[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl[7]
C12N 15/90
C12Q 1/56
C12Q 1/34

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02824474.5

[43] 公开日 2005 年 3 月 30 日

[11] 公开号 CN 1602360A

[22] 申请日 2002.12.6 [21] 申请号 02824474.5

[30] 优先权

[32] 2001.12.6 [33] US [31] 60/337,082

[32] 2002.1.16 [33] US [31] 60/349,659

[32] 2002.2.25 [33] US [31] 60/359,683

[32] 2002.6.5 [33] US [31] 60/386,488

[86] 国际申请 PCT/US2002/039163 2002.12.6

[87] 国际公布 WO2003/053997 英 2003.7.3

[85] 进入国家阶段日期 2004.6.7

[71] 申请人 法布罗根股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 S·J·克劳斯 A·Y·林

T·B·内夫 Q·王

V·京策尔-普卡尔 M·P·阿伦

L·A·费利品

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所

代理人 朱黎明

权利要求书 3 页 说明书 57 页 序列表 2 页

附图 8 页

[54] 发明名称 提高内源性红细胞生成素(EPO)的方法

[57] 摘要

本发明涉及通过提高体内和体外内源性红细胞生成素来治疗红细胞生成素相关疾病的方法。还包括治疗、预治疗或预调理、或者预防红细胞生成素相关疾病的方法。提供用于这些方法的化合物和鉴定这些化合物的方法。

ISSN1008-4274

1. 一种提高对象中内源性红细胞生成素(EPO)的方法，其特征在于，该方法包括稳定组织缺氧诱导因子α亚单位(HIFα)。

2. 一种提高对象中内源性红细胞生成素的方法，其特征在于，该方法包括抑制HIFα的羟基化。

3. 一种提高对象中内源性红细胞生成素的方法，其特征在于，该方法包括抑制2-酮戊二酸双加氧酶的酶活性。

4. 一种提高对象中内源性红细胞生成素的方法，其特征在于，该方法包括抑制HIF脯氨酰羟化酶的酶活性。

5. 如权利要求1所述的方法，其中，HIFα选自HIF-1α、HIF-2α、HIF-3α或其片段。

6. 如权利要求1所述的方法，其中HIFα对所述对象是内源性的。

7. 如权利要求3所述的方法，其中所述2-酮戊二酸双加氧酶选自EGLN1、EGLN2、EGLN3、原胶原蛋白脯氨酰4-羟化酶、原胶原蛋白脯氨酰3-羟化酶、原胶原蛋白赖氨酰羟化酶、PHD4、FIH-1及其亚单位或片段。

8. 如权利要求4所述的方法，其中所述HIF脯氨酰羟化酶选自EGLN1、EGLN2、EGLN3及其亚单位或片段。

9. 如权利要求1所述的方法，其中所述方法包括给予能提高内源性EPO的化合物。

10. 一种治疗、预防或预治疗对象中EPO相关疾病的方法，其特征在于，该方法包括提高内源性EPO。

11. 一种治疗、预防或预治疗对象中EPO相关疾病的方法，其特征在于，该方法包括稳定HIFα。

12. 一种治疗、预防或预治疗对象中EPO相关疾病的方法，其特征在于，该方法包括抑制HIFα的羟基化。

13. 一种治疗、预防或预治疗对象中EPO相关疾病的方法，其特征在于，该方法包括抑制2-酮戊二酸双加氧酶的酶活性。

14. 一种治疗、预防或预治疗对象中EPO相关疾病的方法，其特征在于，该方法包括抑制HIF脯氨酰羟化酶的酶活性。

15. 一种治疗、预防或预治疗对象贫血的方法，其特征在于，该方法包括提高内源性EPO。

16. 如权利要求 15 所述的方法，其中该方法包括稳定 HIFα。

17. 如权利要求 15 所述的方法，其中该方法包括抑制 2-酮戊二酸双加氧酶的酶活性。

18. 如权利要求 15 所述的方法，其中该方法包括抑制 HIF 脯氨酰羟化酶的酶活性。

19. 如权利要求 15 所述的方法，其中所述贫血与血色素或红血球异常有关。

20. 如权利要求 15 所述的方法，其中所述贫血与糖尿病、癌症、溃疡、肾疾病、免疫抑制疾病、感染和炎症有关。

21. 如权利要求 15 所述的方法，其中所述贫血与放疗、化疗、透析和外科手术的治疗过程有关。

22. 如权利要求 15 所述的方法，其中所述贫血与失血有关。

23. 如权利要求 22 所述的方法，其中所述失血与出血疾病、创伤、损伤或外科手术有关。

24. 如权利要求 15 所述的方法，其中所述贫血与铁的转运、加工和利用的缺陷有关。

25. 如权利要求 15 所述的方法，该方法还包括给予所述对象选自下列的化合物：补铁剂、维生素 B_{12}、叶酸、外源性红细胞生成素、和粒细胞集落刺激因子。

26. 一种治疗、预防或预治疗对象神经疾病的方法，其特征在于，所述方法包括提高内源性 EPO。

27. 如权利要求 26 所述的方法，其中该方法包括稳定 HIFα。

28. 如权利要求 26 所述的方法，其中该方法包括抑制 2-酮戊二酸双加氧酶的酶活性。

29. 如权利要求 26 所述的方法，其中该方法包括抑制 HIF 脯氨酰羟化酶的酶活性。

30. 如权利要求 26 所述的方法，其中所述神经性疾病与中风、创伤、癫痫症和神经变性疾病有关。

31. 一种提高对象中的氧消耗的方法，其特征在于，所述方法包括提高内源性 EPO。

32. 如权利要求 9 所述的方法，其中所述化合物稳定 HIFα。

33. 如权利要求 9 所述的方法，其中所述化合物能抑制 HIFα的羟基化。

34. 如权利要求 9 所述的方法，其中所述化合物能抑制 2-酮戊二酸双加氧酶的酶活性。

35. 如权利要求 9 所述的方法，其中所述化合物能抑制 HIF 脯氨酰羟化酶的酶活性。

36. 如权利要求 9 所述的方法，其中所述化合物选自杂环羧酰胺、菲咯啉、异羟肟酸及其生理活性盐和由其制得的药物前体。

37. 如权利要求 36 所述的方法，其中所述杂环羧酰胺选自吡啶羧酰胺、喹啉羧酰胺、异喹啉羧酰胺、噌啉羧酰胺和β咔啉羧酰胺。

38. 如权利要求 9 所述的方法，其中所述化合物以口服制剂输送。

39. 如权利要求 9 所述的方法，其中所述化合物以透皮制剂输送。

40. 一种鉴定能提高内源性 EPO 的化合物的方法，其特征在于，该方法包括：

(1) 给予对象一种化合物；

(2) 测定该对象中或该对象样品中的 EPO；

(3) 将对象中或该对象样品中的 EPO 与标准进行比较，若该对象中或该对象的样品中的 EPO 有所增加，表明该化合物可提高内源性 EPO。

41. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述稳定是体内稳定。

42. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述稳定是体外稳定。

43. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述对象是动物。

44. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述对象是哺乳动物。

45. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述对象是人体。

46. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述对象是细胞。

提高内源性红细胞生成素(EPO)的方法

本申请要求2002年1月16日提交的美国临时申请60/349,659、2002年6月5日提交的美国临时申请60/386,488、2001年12月6日提交的美国临时申请60/337,082和2002年2月25日提交的美国临时申请60/359,683的权益。上述各个申请在此全文引为参考。

发明领域

本发明涉及在体内和体外提高内源性红细胞生成素的方法，并涉及可用于该方法的化合物。

发明背景

红细胞生成素(EPO)是一种自然产生的激素，可刺激产生身体中携带氧的红细胞（红血球）。红细胞生成素通常由肾脏分泌。在缺氧（组织缺氧）的条件下内源性红细胞生成素会增加。各种贫血的特征是血液携带氧的容量下降，从而具有类似的表现和症状，包括皮肤和粘膜苍白、虚弱、头昏眼花、容易疲劳、嗜睡，导致生活质量下降。重症贫血患者表现为呼吸困难和心功能失常。贫血通常与血液缺乏红血细胞或血红素(hemoglobin)有关。

贫血常见源因包括缺乏铁、维生素 B_{12} 和叶酸。贫血还可由慢性疾病(例如炎症，包括骨髓受炎症抑制造成的疾病等)发展而成。贫血还可由失血（例如由于事故、外科手术或药物如阿司匹林和布洛吩引起的肠胃出血）引起。连续的失血还见于月经周期严重失血的女性，以及胃溃疡十二指肠溃疡、痔疮或胃癌或肠癌等病人。

各种情况可能破坏红血球(溶血)，从而导致贫血。例如，对细胞毒素的过敏反应和各种化学制剂（例如磺酰胺和苯）的过敏反应可导致溶血。溶血性贫血通常由化学性毒物、寄生虫、传染或镰状细胞贫血症引起。另外，还有一些非常见情况，由于机体产生自身红血球的抗体而导致溶血。骨髓疾病或损伤可导致贫血，因为骨髓是生成红血球(即红血球合成)的组织。射线辐照、疾病或各种化学制剂也可能导致骨髓破坏，产生再生障碍性贫血。进行化疗的癌症病人常患有再生障碍性贫血。贫血还与肾功能不全有关，贫血的程度与肾功能不全的程度高度

相关。大多数进行肾透析的肾衰竭病人患有慢性贫血。

除了由肾脏产生以外，红细胞生成素还可由星形细胞和中枢神经系统（CNS）中的神经细胞产生，并且红细胞生成素和红细胞生成素受体表达在脑周边界面的毛细管上。此外，在大脑和脊椎局部失血、机械外伤、癫痫症、excitotoxins 和神经炎症时，全身给药的红细胞生成素可穿过血-脑屏障并降低神经细胞的损失(Sakanaka (1998) 美国国家科学学会会报（Proc Natl Acad Sci U S A） 95:4635-4640; Celik 等，(2002) 美国国家科学学会会报(Proc Natl Acad Sci U S A)99:2258-2263; Brines 等，(2002) 美国国家科学学会会报(Proc Natl Acad Sci U S A)97:10526-10531; Calapai 等(2000) Eur J. Pahrmacol 401:349-356; 和 Siren 等(2001) 等，美国国家科学学会会报(Proc Natl Acad Sci U S A)98:4044-404)。

在八十年代后期，Amgen 介绍了一种经基因工程产生的红细胞生成素用于治疗慢性肾衰竭病人的贫血。还可将红细胞生成素给予待进行化疗和/或放疗的癌症病人，以降低对输血的需求。红细胞生成素可用于治疗与 HIV 感染或叠氮胸苷(AZT)治疗有关的贫血。尽管红细胞生成素治疗的市场扩大了，但是将来的销售受到产品高成本的不利影响。另外，重组红细胞生成素治疗需要每周 1-3 次静脉内给药红细胞生成素，治疗期最长达 12 个星期，这是一种限制自己服药的治疗方案，使病人感到不方便。此外，由于在重组人体红细胞生成素中广泛的不同程度的糖基化作用不易重复，因此人体血清红细胞生成素的分子大小存在异质性。

鉴于目前在重组红细胞生成素的制造和使用中存在的缺陷，还需要一种能有效治疗与红细胞生成素相关疾病(例如贫血，包括与糖尿病、溃疡、肾衰竭、癌症、感染、透析、外科手术和化疗有关的贫血)的方法和化合物。具体地说，本领域需要能提高内源性红细胞生成素的方法和化合物。

发明概述

本发明总体上涉及提高内源性红细胞生成素的方法。在一个方面，本发明提供一种提高对象内源性红细胞生成素(EPO)的方法，该方法包括稳定组织缺氧诱导因子α亚单位(subunit)(HIFα)。在另一方面，本发明提供一种提高对象内源性红细胞生成素(EPO)的方法，该方法包括抑制组织缺氧诱导因子α亚单位的羟基化。再一方面，本发明提供一种提高对象内源性红细胞生成素(EPO)的方法，该方法包括抑制 2-酮戊二酸盐双加氧酶的酶活性。另一方面本发明还提供一种提高对象内源性红细胞生成素(EPO)的方法，该方法包括抑制组织缺氧诱导因子

（HIF）的脯氨酰羟化酶活性。

在各种实施例中，所述对象可以是动物、哺乳动物、人、细胞、组织、器官等。

在一个方面，本发明提供一种提高内源性红细胞生成素(EPO)的方法，该方法包括稳定组织缺氧诱导因子α亚单位(HIFα)，所述稳定发生在体内。还提供一种提高内源性红细胞生成素(EPO)的方法，该方法包括稳定组织缺氧诱导因子α亚单位(HIFα)，所述稳定发生在体外。

在本发明的一个具体实施例中，提供一种稳定内源性组织缺氧诱导因子α亚单位(HIFα)的方法，所述组织缺氧诱导因子α亚单位(HIFα)选自 HIF-1α、HIF-2α、HIF-3α及其片段。在一个实施例中，所述 HIFα是对象内源产生的。

