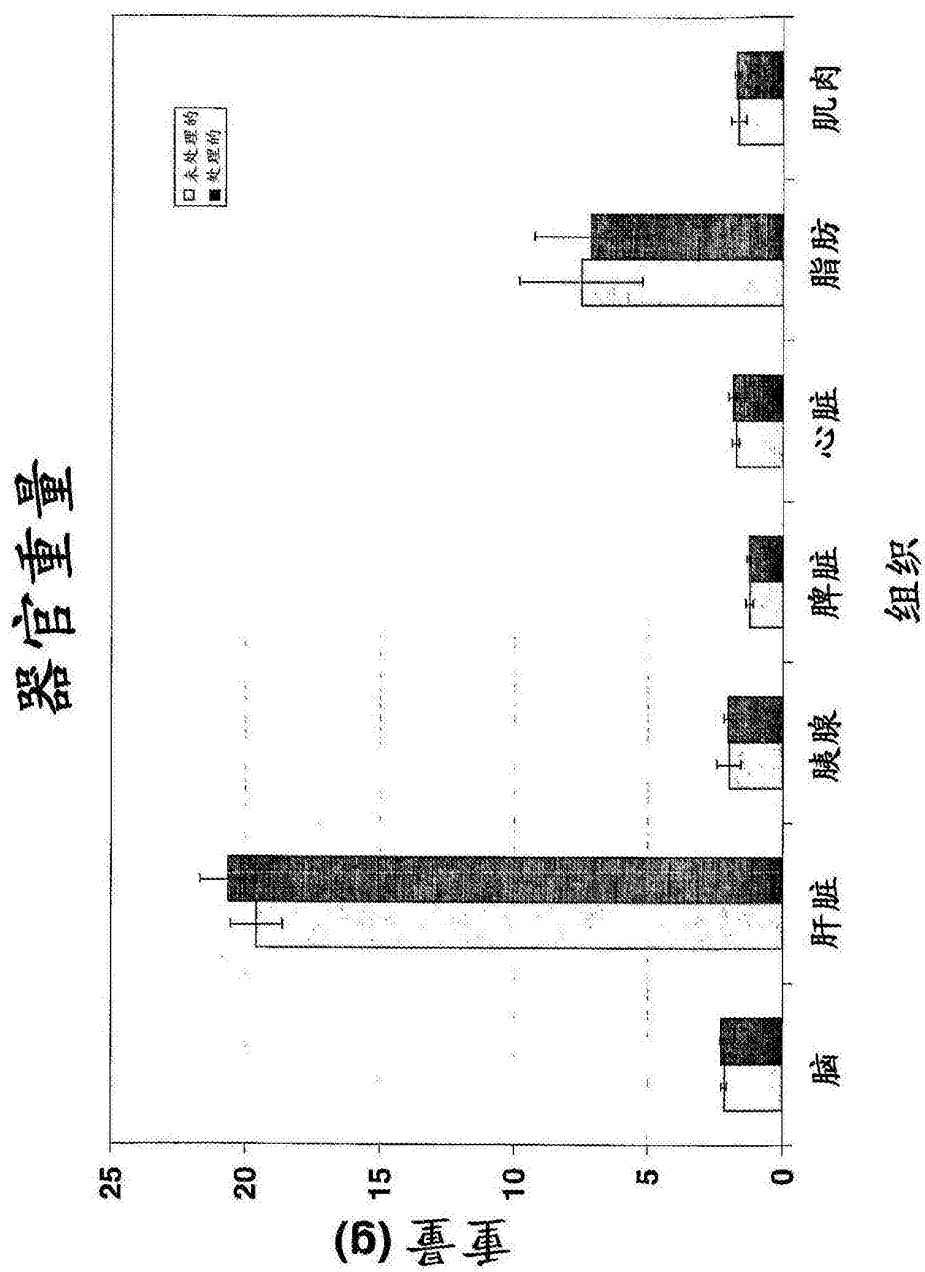


图6

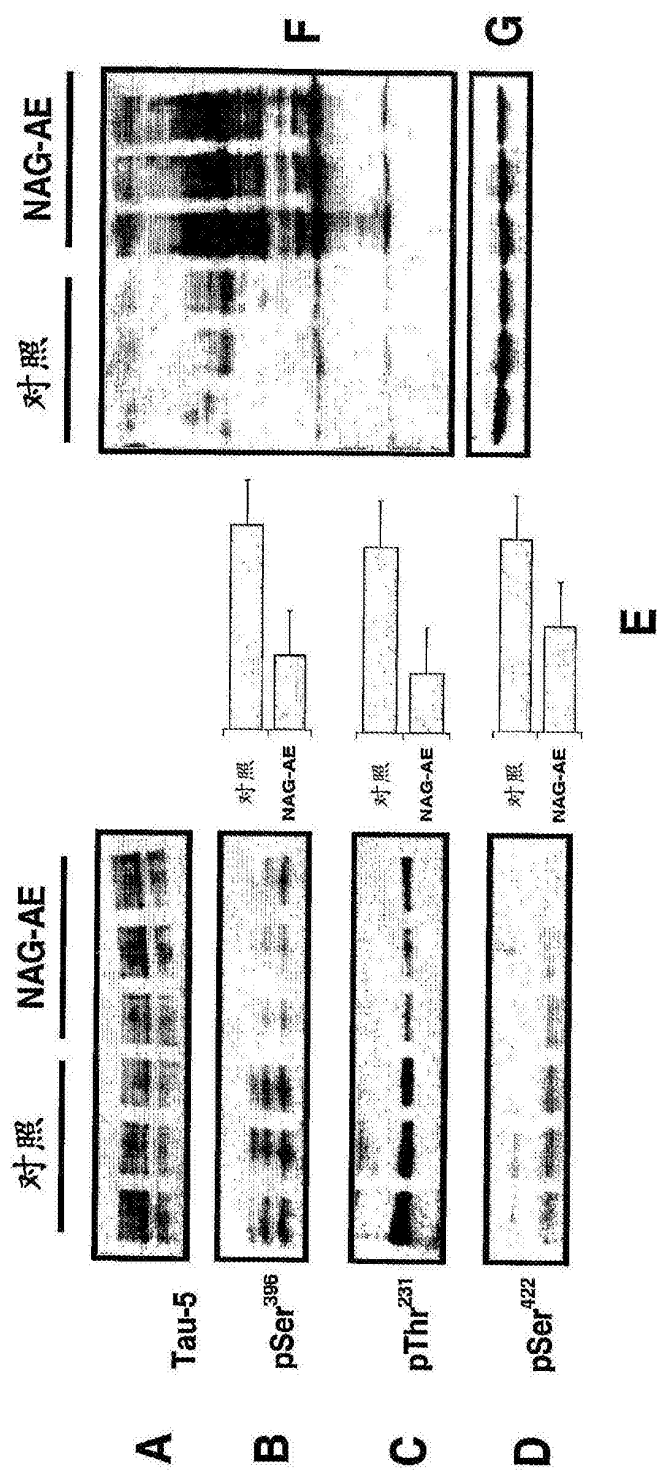


图7