在本发明涉及抑制 2-酮戊二酸盐双加氧酶的酶活性的方法中，提供各种实施例，其中所述 2-酮戊二酸盐双加氧酶选自 EGLN1、EGLN2、EGLN3、酸溶胶原蛋白脯氨酰 4-羟化酶、酸溶胶原蛋白脯氨酰 3-羟化酶、酸溶胶原蛋白赖氨酰羟化酶、PHD4、FIH-1 及其它们的亚单位或片段。对于包括抑制组织缺氧诱导因子脯氨酰羟化酶的酶活性，提高内源性红细胞生成素(EPO)的方法，其实施例中所述组织缺氧诱导因子脯氨酰羟化酶选自 EGLN1、EGLN2、EGLN3 及其亚单位或片段。

本发明优选的提高内源性红细胞生成素(EPO)的方法包括给予所述对象能提高内源性红细胞生成素(EPO)的化合物。在一个方面，所述化合物能稳定组织缺氧诱导因子α亚单位。在另一个方面，该化合物能抑制组织缺氧诱导因子α亚单位的羟基化。在另一个方面，该化合物能抑制 2-酮戊二酸盐双加氧酶的酶活性。在再一个方面，该化合物能抑制组织缺氧诱导因子脯氨酰羟化酶的酶活性。

在某些实施例中，本发明提供一种提高对象内源性红细胞生成素(EPO)的方法，该方法包括给予所述对象一种化合物，所述化合物选自杂环酰胺、菲洛啉、异羟肟酸盐、以及由其制得的生理活性盐和前体药物。在一个具体实施例中，所述化合物是杂环酰胺，选自吡啶酰胺、喹啉酰胺、异喹啉酰胺、噌啉酰胺和β咔啉酰胺。在一个较好的实施例中，所述化合物以口服制剂的形式给予所述对象。在另一个较好实施例中，所述化合物以透皮制剂给药。

本发明提供治疗、预防或预治疗对象的红细胞生成素相关疾病的各种方法。在一个方面，本发明提供治疗、预防或预治疗对象的红细胞生成素相关疾病的方法，该方法包括提高内源性红细胞生成素。在另一方面，提供治疗、预防或预治疗对象的红细胞生成素相关疾病的方法，该方法包括稳定组织缺氧诱导因子α亚单位(HIFα)。在本发明的另一种方法中，用于治疗、预防或预治疗对象的红

细胞生成素相关疾病的方法，包括抑制组织缺氧诱导因子α亚单位(HIFα)的羟基化。在另一方面，本发明提供治疗、预防或预治疗对象的红细胞生成素相关疾病的方法，该方法包括抑制 2-酮戊二酸盐双加氧酶的酶活性。在本发明的再一方面。本发明还提供治疗、预防或预治疗对象的红细胞生成素相关疾病的方法，该方法包括抑制组织缺氧诱导因子（HIF）的脯氨酰羟化酶的酶活性。

本发明具体涉及治疗、预防或预治疗对象贫血的方法。在一个实施例中，所述方法包括提高内源性红细胞生成素（在各个实施例中，包括稳定 HIFα、抑制 2-酮戊二酸盐双加氧酶的酶活性、抑制 HIF 脯氨酰羟化酶的酶活性等）。

本发明的一个方面提供治疗、预防和预治疗/预调理贫血的方法，所述贫血与血色素或红细胞异常有关。另一方面，所述贫血与糖尿病、癌症、溃疡、肾疾病、免疫抑制性疾病、感染和炎症有关。在另一方面，所述贫血与选自放疗、化疗、透析和外科手术的治疗过程有关。另一方面，提供治疗、预防和预治疗/预调理贫血的方法，其中贫血与失血有关。在各种情况下，失血与出血疾病、创伤、损伤、外科手术等有关。在具体实施例中贫血可能与铁的输送、加工或利用的缺陷有关。提供预治疗/预调理、预防或治疗贫血的方法，该方法包括提高内源性红细胞生成素，还包括给予对象选自补铁剂、维生素 B_{12}、叶酸、外源性红细胞生成素和粒细胞集落刺激因子等的化合物。

本发明还涉及治疗、预防或预治疗对象的神经疾病的方法，该方法包括提高内源性红细胞生成素。在各种情况下，所述方法包括稳定组织缺氧诱导因子α亚单位(HIFα)、抑制 2-酮戊二酸盐双加氧酶的酶活性、和抑制组织缺氧诱导因子脯氨酰羟化酶的酶活性。本发明认为在某些方面所述神经疾病与选自中风、创伤、癫痫症、和神经退行性疾病有关。

在一个方面，本发明包括提高对象耗氧的方法，该方法包括提高内源性红细胞生成素。

还提供鉴定能提高对象内源性红细胞生成素的化合物的方法。在一个实施例中，本发明提供鉴定能提高对象内源性红细胞生成素的化合物的方法，该方法包括给予对象所述化合物，测定该对象中或该对象样品中的红细胞生成素，将该对象或对象样品中的红细胞生成素与标准值比较，若该对象中或该对象样品中红细胞生成素比标准值高，表明该化合物能提高内源性红细胞生成素。

本发明方法能提高活体外(例如细胞培养物中)或在体内(例如动物中)内源性红细胞生成素。较好的是，所述动物是哺乳动物（如猫或狗），更好的是，所述动物是人。在某些实施例中，本发明方法能增加组织(包括，但不限于肾脏、

肝脏、造血组织和/或神经组织)中内源性红细胞生成素的合成。在其它实施例中，本发明方法用于预防、预治疗或治疗红细胞生成素相关疾病，包括神经疾病和贫血。与贫血有关的红细胞生成素相关疾病包括，但不限于多囊肾疾病、慢性肾衰竭、糖尿病、癌症、溃疡和免疫抑制性疾病(如艾滋病)。在其它实施例中，本发明方法可用于治疗与治疗方法(包括，但不限于放疗、化疗、肾透析或外科手术)相关的贫血。在具体的实施例中，本发明方法可用于提高因使用叠氮胸苷或其它逆转录酶抑制剂治疗 HIV 感染的贫血患者内源性红细胞生成素的水平。在另一个实施例中，所述方法可用于提高接受含环状顺氯氨铂或非顺氯氨铂化疗的贫血癌症病人内源性红细胞生成素。在其它实施例中，所述方法可用于提高安排接受选择性非心脏非血管性外科手术的贫血病人内源性红细胞生成素水平，从而降低对同种异体输血的需求，或有助于外科手术前储存血液。在一个具体的实施例中，所述方法可用于在治疗（例如需要进行动脉钳制的外科手术，如胸腹动脉外科手术）前增加对象的内源性红细胞生成素水平。在另一个实施例中，所述方法可用于增加体内细胞产生的内源性红细胞生成素。

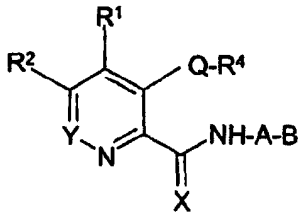
本发明的一个方面提供能提高内源性红细胞生成素血浆水平的化合物。在一个实施例中，给予患有红细胞生成素相关疾病的对象单独或与药学上可接受的赋形剂一起给药的治疗有效量的化合物或其药学上可接受的盐。在另一个方面，给予贫血病患者单独或与药学上可接受的赋形剂一起给药的治疗有效量的化合物或其药学上可接受的盐。

本发明较好的实施例包括采用口服和透皮输送机制的方法。与现有的治疗方法相比这种机制具有优点，例如提高了给药的方便性、病人可自己服药、成本降低、很少需要医生访问、并降低了发生感染和免疫并发症的风险、可将某些对象由于重组红细胞生成素剂量给药造成的副作用降至最低。在一个较好的实施例中，本发明方法包括口服给予能提高内源性红细胞生成素水平的化合物。因此，本发明还提供包含本发明化合物的口服制剂。在另一个较好实施例中，本发明方法包括透皮给予能提高内源性红细胞生成素水平的化合物。因此，本发明还提供含有本发明化合物的透皮贴片或垫。

在另一方面，本发明提供一种化合物，它能提高培养细胞产生的内源性红细胞生成素，还提供一种采用体外细胞培养技术利用该化合物制造红细胞生成素的方法。在一个实施例中，该方法包括在适合产生红细胞生成素的条件下向培养的细胞中加入有效量的所述化合物或其药学上可接受的盐，收集并纯化细胞产生红细胞生成素。可在体外产生红细胞生成素的细胞的例子包括肝细胞，例如 Hep3B

肝癌细胞。

在某些实施例中，用于本发明方法的化合物选自结构式(I)的化合物：



(I)

其中：

A 是 1,2-亚芳基、1,3-亚芳基、1,4-亚芳基、或(C_1-C_4)亚烷基，其可任选地被一个或两个卤素、氰基、硝基、三氟甲基、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)羟烷基、(C_1-C_6)烷氧基、$-O-(CH_2)_x-C_fH_{(2f+1-g)}$卤素$_g$、$(C_1-C_6)$氟烷氧基、$(C_1-C_8)$氟烯氧基、$(C_1-C_8)$氟炔氧基、$-OCF_2Cl$、$-O-CF_2-CHFCl$、$(C_1-C_6)$烷巯基、$(C_1-C_6)$烷亚硫酰基、$(C_1-C_6)$烷磺酰基、$(C_1-C_6)$烷基羰基、$(C_1-C_6)$烷氧基羰基、氨基甲酰基、N-$(C_1-C_4)$烷基氨基甲酰基、N,N-二$(C_1-C_4)$烷基氨基甲酰基、$(C_1-C_6)$烷基羰基氧基、$(C_3-C_8)$环烷基、苯基、苄基、苯氧基、苄氧基、苯胺基、N-甲基苯胺基、苯基巯基、苯基磺酰基、苯基亚硫酰基、氨磺酰基、N-(C_1-C_4)烷基氨磺酰基、N,N-二(C_1-C_4)烷基氨磺酰基所取代，或者被取代的(C_6-C_{12})芳氧基、(C_7-C_{11})芳基烷氧基、(C_6-C_{12})芳基、(C_7-C_{11})芳烷基基团所取代，这些用于取代的取代基团在芳环上带有 1-5 个相同或不同的取代基，其选自卤素、氰基、硝基、三氟甲基、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)烷氧基、$-O-(CH_2)_x-C_fH_{(2f+1-g)}$卤素$_g$、$-OCF_2Cl$、$-O-CF_2-CHFCl$、$(C_1-C_6)$烷巯基、$(C_1-C_6)$烷亚硫酰基、$(C_1-C_6)$烷磺酰基、$(C_1-C_6)$烷基羰基、$(C_1-C_6)$烷氧基羰基、氨基甲酰基、N-$(C_1-C_4)$烷基氨基甲酰基、N,N-二$(C_1-C_4)$烷基氨基甲酰基、$(C_1-C_6)$烷基羰基氧基、$(C_3-C_8)$环烷基、氨磺酰基、N-$(C_1-C_4)$烷基氨磺酰基、N,N-二$(C_1-C_4)$烷基氨磺酰基；或者其中 A 是$-CR^5R^6$，$R^5$和$R^6$各自选自氢、$(C_1-C_6)$烷基、$(C_3-C_7)$环烷基、芳基、或者α-氨基酸的α碳原子的取代基，其中所述氨基酸是天然的 L-氨基酸或其 D 异构体。

B 是-COOH、$-NH_2$、$-NHSO_2CF_3$、四唑基、咪唑基、3-羟基异噁唑基、$-CONHCOR^{III}$、$-CONHSOR^{III}$、$-CONHSO_2R^{III}$、其中R^{III}是芳基、杂芳基、(C_3-C_7)环烷基或(C_1-C_4)烷基，其任选地被(C_6-C_{12})芳基、杂芳基、OH、SH、(C_1-C_4)烷基、(C_1-C_4)烷氧基、(C_1-C_4)硫代烷基、(C_1-C_4)亚硫酰基、(C_1-C_4)磺酰基、CF_3、Cl、Br、F、I、NO_2、-COOH、(C_2-C_5)烷氧基羰基、NH_2、单$(C_1-C_4$烷基)氨基、二$(C_1-C_4$烷基)氨基或(C_1-C_4)全氟烷基所单取代；或者其中 B 是CO_2-G 羧基，G 是醇 G-OH 中的基团，G 选自(C_1-C_{20})烷基、(C_3-C_8)环烷基、(C_2-C_{20})烯基、(C_3-C_8)环烯基、视黄基、(C_2-C_{20})炔基、(C_4-C_{20})

烯炔基，其中所述烯基、环烯基、炔基、烯炔基含有一个或多个多键；(C_6-C_{16})碳环芳基、(C_7-C_{16})碳环芳烷基、杂芳基、或杂芳烷基，其中杂芳基或杂芳烷基的杂芳基团部分含有5或6个杂原子；所述G基团可被一个或多个下列基团所取代：羟基、卤素、氰基、三氟甲基、硝基、羧基、(C_1-C_{12})烷基、(C_3-C_8)环烷基、(C_5-C_8)环烯基、(C_6-C_{12})芳基、(C_7-C_{16})芳烷基、(C_2-C_{12})烯基、(C_2-C_{12})炔基、(C_1-C_{12})烷氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基、(C_6-C_{12})芳氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基、(C_1-C_8)羟烷基、$-O-(CH_2)_x-C_fH_{(2f+1-g)}F_g$、$-OCF_2Cl$、$-O-CF_2-CHFCl$、($C_1$-$C_{12}$)烷基羰基、($C_3$-$C_8$)环烷基羰基、($C_6$-$C_{12}$)芳基羰基、($C_7$-$C_{16}$)芳烷基羰基、肉桂酰基、($C_2$-$C_{12}$)烯基羰基、($C_2$-$C_{12}$)炔基羰基、($C_1$-$C_{12}$)烷氧基羰基、($C_1$-$C_{12}$)烷氧基($C_1$-$C_{12}$)烷氧基羰基、 ($C_6$-$C_{12}$)芳氧基羰基、($C_7$-$C_{16}$)芳基烷氧基羰基、($C_3$-$C_8$)环烷氧基羰基、($C_2$-$C_{12}$)烯氧基羰基、($C_2$-$C_{12}$)炔氧基羰基、酰氧基、($C_1$-$C_{12}$)烷氧基羰基氧基、($C_1$-$C_{12}$)烷氧基($C_1$-$C_{12}$)烷氧基羰基氧基、 ($C_6$-$C_{12}$)芳氧基羰基氧基、($C_7$-$C_{16}$)芳基烷氧基羰基氧基、($C_3$-$C_8$)环烷氧基羰基氧基、($C_2$-$C_{12}$)烯氧基羰基氧基、($C_2$-$C_{12}$)炔氧基羰基氧基、氨基甲酰基、N-($C_1$-$C_{12}$)烷基氨基甲酰基、N,N-二($C_1$-$C_{12}$)烷基氨基甲酰基、N-($C_3$-$C_8$)环烷基氨基甲酰基、N-($C_6$-$C_{16}$)芳基氨基甲酰基、N-($C_7$-$C_{16}$)芳烷基氨基甲酰基、N-($C_1$-$C_{10}$)烷基-N-($C_6$-$C_{16}$)芳基氨基甲酰基、N-($C_1$-$C_{10}$)烷基-N-($C_7$-$C_{16}$)芳烷基氨基甲酰基、N-(($C_1$-$C_{10}$)烷氧基-($C_1$-$C_{10}$)烷基）氨基甲酰基、N-(($C_6$-$C_{12}$)芳氧基-($C_1$-$C_{10}$)烷基）氨基甲酰基、N-(($C_7$-$C_{16}$)芳烷基氧基-($C_1$-$C_{10}$)烷基）氨基甲酰基、N-($C_1$-$C_{10}$)烷基-N-(($C_1$-$C_{10}$)烷氧基-($C_1$-$C_{10}$)烷基）氨基甲酰基、N-($C_1$-$C_{10}$)烷基-N-(($C_6$-$C_{16}$)芳氧基-($C_1$-$C_{10}$)烷基）氨基甲酰基、N-($C_1$-$C_{10}$)烷基-N-(($C_7$-$C_{16}$)芳烷基氧基-($C_1$-$C_{10}$)烷基）氨基甲酰基、氨基甲酰氧基、N-($C_1$-$C_{12}$)烷基氨基甲酰氧基、N,N-二($C_1$-$C_{12}$)烷基氨基甲酰氧基、N-($C_3$-$C_8$)环烷基氨基甲酰氧基、N-($C_6$-$C_{12}$)芳基氨基甲酰氧基、N-($C_7$-$C_{16}$)芳烷基氨基甲酰氧基、N-($C_1$-$C_{10}$)烷基-N-($C_6$-$C_{12}$)芳基氨基甲酰氧基、N-($C_1$-$C_{10}$)烷基-N-($C_7$-$C_{16}$)芳烷基氨基甲酰氧基、N-(($C_1$-$C_{10}$)烷基)氨基甲酰氧基、N-(($C_6$-$C_{12}$)芳氧基-($C_1$-$C_{10}$)烷基）氨基甲酰氧基、N-(($C_7$-$C_{16}$)芳烷基氧基-($C_1$-$C_{10}$)烷基）氨基甲酰氧基、N-($C_1$-$C_{10}$)烷基-N-(($C_1$-$C_{10}$)烷氧基-($C_1$-$C_{10}$)烷基）氨基甲酰氧基、N-($C_1$-$C_{10}$)烷基-N-(($C_6$-$C_{12}$)芳氧基-($C_1$-$C_{10}$)烷基)氨基甲酰氧基、N-($C_1$-$C_{10}$)烷基-N-(($C_7$-$C_{16}$)芳烷基氧基-($C_1$-$C_{10}$)烷基）氨基甲酰氧基、氨基、 ($C_1$-$C_{12}$)烷基氨基、二($C_1$-$C_{12}$)烷基氨基、($C_3$-$C_8$)环烷基氨基、($C_2$-$C_{12}$)烯基氨基、($C_2$-$C_{12}$)炔基氨基、N-($C_6$-$C_{12}$)芳基氨基、N-(C-$C_{11}$)芳烷基氨基、N-烷基芳烷基氨基、N-烷基芳基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷基羰基氨基、(C_3-C_8)

环烷基羰基氨基、(C_6-C_{12})芳基羰基氨基、(C_7-C_{16})芳烷基羰基氨基、(C_1-C_{12})烷基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_3-C_8)环烷基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_6-C_{12})芳基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_7-C_{11})芳烷基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_3-C_8)环烷基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{12})芳烷基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、氨基-(C_1-C_8)烷基、N-(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_8)烷基、N,N-二(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_3-C_8)环烷基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_1-C_{12})烷基巯基、(C_1-C_{12})烷基亚硫酰基、(C_1-C_{12})烷基磺酰基、(C_6-C_{16})芳基巯基、(C_6-C_{16})芳基亚硫酰基、(C_6-C_{12})芳基磺酰基、(C_7-C_{16})芳烷基巯基、(C_7-C_{16})芳烷基亚硫酰基、(C_7-C_{16})芳烷基磺酰基、氨磺酰基、N-(C_1-C_{10})烷基氨磺酰基、N,N-二(C_1-C_{10})烷基氨磺酰基、(C_3-C_8)环烷基氨磺酰基、N-(C_6-C_{12})芳基氨磺酰基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨磺酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{12})芳基氨磺酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨磺酰基、(C_1-C_{10})烷基磺酰氨基、N-((C_1-C_{10})烷基)-(C_1-C_{10})烷基磺酰氨基、(C_7-C_{16})芳烷基磺酰氨基或者 N-(C_1-C_{10})烷基(C_7-C_{16})芳烷基磺酰氨基；其中的芳基或含芳基部分的基团可在芳基上被 1-5 个相同或不同的下列基团所取代：羟基、卤素、氰基、三氟甲基、硝基、羧基、(C_1-C_{12})烷基、(C_3-C_8)环烷基、(C_6-C_{12})芳基、(C_7-C_{16})芳烷基、(C_1-C_{12})烷氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基、(C_6-C_{12})芳氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基、(C_1-C_8)羟烷基、(C_1-C_{12})烷基羰基、(C_3-C_8)环烷基羰基、(C_6-C_{12})芳基羰基、(C_7-C_{16})芳烷基羰基、(C_1-C_{12})烷氧基羰基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基羰基、(C_6-C_{12})芳氧基羰基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基羰基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基、(C_2-C_{12})烯氧基羰基、(C_2-C_{12})炔氧基羰基、(C_1-C_{12})烷基羰基氧基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基氧基、(C_6-C_{12})芳氧基羰基氧基、(C_7-C_{16})芳烷基羰基氧基、肉桂酰氧基、(C_2-C_{12})烯基羰基氧基、(C_2-C_{12})炔基羰基氧基、(C_1-C_{12})烷氧基羰基氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基羰基氧基、(C_6-C_{12})芳氧基羰基氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基羰基氧基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基氧基、(C_2-C_{12})烯氧基羰基氧基、(C_2-C_{12})炔氧基羰基氧基、氨基甲酰基、N-(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰基、N,N-二(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰基、N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰基、N-((C_1-C_{10})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基) 氨基甲酰基、N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰基、N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_1-C_{10})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基) 氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_6-C_{16})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基) 氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-

C_{10})烷基)氨基甲酰基、氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰氧基、N,N-二(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰氧基、N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰氧基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰氧基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰氧基、N-((C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰氧基、N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_1-C_{10})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、氨基、(C_1-C_{12})烷基氨基、二(C_1-C_{12})烷基氨基、(C_3-C_8)环烷基氨基、(C_2-C_{12})烯基氨基、(C_2-C_{12})炔基氨基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基、N-(C_7-C_{11})芳烷基氨基、N-烷基芳烷基氨基、N-烷基芳基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷基羰基氨基、(C_3-C_8)环烷基羰基氨基、(C_6-C_{12})芳基羰基氨基、(C_7-C_{16})芳烷基羰基氨基、(C_1-C_{12})烷基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_3-C_8)环烷基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_6-C_{12})芳基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_7-C_{11})芳烷基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_3-C_8)环烷基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{16})芳烷基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、氨基-(C_1-C_8)烷基、N-(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_{10})烷基、N,N-二(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_{10})烷基、(C_3-C_8)环烷基氨基-(C_1-C_{10})烷基、(C_1-C_{12})烷基巯基、(C_1-C_{12})烷基亚硫酰基、(C_1-C_{12})烷基磺酰基、(C_6-C_{12})芳基巯基、(C_6-C_{12})芳基亚硫酰基、(C_6-C_{12})芳基磺酰基、(C_7-C_{16})芳烷基巯基、(C_7-C_{16})芳烷基亚硫酰基或(C_7-C_{16})芳烷基磺酰基；

X是O或S；

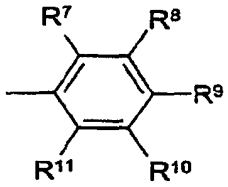
Q是O、S、NR'或连接键；

当Q是连接键时，R^4是卤素、腈基(nitrile)或三氟甲基；

或者当Q是O、S或NR'时，R^4是氢、(C_1-C_{10})烷基、(C_2-C_{10})烯基、(C_2-C_{10})炔基，其中烯基或炔基含有一个或两个C-C多键、结构式$(CH_2)_x$-$C_fH_{(2f+1-g)}F_g$的未取代的氟烷基、(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)烷氧基(C_1-C_4)烷氧基(C_1-C_4)烷基、芳基、杂芳基、(C_7-C_{11})芳烷基或者结构式Z的基团：

$$-(CH_2)_v-(O)_w-(CH_2)_t-E \qquad (Z)$$

其中，E是杂芳基、(C_3-C_8)环烷基或结构式(F)的苯基：



(F)

v=0-6；

w 为 0 或 1；

t=0-3；

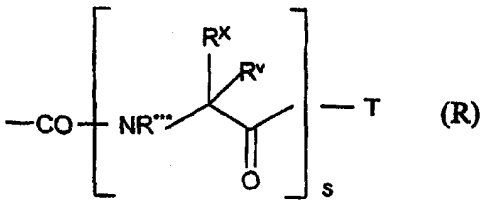
R^7、R^8、R^9、R^{10} 和 R^{11} 相同或不同，为氢、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、(C_1-C_6)烷基、(C_3-C_8)环烷基、(C_1-C_6)烷氧基、$-O-(CH_2)_x-C_fH_{(2f+1-g)}F_g$、$-OCF_2Cl$、$-O-CF_2-CHFCl$、$(C_1-C_6)$烷基巯基、$(C_1-C_6)$羟烷基、$(C_1-C_6)$烷氧基$(C_1-C_6)$烷氧基、$(C_1-C_6)$烷氧基$(C_1-C_6)$烷基、$(C_1-C_6)$烷基亚硫酰基、$(C_1-C_6)$烷磺酰基、$(C_1-C_6)$烷基羰基、$(C_1-C_8)$烷氧基羰基、氨基甲酰基、N-$(C_1-C_8)$烷基氨基甲酰基、N,N-二$(C_1-C_8)$烷基氨基甲酰基或 N-$(C_7-C_{11})$芳烷基氨基甲酰基，其可任选地被下列基团所取代：氟、氯、溴、三氟甲基、(C_1-C_6)烷氧基、N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰基、N-(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_4)烷基氨基甲酰基、(C_1-C_6)烷基羰基氧基、苯基、苄基、苯氧基、苄氧基、NR^yR^z，其中，R^y 和 R^z 分别选自氢、(C_1-C_{12})烷基、(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{12})芳基烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_8)烷基、(C_3-C_{10})环烷基、(C_3-C_{12})烯基、(C_3-C_{12})炔基、(C_6-C_{12})芳基、(C_7-C_{11})芳烷基、(C_1-C_{12})烷氧基、(C_7-C_{12})芳基烷氧基、(C_1-C_{12})烷基羰基、(C_3-C_8)环烷基羰基、(C_6-C_{12})芳基羰基、(C_7-C_{16})芳烷基羰基，或者 R^y 和 R^z 一起形成$-(CH_2)_h$，其中一个 CH_2 基团可被 O、S、N-(C_1-C_4)烷基羰基亚氨基或 N-(C_1-C_4)烷氧基羰基亚氨基所代替；苯基巯基、苯基磺酰基、苯基亚硫酰基、氨磺酰基、N-(C_1-C_8)烷基氨磺酰基、或 N,N-二(C_1-C_8)烷基氨磺酰基；或者 R^7 和 R^8、R^8 和 R^9、R^9 和 R^{10} 或 R^{10} 和 R^{11} 一起形成选自$-(CH_2)_n-$或$-CH=CH-CH=CH-$链，其中该链的一个 CH_2 基团任选地被 O、S、SO、SO_2 或 NR^y 所代替，n 为 3、4 或 5；如果 E 是杂芳基，则所述基团可带有 1-3 个选自如 R^7-R^{11} 所定义的取代基；或者如果 E 是环烷基，则该基团可带有一个选自如 R^7-R^{11} 所定义的取代基。

或者如果 Q 是 NR'，R^4 是 R″，其中 R' 和 R″可相同或不同，为氢、(C_6-C_{12})芳基、(C_7-C_{11})芳烷基、(C_1-C_8)烷基、(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{12})芳基烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_8)烷基、(C_1-C_{10})烷基羰基，其可任选地被(C_7-C_{16})芳烷基羰基所取代，或者任选地被(C_6-C_{12})芳基羰基所取代；或者 R' 和 R″一起形成$-(CH_2)_h$，其中一个 CH_2 基团可被 O、S、N-酰基亚氨基或 N-(C_1-C_{10})烷氧基羰基亚氨基所代替，h 为 3-7。

Y 是 N 或 CR^3。

R^1、R^2和R^3可相同或不同，为氢、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、硝基、羧基、(C_1-C_{20})烷基、(C_3-C_8)环烷基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_{12})烷基、(C_3-C_8)环烷氧基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_8)烷氧基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_{12})烷基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_8)烷基(C_1-C_6)烷氧基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_6-C_{12})芳基、(C_7-C_{16})芳烷基、(C_7-C_{16})芳烯基、(C_7-C_{16})芳炔基、(C_2-C_{20})烯基、(C_2-C_{20})炔基、(C_1-C_{20})烷氧基、(C_2-C_{20})烯氧基、(C_2-C_{20})炔氧基、视黄基氧基、(C_1-C_{20})烷氧基(C_1-C_{12})烷基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_6)烷氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基(C_1-C_6)烷氧基、(C_1-C_{16})羟烷基、(C_6-C_{16})芳氧基(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_7-C_{12})芳基烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_2-C_{20})烯氧基(C_1-C_6)烷基、(C_2-C_{20})炔氧基(C_1-C_6)烷基、视黄基氧基(C_1-C_6)烷基、-O-$(CH_2)_x$-$C_fH_{(2f+1-g)}F_g$、-OCF_2Cl、-O-CF_2-CHFCl、(C_1-C_{20})烷基羰基、(C_3-C_8)环烷基羰基、(C_6-C_{12})芳基羰基、(C_7-C_{16})芳烷基羰基、肉桂酰基、(C_2-C_{20})烯基羰基、(C_2-C_{20})炔基羰基、(C_1-C_{20})烷氧基羰基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基羰基、(C_6-C_{12})芳氧基羰基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基羰基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基、(C_2-C_{20})烯氧基羰基、视黄基氧基羰基、(C_2-C_{20})炔氧基羰基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_6)烷氧基羰基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_6)烷氧基羰基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_6)烷氧基羰基、(C_1-C_{12})烷氧基羰基氧基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基氧基、(C_6-C_{12})芳基羰基氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基羰基氧基、肉桂酰氧基、(C_2-C_{12})烯氧基羰基氧基、(C_2-C_{12})炔氧基羰基氧基、(C_1-C_{12})烷氧基羰基氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基羰基氧基、(C_6-C_{12})芳氧基羰基氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基羰基氧基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基氧基、(C_2-C_{12})烯氧基羰基氧基、(C_2-C_{12})炔氧基羰基氧基、氨基甲酰基、N-(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰基、N,N-二(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰基、N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰基、N,N-二环(C_3-C_8)烷基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰基、N-((C_3-C_8)环烷基(C_1-C_6)烷基)氨基甲酰基、N-(C_1-C_6)烷基-N-((C_3-C_8)环烷基（C_1-C_6）烷基)氨基甲酰基、N-(+)脱水松香基氨基甲酰基、N-（C_1-C_6）烷基-N-(+)脱水松香基氨基甲酰基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{16})芳基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰基、N-((C_1-C_{18})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-((C_6-C_{16})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基

-N-((C1-C10)烷氧基-(C1-C10)烷基）氨基甲酰基、N-(C1-C10)烷基-N-((C6-C12)芳氧基-(C1-C10)烷基）氨基甲酰基、N-(C1-C10)烷基-N-((C7-C16)芳烷基氧基-(C1-C10)烷基）氨基甲酰基、CON(CH2)h，其中，CH2基团可被O、S、N-(C1-C8)烷基亚氨基、N-(C3-C8)环烷基亚氨基、N-(C3-C8)环烷基(C1-C4)烷基亚氨基、N-(C6-C12)芳基亚氨基、N-(C7-C16)芳烷基亚氨基、N-(C1-C4)烷氧基(C1-C6)烷基亚氨基所代替，h 为3-7；结构式 R 的氨基甲酰基：



(R)

其中，

R^x和R^y各自为氢、C_{1-6}烷基、C_{3-7}环烷基、芳基或者α氨基酸的α碳原子取代基，所述α氨基酸属于L-和D-氨基酸，

s=1-5；

T 是 OH 或 NR^*R^{**}，R^*、R^{**}和R^{***}可相同或不同，选自氢、C_{6-12}芳基、C_{7-11}芳烷基、C_{1-8}烷基、C_{3-8}环烷基、(+)-脱水松香基、C_{1-8}烷氧基-C_{1-8}烷基、C_{7-12}芳基烷氧基C_{1-8}烷基、C_{6-12}芳氧基C_{1-8}烷基、C_{1-10}烷酰基，其可任选地被C_{7-16}芳基烷酰基所取代，任选地被C_{6-12}芳酰基所取代；或者R^*和R^{**}一起形成-$(CH_2)_h$，其中一个CH_2基团可被O、S、SO、SO_2、N-酰基氨基、N-(C1-C10)烷氧基羰基亚氨基、N-(C1-C8)烷基亚氨基、N-(C3-C8)环烷基亚氨基、N-(C3-C8)环烷基-(C1-C4)烷基亚氨基、N-(C6-C12)芳基亚氨基、N-(C7-C16)芳烷基亚氨基、N-(C1-C4)烷氧基(C1-C6)烷基亚氨基所代替，h 为3-7；

氨基甲酰氧基、N-(C1-C12)烷基氨基甲酰氧基、N,N-二(C1-C12)烷基氨基甲酰氧基、N-(C3-C8)环烷基氨基甲酰氧基、N-(C6-C12)芳基氨基甲酰氧基、N-(C7-C16)芳烷基氨基甲酰氧基、N-(C1-C10)烷基-N-(C6-C12)芳基氨基甲酰氧基、N-(C1-C10)烷基-N-(C7-C16)芳烷基氨基甲酰氧基、N-((C1-C10)烷基)氨基甲酰氧基、N-((C6-C12)芳氧基-(C1-C10)烷基）氨基甲酰氧基、N-((C7-C16)芳烷基氧基-(C1-C10)烷基）氨基甲酰氧基、N-(C1-C10)烷基-N-((C1-C10)烷氧基-(C1-C10)烷基）氨基甲酰氧基、N-(C1-C10)烷基-N-((C6-C12)芳氧基-(C1-C10)烷基）氨基甲酰氧基、N-(C1-C10)烷基-N-((C7-C16)芳烷基氧基-(C1-C10)烷基）氨基甲酰氧基、氨基、 (C1-C12)烷基氨基、二(C1-C12)烷基氨基、(C3-C8)环烷基氨基、(C3-C12)烯基氨基、(C3-C12)炔基氨基、N-(C6-C12)芳基氨基、N-(C7-C11)芳烷基氨基、N-烷基芳烷基氨基、N-烷基芳基氨

基、(C_1-C_{12})烷氧基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷酰基氨基、(C_3-C_8)环烷酰基氨基、(C_6-C_{12})芳酰基氨基、(C_7-C_{16})芳烷酰基氨基、(C_1-C_{12})烷酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_3-C_8)环烷酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_6-C_{12})芳酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_7-C_{11})芳烷酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_3-C_8)环烷酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{16})芳烷酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、氨基-(C_1-C_8)烷基、N-(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_8)烷基、N,N-二(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_{10})烷基、(C_3-C_8)环烷基氨基-(C_1-C_{10})烷基、(C_1-C_{20})烷基巯基、(C_1-C_{20})烷基亚硫酰基、(C_1-C_{20})烷基磺酰基、(C_6-C_{12})芳基巯基、(C_6-C_{12})芳基亚硫酰基、(C_6-C_{12})芳基磺酰基、(C_7-C_{16})芳烷基巯基、(C_7-C_{16})芳烷基亚硫酰基、(C_7-C_{16})芳烷基磺酰基、(C_1-C_{16})烷基巯基-(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_{12})烷基亚硫酰基-(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_{12})烷基磺酰基-(C_1-C_6)烷基、(C_6-C_{12})芳基巯基-(C_1-C_6)烷基、(C_6-C_{12})芳基亚硫酰基-(C_1-C_6)烷基、(C_6-C_{12})芳基磺酰基-(C_1-C_6)烷基、(C_7-C_{16})芳烷基巯基-(C_1-C_6)烷基、(C_7-C_{16})芳烷基亚硫酰基-(C_1-C_6)烷基、(C_7-C_{16})芳烷基磺酰基-(C_1-C_6)烷基、氨磺酰基、N-(C_1-C_{10})烷基氨磺酰基、N,N-二(C_1-C_{10})烷基氨磺酰基、(C_3-C_8)环烷基氨磺酰基、N-(C_6-C_{12})芳基氨磺酰基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨磺酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{12})芳基氨磺酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨磺酰基、(C_1-C_{10})烷基磺酰氨基、N-$((C_1-C_{10})$烷基$)-(C_1-C_{10})$烷基磺酰氨基、(C_7-C_{16})芳烷基磺酰氨基和N-(C_1-C_{10})烷基(C_7-C_{16})芳烷基磺酰氨基；其中的芳基可被1-5个下列基团所取代：羟基、卤素、氰基、三氟甲基、硝基、羧基、(C_2-C_{16})烷基、(C_3-C_8)环烷基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_{12})烷基、(C_3-C_8)环烷氧基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_{12})烷氧基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_{12})烷基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_8)烷基(C_1-C_6)烷氧基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_8)烷氧基、(C_6-C_{12})芳基、(C_7-C_{16})芳烷基、(C_2-C_{16})烯基、(C_2-C_{12})炔基、(C_1-C_{16})烷氧基、(C_1-C_{16})烯氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_6)烷氧基、(C_7-C_{16})芳烷氧基(C_1-C_6)烷氧基、(C_1-C_8)羟烷基、(C_6-C_{16})芳氧基(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{16})芳烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_7-C_{12})芳烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、$-O-(CH_2)_x-C_fH_{(2f+1-g)}F_g$、$-OCF_2Cl$、$-O-CF_2-CHFCl$、$(C_1-C_{12})$烷基羰基、$(C_3-C_8)$环烷基羰基、$(C_6-C_{12})$芳基羰基、$(C_7-C_{16})$芳烷基羰基、$(C_1-C_{12})$烷氧基羰基、$(C_1-C_{12})$烷氧基$(C_1-C_{12})$烷氧基羰基、$(C_6-C_{12})$芳氧基羰基、$(C_7-C_{16})$芳基烷氧基羰

基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基、(C_2-C_{12})烯氧基羰基、(C_2-C_{12})炔氧基羰基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_6)烷氧基羰基、(C_7-C_{16})芳烷氧基(C_1-C_6)烷氧基羰基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_6)烷氧基羰基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_6)烷氧基羰基、(C_1-C_{12})烷基羰基氧基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基氧基、(C_6-C_{12})芳基羰基氧基、(C_7-C_{16})芳烷基羰基氧基、肉桂酰氧基、(C_2-C_{12})烯基羰基氧基、(C_2-C_{12})炔基羰基氧基、(C_1-C_{12})烷氧基羰基氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基羰基氧基、(C_6-C_{12})芳氧基羰基氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基羰基氧基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基氧基、(C_2-C_{12})烯氧基羰基氧基、(C_2-C_{12})炔氧基羰基氧基、氨基甲酰基、N-(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰基、N,N-二(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰基、N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰基、N,N-二环(C_3-C_8)烷基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰基、N-((C_3-C_8)环烷基(C_1-C_6)烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_6)烷基-N-(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_6)烷基氨基甲酰基、N-(+)-脱水松香基氨基甲酰基、N-(C_1-C_6)烷基-N-(+)-脱水松香基氨基甲酰基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{16})芳基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰基、N-((C_1-C_{16})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-((C_6-C_{16})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_1-C_{10})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、$CON(CH_2)_h$，其中，CH_2基团可被下列基团所代替：O、S、N-(C_1-C_8)烷基亚氨基、N-(C_3-C_8)环烷基亚氨基、N-(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_4)烷基亚氨基、N-(C_6-C_{12})芳基亚氨基、N-(C_7-C_{16})芳烷基亚氨基、N-(C_1-C_4)烷氧基(C_1-C_6)烷基亚氨基，h 为 3-7；氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰氧基、N,N-二(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰氧基、N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰氧基、N-(C_6-C_{16})芳基氨基甲酰氧基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰氧基、N-((C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰氧基、N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_1-C_{10})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰氧基、氨基、(C_1-C_{12})烷基氨基、二(C_1-C_{12})烷基氨基、(C_3-C_8)环烷基氨基、(C_3-C_{12})烯基氨基、(C_3-C_{12})炔基氨基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基、N-(C_7-C_{11})芳烷基氨基、N-烷基芳烷基氨基、N-烷基芳基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷酰基氨基、(C_3-C_8)环烷酰基氨基、(C_6-C_{12})

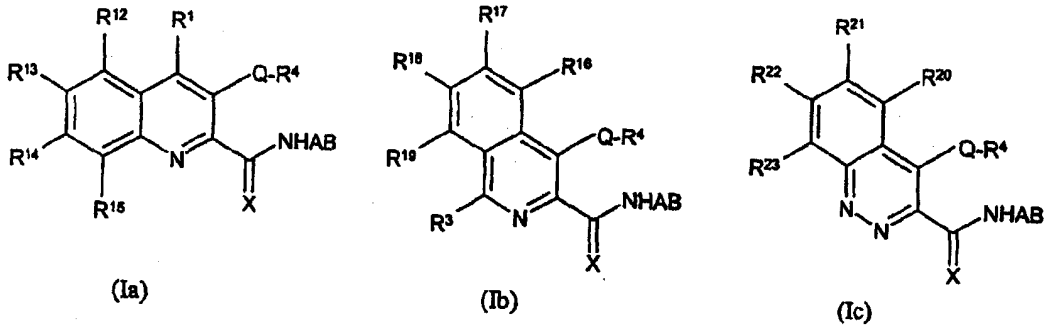
芳酰基氨基、(C_7-C_{16})芳烷酰基氨基、(C_1-C_{12})烷酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_3-C_8)环烷酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_6-C_{12})芳酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_7-C_{11})芳烷酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_3-C_8)环烷酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{16})芳烷酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、氨基-(C_1-C_8)烷基、N-(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_8)烷基、N,N-二(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_{10})烷基、(C_3-C_8)环烷基氨基-(C_1-C_{10})烷基、(C_1-C_{12})烷基巯基、(C_1-C_{12})烷基亚硫酰基、(C_1-C_{12})烷基磺酰基、(C_6-C_{16})芳基巯基、(C_6-C_{16})芳基亚硫酰基、(C_6-C_{16})芳基磺酰基、(C_7-C_{16})芳烷基巯基、(C_7-C_{16})芳烷基亚硫酰基、(C_7-C_{16})芳烷基磺酰基；

或者其中 R^1 和 R^2 或 R^2 和 R^3 形成 $(CH_2)_o$ 链，它是饱和的或者含 C=C 双键不饱和的，其中一个或两个 CH_2 基团可任选地被 O、S、SO、SO_2 或 NR' 所代替，R' 是氢、(C_6-C_{12})芳基、(C_1-C_8)烷基、(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{12})芳基烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_8)烷基、(C_1-C_{10})烯氧基，任选地被取代的(C_7-C_{16})芳基烷酰基所取代，或者任选地被取代的(C_6-C_{12})芳酰基所取代，o 是 3、4 或 5。

或者基团 R^1 和 R^2 或者 R^2 和 R^3 可与携带这些基团的吡啶或哒嗪形成 5,6,7,8-四氢异喹啉环，或者 5,6,7,8-四氢噌啉环。

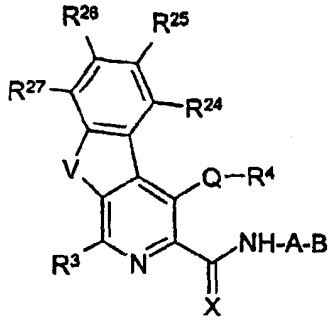
或者其中 R^1 和 R^2 或者 R^2 和 R^3 可形成 5 元或 6 元碳芳环或杂芳环。

或者 R^1 和 R^2 或者 R^2 和 R^3 可与携带这些基团的吡啶或哒嗪形成任选取代的杂环体系，所述杂环体系选自噻吩并吡啶、呋喃并吡啶、吡啶并吡啶、嘧啶并吡啶、咪唑并吡啶、噻唑并吡啶、噁唑并吡啶、喹啉、异喹啉和噌啉。其中，喹啉、异喹啉和噌啉优选能满足结构式 Ia、Ib 和 Ic：



在各种情况下取代基 R^{12}-R^{23} 各自具有 R^1、R^2 和 R^3 的含义。

或者其中基团 R^1 和 R^2 与携带这些基团的吡啶一起形成结构式 Id 的化合物：



(Id)

其中，V 是 S、O 或者 NR^k，R^k 选自氢、(C_1-C_6)烷基、芳基或苄基；其中芳基可任选地被 1-5 个如上定义的取代基所取代。

在各种情况下 R^{24}、R^{25}、R^{26}和 R^{27}各自具有 R^1、R^2、和 R^3的含义；

f=1-8；

g 为 0 或 1-(2f+1)；

x=0-3；

h=3-7；

包括由其衍生的药学上活性的盐和前体药物。

在某些实施例中，上述结构式(I)化合物包括，但不限于 N-((6-(1-丁氧基)-3-羟基喹啉-2-基)羰基)-甘氨酸、N-((6-氯-3-羟基喹啉-2-基)羰基)-甘氨酸、N-((3-羟基-6-(2-丙氧基)-3-羟基喹啉-2-基)羰基)-甘氨酸和 N-((7-氯-3-羟基喹啉-2-基)羰基)-甘氨酸；[(3-甲氧基吡啶-2-羰基)氨基]乙酸；3-甲氧基吡啶-2-羧酸盐酸 N-(((十六烷氧基)羰基)甲基)酰胺、盐酸 3-甲氧基吡啶-2-羧酸 N-(((十六烷氧基)羰基)甲基)酰胺、3-甲氧基吡啶-2-羧酸 N-(((辛氧基)羰基)甲基)酰胺、3-甲氧基吡啶-2-羧酸 N-(((己氧基)羰基)甲基)酰胺、3-甲氧基吡啶-2-羧酸 N-(((丁氧基)羰基)甲基)酰胺、3-甲氧基吡啶-2-羧酸 N-(((壬氧基)羰基)甲基)酰胺外消旋物、3-甲氧基吡啶-2-羧酸 N-(((己氧基)羰基)甲基)酰胺、3-苄氧基吡啶-2-羧酸 N-(((辛氧基)羰基)甲基)酰胺、3-苄氧基吡啶-2-羧酸 N-(((丁氧基)羰基)甲基)酰胺、5-(((3-(1-丁氧基)丙基)-氨基)羰基)-3-甲氧基吡啶-2-羧酸 N-((苄氧基羰基)甲基)酰胺、5-(((3-(十二烷氧基)丙基)-氨基)羰基)-3-甲氧基吡啶-2-羧酸 N-((苄氧基羰基)甲基)酰胺、盐酸 3-羟基吡啶-2-羧酸 N-(((十六烷氧基)羰基)甲基)酰胺、3-羟基吡啶-2-羧酸 N-(((1-辛氧基)羰基)甲基)酰胺、3-羟基吡啶-2-羧酸 N-(((己氧基)羰基)甲基)酰胺、3-羟基吡啶-2-羧酸 N-(((丁氧基)羰基)甲基)酰胺、3-羟基吡啶-2-羧酸 N-(((2-壬氧基)羰基)甲基)酰胺外消旋物、3-羟基吡啶-2-羧酸 N-(((庚氧基)羰基)甲基)酰胺、3-苄氧基吡啶-2-羧酸 N-(((辛氧基)羰基)甲基)酰胺、3-苄氧基吡啶-2-羧酸 N-(((丁氧

基)羰基)甲基)酰胺、5-(((3-(1-丁氧基)丙基)氨基)羰基)-3-羟基吡啶-2-羧酸N-((苄氧基羰基)甲基)酰胺、5-(((3-(1-丁氧基)丙基)氨基)羰基)-3-羟基吡啶-2-羧酸 N-(((1-丁氧基)-羰基)甲基)酰胺和 5-(((3-十二烷氧基)丙基)氨基)羰基)-3-羟基吡啶-2-羧酸N-(((苄氧基)-羰基)甲基)酰胺。在其它实施例中，上面定义的结构式(Ia)化合物包括，但不限于 N-((6-(1-丁氧基)-3-羟基喹啉-2-基)羰基)-甘氨酸、N-((6-氯-3-羟基喹啉-2-基)羰基)-甘氨酸、N-((3-羟基-6-(2-丙氧基)-喹啉-2-基)羰基)-甘氨酸、N-((7-氯-3-羟基喹啉-2-羰基)氨基)乙酸、((3-苄氧基-7-氯喹啉-2-羰基)氨基)乙酸、((3-羟基-6-异丙基喹啉-2-羰基)氨基)乙酸、((3-羟基-6-苯氧基喹啉-2-羰基)氨基)乙酸、((3-羟基-6-三氟甲氧基喹啉-2-羰基)氨基)乙酸。在其它实施例中，上面定义的结构式(Ib)化合物包括，但不限于 N-((1-氯-4-羟基-7-(2-丙氧基)异喹啉-3-基)羰基)甘氨酸、N-((7-溴-4-羟基异喹啉-3-羰基)氨基)乙酸、N-((1-氯-4-羟基-6-(2-丙氧基)异喹啉-3-基)羰基)甘氨酸、N-((1-氯-4-羟基-7-甲氧基异喹啉-3-基)羰基)甘氨酸、N-((1-氯-4-羟基-6-甲氧基异喹啉-3-基)羰基)甘氨酸、[(7-丁氧基-1-氯-4-羟基异喹啉-3-羰基)氨基]乙酸、N-((7-苄氧基-1-氯-4-羟基异喹啉-3-基)羰基)甘氨酸、N-((6-苄氧基-1-氯-4-羟基异喹啉-3-基)羰基)甘氨酸、((1-氯-4-羟基异喹啉-3-羰基)氨基)乙酸、N-((8-氯-4-羟基异喹啉-3-基)羰基)甘氨酸、和[(7-丁氧基-4-羟基异喹啉-3-羰基)氨基]乙酸。

在一个方面，本发明化合物在体内或体外通过增加组织(例如肾脏、肝脏、造血和/或神经组织)中红细胞生成素的合成而提高血清内源性红细胞生成素的量。在一个实施例中，本发明化合物可通过抑制组织缺氧诱导因子α亚单位(HIFα)的羟基化而提高红细胞生成素的合成，从而在稳定细胞中的组织缺氧诱导因子。在一个实施例中，该制剂能抑制 HIF-1α P_{564} 残基或另一个 HIFα同种型中同源性脯氨酸的羟基化。在另一个具体实施例中，该制剂能抑制 HIF-1α P_{402} 残基或另一个 HIFα同种型中同源性脯氨酸的羟基化。在另一个实施例中，该化合物还可抑制HIFα天冬酰胺酸残基的羟基化。在再一个实施例中，该制剂能抑制 HIF-1α N_{803} 残基或另一个 HIFα同种型中同源性天冬酰胺酸的羟基化。

本发明还提供一种鉴定能提高血清中内源性红细胞生成素水平的化合物的方法，所述方法包括将感兴趣的化合物给予例如动物或培养细胞，测定血液或经调理的(conditioned)培养基中的红细胞生成素。与未经处理的对照相比，经治疗的动物或处理细胞的 EPO 增加，表明该化合物能增加内源性红细胞生成素。或者，提供鉴定能通过稳定细胞中 HIFα而间接增加红细胞生成素的合成的化合物的

方法。

本发明化合物和方法可与其它各种治疗手段一起使用。在一个实施例中，所述化合物与补铁剂(例如硫酸亚铁、维生素 B_{12}、和/或叶酸)一起给药。在另一个实施例中，该化合物与外源性红细胞生成素(例如重组人红细胞生成素和/或粒细胞集落刺激因子(G-CSF)如重组 G-CDF)一起给药。

根据本发明公开的内容，本领域的普通技术人员能容易地实施本发明的这些和其它实施例，本发明包括所有这些实施例。

附图简述

图 1 显示本发明化合物在体内诱导红细胞生成素。用所示浓度的化合物处理培养的细胞，图中显示的细胞类型是来自肝细胞癌(Hep3B)的人体肝细胞；

图 2A、2B 和 2C 显示经本发明化合物治疗的动物中红细胞生成素的诱导和随后血细胞比容的提高。图 2A 显示用载体(0mg 化合物/公斤体重/每天)对照和本发明化合物治疗 3 天的动物肝脏和肾脏中，红细胞生成素转录物的表达；图 2B 显示血浆红细胞生成素的水平；图 2C 显示从图 2A 所示相同的动物中收集的在最后一次治疗后 4 小时的血液样品中的血细胞比容；

图 3A 和 3B 显示经本发明化合物治疗的动物中血浆红细胞生成素增加并导致血细胞比容增加。图 3A 显示经化合物治疗 2 天后血浆红细胞生成素的增加。图 3B 显示用本发明各种化合物治疗 2 天和 7 天后血细胞比容的增加。

图 4A、4B、4C 和 4d 分别显示经不同剂量本发明化合物治疗的动物的血清红细胞生成素、循环性血液网织红细胞、血液血红素水平和血细胞比容的变化。

图 5A 和 5B 显示接触顺氯氨铂单剂量，随后用本发明化合物治疗的动物中血细胞比容和循环性血液网织红细胞的变化。

图 6A、6B 和 6c 分别显示经本发明化合物治疗的动物的大脑、肝脏和肾脏中红细胞生成素转录物的表达；

图 7 显示相对未治疗的假手术和 BN 对照，用本发明化合物治疗的假手术动物和两侧肾切除动物的内源性红细胞生成素水平的提高。

发明的描述

在描述本发明组合物和方法之前，应理解本发明不限于具体描述的方法学、方案、细胞系、试验方法和试剂，因为它们是可变的。还应理解本文所用的术语目的是说明本发明的具体实施例，并非以任何方式限定本发明的范围，这个

范围只由附属的权利要求书所限定。

在本文和所附权利要求书中，除非另有说明，否则定冠词和不定冠词均包括复数。因此，例如“一个片段”包括多个这种片段；术语一个“抗体”表示一个或多个抗体，与本领域技术人员已知的相当，等等。

除非另有说明，本文所用的所有科技术语的含义均与本领域普通技术人员共同理解的含义相同。虽然在实施和检验本发明时可采用与本文所述相似的方法和材料，但现在所述的方法、装置和材料是优选的。本文引用的所有出版物均将其内容纳入作为参考，目的是描述并公开出版物中报道的可能适用于本发明的方法、试剂和工具。这并不意味着现有的发明提前公开了本发明的内容。

除非另有说明，实施本发明将采用本领域普通技术范围内的常规化学、生物化学、分子生物学、细胞生物学、免疫学和药物学方法。这些技术全都在文献中有说明，例如可参见 Gennaro, A.R.,主编的(1990)“Remington 药物科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)”第 18 版，Mack Publishing Co.；Colowick,S.等主编的“酶学方法(Methods in Enztmology),Academic Press, Inc.；“实验免疫学手册(Handbook of Experimental Immunology”，I-IV 卷(D.M.Weir 和 C.C.Blackwell 主编，1986, Blackwell Scientific Publications)；Maniatis, T.等主编的(1989)“分子克隆：实验室手册(Molecular Cloning: A Laboratory Manual)”第二版，第 I-III 卷，Cold Spring Harbor Laboratory Press; Ausubel, F.M.等主编(1999)“分子生物学简短方案（Short Protocols in Molecular Biology”第四版， John Wiley & Sons; Reams 等主编的(1998)“分子生物学技术：强化的实验室教程（Molecular Biology Techniques： An Intensive Laboratory Course）” Academic Press；PCR(Introduction to Biotechniques Series) 第二版，(Newton & Graham eds.,1997, Springer Verlag)。

定义

本文中术语“贫血”指血红素或红血球异常导致血液中氧水平下降。贫血与红血球和/或血红素的异常产生、加工或性能相关。术语“贫血”指与正常的血水平相比，血液中红血细胞数量和/或血红素水平减少。

贫血可由疾病（例如急性或慢性肾病、感染、炎症、癌症、辐照、毒素、糖尿病和外科手术）引起。感染可以由例如病毒、细菌和/或寄生虫等引起。炎症可由感染、自身免疫疾病(如类风湿性关节炎)等引起。贫血还与失血(例如胃

溃疡、十二指肠溃疡、痔疮、胃或大肠癌、创伤、损伤、外科手术等)有关。贫血还与放疗、化疗和肾透析有关。贫血还与用叠氮胸苷或其它逆转录酶抑制剂治疗 HIV 感染病人有关，并且它可发生在经受化疗(例如用含环状顺氯氨铂或非顺氯氨铂化疗）的癌症病人。再生障碍性贫血和骨髓发育异常综合征是与骨髓衰竭导致红血球制造下降有关的疾病。另外，贫血可由于血红素或红血球缺陷或异常（例如小红细胞贫血、血红蛋白过少性贫血等）所致。贫血还可由铁的转运、加工和利用疾病(例如参见幼铁粒红细胞贫血等)造成。

术语“异常(disorder)”、“疾病(disease)”和“状态(conditions)”广义地使用于指偏离正常的任何状态。

术语“贫血状态”和“贫血异常”是指与贫血有关的任何状态、疾病和异常。这些异常包括，但不限于上面所列的异常。贫血异常还包括但不限于：再生障碍性贫血、自身免疫溶血性贫血、骨髓移植、Churg-Strauss 综合征、Diamond Blackfan 贫血、范康尼氏贫血、Felty 综合征、移植物抗宿主疾病、造血干细胞移植、溶血性尿毒综合征、骨髓发育异常综合征、夜间突发性血红蛋白尿、骨髓纤维变性、全血细胞减少症、纯红细胞发育不全、Schoenlein-Henoch 紫癜、铁粒幼红细胞贫血、含过量胚细胞的难治(refractory)贫血、类风湿性关节炎、Shwachman 综合征、镰状细胞疾病、重型地中海贫血、血小板减少性紫癜,等。

术语“红细胞生成素相关的状态”广义用于指与低于正常的、异常的或不恰当调节红细胞生成素相关的任何状态。红细胞生成素相关状态包括 EPO 水平提高具有治疗效益的状态。与这种状态相关的红细胞生成素水平可采用本领域普通技术人员所接受的和采用的方法测定。红细胞生成素相关状态包括贫血状态（如上面所述的状态）。

红细胞生成素相关状态还包括神经性疾病和/或损伤，包括中风、创伤、癫痫症、神经变性疾病等，这些病中红细胞生成素可具有神经保护作用。本发明考虑的神经变性疾病包括早老性痴呆病、帕金森病、享廷顿舞蹈病等。

术语“红细胞生成素”指重组或天然产生的红细胞生成素，包括例如人红细胞生成素(GenBank Accession No. AAA52400; Lin 等(1985) 美国国家科学学会会报（Proc Natl Acad USA） 82:7580-7584)，EPOETIN 人重组红细胞生成素(Amgen, Inc., Thousand Oaks CA)， ARANESP 人重组红细胞生成素(Amgen)，PROCRIT 人重组红细胞生成素(Ortho Biotech Products, L.P. Raritan NJ)等。

术语“HIFα”指组织缺氧诱导因子蛋白的α亚单位。HIFα可以是人或其它哺乳动物蛋白质或其片段，包括人体 HIF-1α (GenBank 登录号 No.Q1 6665),

HIF-2α(GenBank 登录号 No. AAB41495),和 HIF-3α(GenBank 登录号 No. AAD22668)；小鼠 HIF-1α(GenBank 登录号 No. Q61221), HIF-2α(GenBank 登录号 No.BAA20130 和 AAB41496), 以及 HIF-3α(GenBank 登录号 No. AAC72734)；大鼠 HIP-1α(GenBank 登录号 No.CAA70701), HIF-2α(GenBank 登录号 No.CAB96612),和 HIF-3α(GenBank 登录号 No. CAB96611)；以及牛科 HIP-1α(GenBank 登录号 No.BAA78675)。HIFα 也可以是非哺乳动物蛋白质或其片段，包括爪蟾 HIF-1α(GenBank 登录号 No. CAB96628), 果蝇 HIP-1α(GenBank 登录号 No. JC4851),和鸡 HIP-1α(GenBank 登录号 No. BAA34234)。HIFα基因序列也可获自常规克隆技术(例如采用全部或部分上述 HIFα基因序列作为探针来发现并测定另一种动物的 HIFα基因序列）。

HIFα片段包括保留 HIFα至少一种功能或结构特征的任何片段 HIFα片段包括，例如由人 HIFα的氨基酸 401-603 (Huang 等，见上)、氨基酸 531-575(Jiang 等(1997) J Biol Chem 272:19253-19260)、氨基酸 556 -575 (Tanimoto 等，见上）、氨基酸 557 -571 (Srinivas 等 (1999) Biochem Biophys Res Commun260:557-56 1)和氨基酸 556-575 (Ivan 和 Kaelin (2001) Science 292:464-468)所确定的区域。另外，HIFα片段包括含有至少一个 LXXLAP 基序(例如出现在人 HIF-1α天然序列中的 L_{397}TLLAP 和 L_{559}EMLAP)的片段。例如，用于实施例 9 筛选试验的 HIP 肽可包括[甲氧基香豆素]-DLDLEALAPYIPADDDFQL-酰胺(SEQ ID NO:5).

本文中，术语“氨基酸序列”或“多肽”用于指例如 HIFα及其片段，包括寡肽、肽或蛋白质序列，或它们的片段，天然产物或合成的分子。“片段”指保留了该蛋白质的至少一种结构性或功能性特征的一部分序列。免疫原性片段或抗原性片段是多肽片段，优选长约 5-15 个氨基酸保留至少一种生物活性或免疫活性的片段。其中“氨基酸序列”用于指天然蛋白分子的多肽序列，“氨基酸序列”和类似术语并不意味着将氨基酸序列限定于所述蛋白分子相关的全部天然序列。

本文中术语“相关蛋白质”指例如与 HIFα脯氨酰羟化酶、2-酮戊二酸盐双加氧酶（包括其它 2-酮戊二酸盐双加氧酶，特别是类似地需要 Fe^{2+}、2-酮戊二酸和氧以维持羟化酶活性的那些家族成员）有关的蛋白质。这种酶包括但不限于：酸溶胶原蛋白赖氨酰羟化酶、酸溶胶原蛋白脯氨酰 4-羟化酶和因子抑制 HIF(FIH)(一种负责调节 HIFα反式激活的天冬酰胺酰羟化酶，GenBank 登录号 No.AAL27308; Mahon 等(2001) Genes Dev 15:2675-2686; Lando 等(2002) Science

295:858-861；和 Lando 等(2002) Genes Dev 16:1466-1471。还可参见 Elkins 等 (2002) J Biol Chem C200644200, 等等)。

本文中术语“HIF 脯氨酰羟化酶”和“HIF PH”指能够羟化 HIF 蛋白中脯氨酸残基的酶。优选的被 HIF PH 羟化的脯氨酸残基包括 LXXLAP 基序（例如，在人 HIF-1α天然序列中的 L_{397}TLLAP 和 L_{559}EMLAP）中的脯氨酸。HIF PH 包括 Taylor (2001 ,Gene 275:125-132)所述的 Egl-Nine (EGLN) 基因族的成员，其特征见 Aravind 和 Koonin (2001, Genome Biol 2:RESEARCH0007)、Epstein 等(2001, Cell 107:43-54)、Bruick 和 McKnight (2001,Science 294:1337-1340)所述。HIP PH 酶的例子包括 SM-20 (EGLN1) (GenBank 登录号 No. AAG33965; Dupuy 等(2000) Genomics 69:348-54), EGLN2 同种型 1 (GenBank 登录号 No. CAC42510; Taylor, 同上), EGLN2 同种型 2 (GenBank 登录号 No. NP_060025),和 EGLN3 (GenBank 登录号 No. CAC42511; Taylor,同上)；小鼠 EGLN 1 (GenBank 登录号 No. CAC42515), EGLN2 (GenBank 登录号 No. CAC42511),和 EGLN3 (SM-20) (GenBank 登录号 No. CAC42517)；和大鼠 SM-20(GenBank 登录号 No. AAA19321)。另外, HIP PH 可包括 Caenorhabditis elegans EGL-9 (GenBank 登录号 No. AAD56365)和果蝇 CG1114 基因产物(GenBank 登录号 No. AAF52050)。HIP PH 还包括保留至少一种结构性或功能性特征的上述全长蛋白的片段。

本文中术语“激动剂”指能提高或延长某特定分子作用时期的分子。激动剂可包括蛋白质、核酸、碳水化合物、或其它能提高目标分子作用的其它分子。

本文中术语“拮抗剂”指能降低某特定分子生物或免疫活性程度或作用时间的分子。拮抗剂可包括蛋白质、核酸、碳水化合物、抗体或能降低目标分子作用的其它分子。

本文中术语“微阵列”指在某基底上的核酸、氨基酸、抗体等的排列。所述基底可以是任何合适的支承体，例如小珠、玻璃、纸、硝基纤维素、尼龙或任何合适的膜等。基底可以是任何刚性或半刚性载体，包括但不限于：膜、滤纸、晶片、芯片、玻片、纤维、小珠(包括磁性或非磁性珠)、凝胶、管、板、聚合物、微粒、毛细管等。该基底可提供一种用于包被的表面和/或可具有供核酸、氨基酸等结合的表面类型，例如孔、针尖、沟、管道和洞。

本文中术语“赋形剂”指用于制造药物产品或其它片剂的惰性或非活性物质，包括但不限于用作粘合剂、崩解剂、包衣剂、压制/胶囊化助剂、乳剂或洗剂的赋形剂、润滑剂、非胃肠道给药的赋形剂、甜味剂或芳香剂、悬浮剂/胶凝剂、或湿造粒剂的任何物质。粘合剂包括，例如聚羰乙烯、聚烯吡酮、黄原胶等；

包衣剂包括例如乙酸邻苯二甲酸纤维素、乙基纤维素、胶凝树胶、麦芽糖糊精等；压制/胶囊化助剂包括例如碳酸钙、葡萄糖、果糖、蜂蜜、乳糖（无水或单水合物，任选地与天冬氨酰苯丙氨酸甲酯、纤维素或微晶纤维素组合在一起）、淀粉、蔗糖等；崩解剂包括例如 croscarmellose 钠、胶凝树胶、羟乙酸淀粉钠等；乳剂或洗剂的赋形剂包括例如麦芽糊精、角叉菜胶等；润滑剂包括硬脂酸镁、硬脂酸、硬脂酰富马酸钠等；用于可咀嚼片剂的材料包括例如葡萄糖、果糖、乳糖（单水合物，任选地与天冬氨酰苯丙氨酸甲酯或纤维素组合在一起）等；非胃肠道给药的赋形剂包括例如甘露醇、聚烯吡酮等；增塑剂包括例如癸二酸二丁酯、聚乙烯乙酸邻苯二甲酸等；悬浮/胶凝剂包括例如角叉菜胶、羟乙酸淀粉钠、黄原胶等；甜味剂包括例如天冬氨酰苯丙氨酸甲酯、葡萄糖、果糖、山梨糖醇、蔗糖等；湿造粒剂包括例如碳酸钙、麦芽糊精、微晶纤维素等。

本文中术语“负载剂量”指初次给予的能快速获得所需药物水平的单剂量或多剂量。例如，本发明方法中的负载剂量指能快速提高本发明化合物血浆浓度至药物活性水平的初次剂量方案。

本文中术语“诱导剂量”是指能快速获得所需药物反应的初次给药的重复剂量强度。例如，本发明方法的诱导剂量指能快速提高可能处于或低于正常的血细胞比容/血红素水平至目标范围内的初次剂量方案。

本文中术语“维持剂量”指在给予负载剂量和诱导剂量后给予的剂量水平，以维持所需的药物反应。例如本发明方法的维持剂量指能将可能处于或低于正常的血细胞比容/血红素水平维持在所需的目标范围内的剂量方案。

本文中术语“样品”具有广泛的含义。样品可来自各种来源，例如来自体液、分泌物、组织、细胞、或培养细胞，包括但不限于唾液、血液、尿液、血清、血浆、玻璃体、滑液、脑髓液、羊水和器官组织（例如活检组织）；来自染色体、细胞器、或从细胞分离的其它膜；来自基因组 DNA、cDNA、RNA、mRNA 等；来自清除的细胞或组织，或这种细胞或组织的印迹或印痕。样品可来自各种来源，例如人、或非人哺乳动物对象等。样品还可来自疾病的动物模型。样品可以是溶液，或可以是例如固定于某种基质上。样品可以是适合检测红细胞生成素或 HIFα或其片段存在的任何材料，或适合于筛选能提高红细胞生成素内源水平或稳定 HIFα或其片段的任何分子。获得这种样品的方法是本领域普通技术人员已知的。

本文中术语“对象”具有广泛的含义。所述对象可包括分离的原核或真核细胞、或培养的组织。在一些实施例中，该对象是动物，尤其是哺乳动物，包括大鼠、兔、牛、羊、猪、狗、猫、小鼠、马和灵长类动物，尤其是人。

发明内容

本发明提供能提高内源性红细胞生成素(EPO)的方法。这些方法可用于体内(例如血浆)或用于体外(如细胞培养条件化培养液)。本发明还提供提高内源性红细胞生成素水平以预防、预治疗或治疗与EPO相关状态（包括例如贫血和神经疾病相关状态）的方法。贫血相关状态包括慢性肾疾病，糖尿病，癌症，溃疡，病毒(如 HIV)、细菌或寄生虫感染，炎症等。贫血状态还包括与治疗（包括例如放疗、化疗、透析和外科手术）有关的状态。贫血相关疾病还包括异常的血红素和/或红血球，例如见于小红细胞贫血、血红蛋白过少性贫血、再生障碍性贫血等。

对经历特殊的预防性或同时性治疗或处理的患者，例如接受叠氮胸苷或其它逆转录酶抑制剂治疗的HIV感染病人、接受环状顺氯氨铂或非顺氯氨铂化疗的贫血癌症病人、或计划接受外科手术的贫血或非贫血病人，可采用本发明方法提高其内源性EPO。提高内源性EPO的方法也可用于预防、预治疗或治疗伴随神经损伤或神经组织变性，包括但不限于中风、创伤、癫痫症、脊髓损伤和神经变性疾病等的EPO相关状态。

另外，所述方法还可用于提高计划进行外科手术的贫血或非贫血患者的内源性 EPO 水平，以减少对同种异体输血的需求或有助于在外科手术前储存血液。血细胞比容的稍许下降（通常发生在手术前自体献血）不会刺激内源性红细胞生成素的增加或补偿性红细胞生成。但是，手术前刺激产生内源性红细胞生成素可有效地增加红血球群体和提高自体献血的量，同时保持高的血细胞比容。这些方法是本发明特别要考虑的。在某些外科手术人群中，尤其是经历外科手术失血量超过2升的人群中，应用本发明方法可减少对同种异体血液的接触(Crosby(2002) Amer J Therap 9:371-376)。

本发明方法还可用于提高运动成绩、改进训练能力并促进或增强有氧状态。这些方法可例如用于运动员以促进训练和用于士兵以改进例如毅力和耐力。

已表明本发明方法能提高体外受处理细胞培养液中和体内治疗的动物血浆中的内源性红细胞生成素的水平。尽管肾脏是机体红细胞生成素的主要来源，但是其它器官（包括大脑、肝脏和骨髓）在适当刺激下可以并且确实合成了红细胞生成素。使用本发明方法，可提高机体各种器官(包括大脑、肾脏和肝脏)中内源性红细胞生成素的表达。事实上，本发明方法甚至可提高双肾切除动物的内源性红细胞生成素的水平。

本发明方法证明即使肾功能受损时也可提高内源性红细胞生成素的水平。尽管本发明不受红细胞生成素产生机制的限制，但是常见于肾衰竭的红细胞生成素分泌下降可归因于肾组织由于流通/重灌注增加而致的氧过多所致(Priadarshi 等(2002) Kidney Int 61:542-546)。

另外，本发明方法可提高受治疗动物体内的血细胞比容和血红素水平。使用本发明化合物提高血浆 EPO、血细胞比容和血红素是剂量敏感性的。但是，可确定对本发明化合物产生恒定的受控水平反应的剂量方案。此外，用本发明化合物进行治疗可纠正例如毒性化合物（例如顺氯氨铂放疗剂）、失血（例如创伤、损伤）、寄生虫或外科手术引起的贫血。

经本发明化合物治疗的动物通过提高血液中循环性未成熟的红细胞(网织红细胞)的百分比而提高了血细胞比容和血红素。因此，本发明预期在所述方法中采用本发明化合物来提高动物血液中网织红细胞水平来制造无细胞网状细胞裂解物（参见例如 Pelham 和 Jackson(1976)Eur J Biochem 67:247-256）。单独用本发明化合物或与另一种化合物(例如乙酰苯基肼等)组合治疗可提高动物（例如家兔等）的循环性网织红细胞水平。收集血液、离心沉降网织红细胞并用蒸馏水裂解。可采用任何本领域普通技术人员已知的适当方法进一步抽提（参见，例如 Jackson 和 Hunt(1983)Method Enzymol 96:50-74）。

使用本发明方法还可提高铁的转运、加工和利用(例如参见共同拥有的同一日提交的待批美国专利申请“稳定组织缺氧诱导因子(HIF)α”，其内容纳入本文作为参考。)更具地说，本发明方法可提高参与铁摄取、转运和加工的酶和蛋白质的水平。这种酶和蛋白包括但不限于转铁蛋白和转铁蛋白受体（两者一起促进了铁转运至例如类红组织并被其吸收）和血浆铜蓝蛋白（将亚铁离子氧化成铁离子所需的亚铁氧化酶）。由于转铁蛋白仅结合和转运亚铁离子，因此血浆铜蓝蛋白对于向组织供铁是重要的。本发明方法能够在一次疗程中同时提高内源性红细胞生成素和铁的转运和利用，在治疗例如类风湿性关节炎、铁粒幼红细胞贫血等时，提供了现有贫血治疗方法（例如给予重组红细胞生成素）所没有的优点。

虽然本发明不限于诱导内源性红细胞生成素的方法，但是考虑本发明化合物提高内源性红细胞生成素合成的具体机制是通过抑制组织缺氧诱导因子α亚单位(HIFα)的羟化。更具体说，本发明化合物能抑制 HIFα脯氨酸残基（例如 HIF-1α中的 P_{564} 残基或另一种 HIFα同种型中的同源性脯氨酸，或 HIF-1α中的 P_{402} 残基或另一种 HIFα同种型中的同源性脯氨酸）的羟化。另外，本发明化合物可用于抑制 HIFα天冬酰胺酸残基(例如 HIF-1α中的 N_{803} 残基或另一种 HIFα同种型中的同源

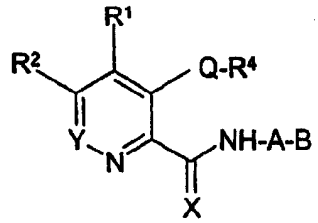
性脯氨酸)的羟化.

由于 HIFα的羟化(一种需要氧和 Fe^{2+}的反应)修饰，因此本发明的一个方面考虑负责 HIFα羟化的酶是 2-酮戊二酸盐双加氧酶家族的成员。这种酶包括但不限于：酸溶胶原蛋白赖氨酰羟化酶、酸溶胶原蛋白脯氨酰 3-羟化酶、酸溶胶原蛋白脯氨酰 4-羟化酶α(I)和α(II)、胸腺嘧啶 7-羟化酶、天冬氨酰β-羟化酶、ε-N-三甲基赖氨酸羟化酶、γ-丁酸甜菜碱羟化酶等。这些酶的羟化酶活性需要氧、Fe^{2+}、2-酮戊二酸和抗坏血酸（参见 Majamaa 等(1985)Biochem J 229:127-133; Myllyharju 和 Kivirikko(1997) EMBO J 16:1173-1180；Thornburg 等(1993)32:14023-14033;和 Jia 等(1994)美国国家科学学会会报(Proc Natl Acad Sci USA) 91:7227-7231）。

业已鉴定到了脯氨酰4-羟化酶的数种小分子抑制物(参见例如上述Majamaa等；Kivirikko和Myllyharju(1998) Matrix Biol 16:357-368；Bickel 等(1998) Hepatology 28:404-411；Friedman 等(2000) 美国国家科学学会会报(Proc Natl Acad Sci USA) 97:4736-4741；和 Franklin 等(2001)Biochem J 353:333-338，所有这些文献的内容均纳入本文作为参考)。本发明使用这些化合物用于本文所述的方法中。

适用于本发明方法的化合物包括，例如 2-酮戊二酸的结构类似物。这些化合物竞争 2-酮戊二酸但不竞争铁,可抑制目标 2-酮戊二酸盐双加氧化酶(Majamaa等(1984) Eur J Biochem 138:239-45 和上述 Majamaa 等)。

在某些实施例中，适用于本发明方法的化合物选自结构式(I)的化合物：



(I)

其中：

A 是 1,2-亚芳基、1,3-亚芳基、1,4-亚芳基、或(C_1-C_4)亚烷基，其可任选地被一个或两个卤素、氰基、硝基、三氟甲基、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)羟烷基、(C_1-C_6)烷氧基、$-O-(CH_2)_x-C_fH_{(2f+1-g)}$卤素 $_g$、(C_1-C_6)氟烷氧基、(C_1-C_8)氟烯氧基、(C_1-C_8)氟炔氧基、$-OCF_2Cl$、$-O-CF_2-CHFCl$、(C_1-C_6)烷巯基、(C_1-C_6)烷亚硫酰基、(C_1-C_6)烷磺酰基、(C_1-C_6)烷基羰基、(C_1-C_6)烷氧基羰基、氨基甲酰基、N-(C_1-C_4)烷基氨基甲酰基、N,N-二(C_1-C_4)烷基氨基甲酰基、(C_1-C_6)烷基羰基氧基、(C_3-C_8)环烷基、苯基、苄基、苯氧基、苄氧基、苯胺基、N-甲基苯胺基、苯基巯基、苯基磺

酰基、苯基亚硫酰基、氨磺酰基、N-(C_1-C_4)烷基氨磺酰基、N,N-二(C_1-C_4)烷基氨磺酰基所取代，或者被取代的(C_6-C_{12})芳氧基、(C_7-C_{11})芳基烷氧基、(C_6-C_{12})芳基、(C_7-C_{11})芳烷基基团所取代，这些用于取代的取代基团在芳环上带有 1-5 个相同或不同的取代基，其选自卤素、氰基、硝基、三氟甲基、(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_6)烷氧基、$-O-(CH_2)_x-C_fH_{(2f+1-g)}$卤素、$-OCF_2Cl$、$-O-CF_2-CHFCl$、($C_1$-$C_6$)烷巯基、($C_1$-$C_6$)烷亚硫酰基、($C_1$-$C_6$)烷磺酰基、($C_1$-$C_6$)烷基羰基、($C_1$-$C_6$)烷氧基羰基、氨基甲酰基、N-($C_1$-$C_4$)烷基氨基甲酰基、N,N-二($C_1$-$C_4$)烷基氨基甲酰基、($C_1$-$C_6$)烷基羰基氧基、（$C_3$-$C_8$）环烷基、氨磺酰基、N-($C_1$-$C_4$)烷基氨磺酰基、N,N-二($C_1$-$C_4$)烷基氨磺酰基；或者其中 A 是$-CR^5R^6$，$R^5$和$R^6$各自选自氢、($C_1$-$C_6$)烷基、($C_3$-$C_7$)环烷基、芳基、或者α-氨基酸的α碳原子的取代基，其中所述氨基酸是天然的 L-氨基酸或其 D 异构体。

B 是-COOH、$-NH_2$、$-NHSO_2CF_3$、四唑基、咪唑基、3-羟基异噁唑基、$-CONHCOR^{111}$、$-CONHSOR^{111}$、$-CONHSO_2R^{111}$、其中 R^{111} 是芳基、杂芳基、(C_3-C_7)环烷基或(C_1-C_4)烷基，其任选地被(C_6-C_{12})芳基、杂芳基、OH、SH、(C_1-C_4)烷基、(C_1-C_4)烷氧基、(C_1-C_4)硫代烷基、(C_1-C_4)亚硫酰基、(C_1-C_4)磺酰基、CF_3、Cl、Br、F、I、NO_2、-COOH、(C_2-C_5)烷氧基羰基、NH_2、单(C_1-C_4 烷基)氨基、二(C_1-C_4 烷基)氨基或(C_1-C_4)全氟烷基所单取代；或者其中 B 是 CO_2-G 羧基，G 是醇 G-OH 中的基团，G 选自(C_1-C_{20})烷基、(C_3-C_8)环烷基、(C_2-C_{20})烯基、(C_3-C_8)环烯基、视黄基、(C_2-C_{20})炔基、(C_4-C_{20})烯炔基，其中所述烯基、环烯基、炔基、烯炔基含有一个或多个连接键；(C_6-C_{16})碳环芳基、(C_7-C_{16})碳环芳烷基、杂芳环基、或杂芳烷基，其中杂芳基或杂芳烷基的杂芳基团部分含有 5 或 6 个杂原子；所述 G 基团可被一个或多个下列基团所取代：羟基、卤素、氰基、三氟甲基、硝基、羧基、(C_1-C_{12})烷基、(C_3-C_8)环烷基、(C_5-C_8)环烯基、(C_6-C_{12})芳基、(C_7-C_{16})芳烷基、(C_2-C_{12})烯基、(C_2-C_{12})炔基、(C_1-C_{12})烷氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基、(C_6-C_{12})芳氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基、(C_1-C_8)羟烷基、$-O-(CH_2)_x-C_fH_{(2f+1-g)}F_g$、$-OCF_2Cl$、$-O-CF_2-CHFCl$、($C_1$-$C_{12}$)烷基羰基、($C_3$-$C_8$)环烷基羰基、($C_6$-$C_{12}$)芳基羰基、($C_7$-$C_{16}$)芳烷基羰基、肉桂酰基、($C_2$-$C_{12}$)烯基羰基、($C_2$-$C_{12}$)炔基羰基、($C_1$-$C_{12}$)烷氧基羰基、($C_1$-$C_{12}$)烷氧基($C_1$-$C_{12}$)烷氧基羰基、 ($C_6$-$C_{12}$)芳氧基羰基、($C_7$-$C_{16}$)芳基烷氧基羰基、($C_3$-$C_8$)环烷氧基羰基、($C_2$-$C_{12}$)烯氧基羰基、($C_2$-$C_{12}$)炔氧基羰基、酰氧基、($C_1$-$C_{12}$)烷氧基羰基氧基、($C_1$-$C_{12}$)烷氧基($C_1$-$C_{12}$)烷氧基羰基氧基、 ($C_6$-$C_{12}$)芳氧基羰基氧基、($C_7$-$C_{16}$)芳基烷氧基羰基氧基、($C_3$-$C_8$)环烷氧基羰基氧基、($C_2$-$C_{12}$)烯氧基羰基氧基、($C_2$-$C_{12}$)炔氧基羰基氧基、氨基甲酰基、N-($C_1$-$C_{12}$)烷基氨基甲

酰基、N,N-二(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰基、N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰基、N-(C_6-C_{16})芳基氨基甲酰基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{16})芳基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰基、N-((C_1-C_{10})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_1-C_{10})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_6-C_{16})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰氧基、N,N-二(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰氧基、N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰氧基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰氧基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰氧基、N-((C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰氧基、N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_1-C_{10})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、氨基、(C_1-C_{12})烷基氨基、二(C_1-C_{12})烷基氨基、(C_3-C_8)环烷基氨基、(C_2-C_{12})烯基氨基、(C_2-C_{12})炔基氨基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基、N-(C-C_{11})芳烷基氨基、N-烷基芳烷基氨基、N-烷基芳基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷基羰基氨基、(C_3-C_8)环烷基羰基氨基、(C_6-C_{12})芳基羰基氨基、(C_7-C_{16})芳烷基羰基氨基、(C_1-C_{12})烷基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_3-C_8)环烷基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_6-C_{12})芳基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_7-C_{11})芳烷基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_3-C_8)环烷基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{12})芳烷基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、氨基-(C_1-C_8)烷基、N-(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_8)烷基、N,N-二(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_3-C_8)环烷基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_1-C_{12})烷基巯基、(C_1-C_{12})烷基亚硫酰基、(C_1-C_{12})烷基磺酰基、(C_6-C_{16})芳基巯基、(C_6-C_{16})芳基亚硫酰基、(C_6-C_{12})芳基磺酰基、(C_7-C_{16})芳烷基巯基、(C_7-C_{16})芳烷基亚硫酰基、(C_7-C_{16})芳烷基磺酰基、氨磺酰基、N-(C_1-C_{10})烷基氨磺酰基、N,N-二(C_1-C_{10})烷基氨磺酰基、(C_3-C_8)环烷基氨磺酰基、N-(C_6-C_{12})芳基氨磺酰基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨磺酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{12})芳基氨磺酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨磺酰基、(C_1-C_{10})烷基磺酰氨基、N-((C_1-C_{10})烷基)-(C_1-C_{10})烷基磺酰氨基、(C_7-C_{16})芳烷基磺酰氨基或者 N-(C_1-C_{10})烷基(C_7-C_{16})芳烷基磺酰氨基；其中的芳基或含芳基部分的基团可在芳基上被 1-5 个相

同或不同的下列基团所取代：羟基、卤素、氰基、三氟甲基、硝基、羧基、(C_1-C_{12})烷基、(C_3-C_8)环烷基、(C_6-C_{12})芳基、(C_7-C_{16})芳烷基、(C_1-C_{12})烷氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基、(C_6-C_{12})芳氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基、(C_1-C_8)羟烷基、(C_1-C_{12})烷基羰基、(C_3-C_8)环烷基羰基、(C_6-C_{12})芳基羰基、(C_7-C_{16})芳烷基羰基、(C_1-C_{12})烷氧基羰基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基羰基、(C_6-C_{12})芳氧基羰基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基羰基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基、(C_2-C_{12})烯氧基羰基、(C_2-C_{12})炔氧基羰基、(C_1-C_{12})烷基羰基氧基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基氧基、(C_6-C_{12})芳氧基羰基氧基、(C_7-C_{16})芳烷基羰基氧基、肉桂酰氧基、(C_2-C_{12})烯基羰基氧基、(C_2-C_{12})炔基羰基氧基、(C_1-C_{12})烷氧基羰基氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基羰基氧基、(C_6-C_{12})芳氧基羰基氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基羰基氧基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基氧基、(C_2-C_{12})烯氧基羰基氧基、(C_2-C_{12})炔氧基羰基氧基、氨基甲酰基、N-(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰基、N,N-二(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰基、N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰基、N-$((C_1-C_{10})$烷氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-$((C_6-C_{12})$芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-$((C_7-C_{16})$芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-$((C_1-C_{10})$烷氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-$((C_6-C_{16})$芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-$((C_7-C_{16})$芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰氧基、N,N-二(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰氧基、N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰氧基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰氧基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰氧基、N-$((C_1-C_{10})$烷基）氨基甲酰氧基、N-$((C_6-C_{12})$芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-$((C_7-C_{16})$芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-$((C_1-C_{10})$烷氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-$((C_6-C_{12})$芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-$((C_7-C_{16})$芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、氨基、(C_1-C_{12})烷基氨基、二(C_1-C_{12})烷基氨基、(C_3-C_8)环烷基氨基、(C_2-C_{12})烯基氨基、(C_2-C_{12})炔基氨基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基、N-(C_7-C_{11})芳烷基氨基、N-烷基芳烷基氨基、N-烷基芳基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷基羰基氨基、(C_3-C_8)环烷基羰基氨基、(C_6-C_{12})芳基羰基氨基、(C_7-C_{16})芳烷基羰基氨基、(C_1-C_{12})烷基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_3-C_8)环烷基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_6-C_{12})芳基羰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_7-C_{11})芳烷基羰基-

N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_3-C_8)环烷基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{16})芳烷基羰基氨基-(C_1-C_8)烷基、氨基-(C_1-C_8)烷基、N-(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_{10})烷基、N,N-二(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_{10})烷基、(C_3-C_8)环烷基氨基-(C_1-C_{10})烷基、(C_1-C_{12})烷基巯基、(C_1-C_{12})烷基亚硫酰基、(C_1-C_{12})烷基磺酰基、(C_6-C_{12})芳基巯基、(C_6-C_{12})芳基亚硫酰基、(C_6-C_{12})芳基磺酰基、(C_7-C_{16})芳烷基巯基、(C_7-C_{16})芳烷基亚硫酰基或(C_7-C_{16})芳烷基磺酰基；

X 是 O 或 S；

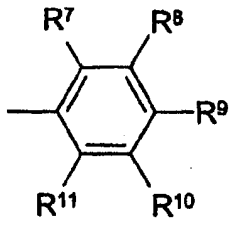
Q 是 O、S、NR'或连接键；

当 Q 是连接键时，R^4是卤素、腈基(nitrile)或三氟甲基；

或者当 Q 是 O、S 或 NR'时，R^4是氢、(C_1-C_{10})烷基、(C_2-C_{10})烯基、(C_2-C_{10})炔基，其中烯基或炔基片段含有一个或两个 C-C 多键、结构式$(CH_2)_x-C_fH_{(2f+1-g)}F_g$的未取代的氟烷基、($C_1$-$C_8$)烷氧基($C_1$-$C_6$)烷基、($C_1$-$C_6$)烷氧基($C_1$-$C_4$)烷氧基($C_1$-$C_4$)烷基、芳基、杂芳基、($C_7$-$C_{11}$)芳烷基或者结构式 Z 的基团：

$$-(CH_2)_v-(O)_w-(CH_2)_t-E \qquad (Z)$$

其中，E 是杂芳基、(C_3-C_8)环烷基或结构式(F)的苯基：



(F)

v=0-6；

w 为 0 或 1；

t=0-3；

R^7、R^8、R^9、R^{10}和 R^{11}相同或不同，为氢、卤素、氰基、硝基、三氟甲基、(C_1-C_6)烷基、(C_3-C_8)环烷基、(C_1-C_6)烷氧基、$-O-(CH_2)_x-C_fH_{(2f+1-g)}F_g$、$-OCF_2Cl$、$-O-CF_2-CHFCl$、($C_1$-$C_6$)烷基巯基、($C_1$-$C_6$)羟烷基、($C_1$-$C_6$)烷氧基($C_1$-$C_6$)烷氧基、($C_1$-$C_6$)烷氧基($C_1$-$C_6$)烷基、($C_1$-$C_6$)烷基亚硫酰基、($C_1$-$C_6$)烷磺酰基、($C_1$-$C_6$)烷基羰基、($C_1$-$C_8$)烷氧基羰基、氨基甲酰基、N-($C_1$-$C_8$)烷基氨基甲酰基、N,N-二($C_1$-$C_8$)烷基氨基甲酰基或 N-($C_7$-$C_{11}$)芳烷基氨基甲酰基，其可任选地被下列基团所取代：氟、氯、溴、三氟甲基、(C_1-C_6)烷氧基、N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰基、N-(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_4)烷基氨基甲酰基、(C_1-C_6)烷基羰基氧基、苯基、苄基、苯氧基、苄氧基、NR^yR^z，其中，R^y和 R^z分别选自氢、(C_1-C_{12})烷基、(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{12})

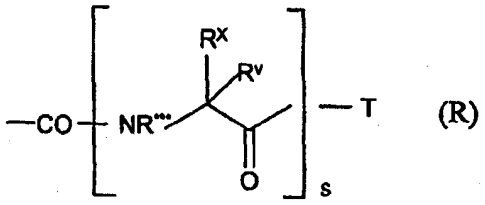
芳基烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_8)烷基、(C_3-C_{10})环烷基、(C_3-C_{12})烯基、(C_3-C_{12})炔基、(C_6-C_{12})芳基、(C_7-C_{11})芳烷基、(C_1-C_{12})烷氧基、(C_7-C_{12})芳基烷氧基、(C_1-C_{12})烷基羰基、(C_3-C_8)环烷基羰基、(C_6-C_{12})芳基羰基、(C_7-C_{16})芳烷基羰基，或者R^y和R^z一起形成$-(CH_2)_h$，其中一个CH_2基团可被O、S、N-(C_1-C_4)烷基羰基亚氨基或N-(C_1-C_4)烷氧基羰基亚氨基所代替；苯基巯基、苯基磺酰基、苯基亚硫酰基、氨磺酰基、N-(C_1-C_8)烷基氨磺酰基、或N,N-二(C_1-C_8)烷基氨磺酰基；或者R^7和R^8、R^8和R^9、R^9和R^{10}或R^{10}和R^{11}一起形成选自$-(CH_2)_n-$或$-CH=CH-CH=CH-$链，其中该链的一个CH_2基团任选地被O、S、SO、SO_2或NR^y所代替，n为3、4或5；如果E是杂芳基，则所述基团可带有1-3个选自如R^7-R^{11}所定义的取代基；或者如果E是环烷基，则该基团可带有一个选自如R^7-R^{11}所定义的取代基。

或者如果Q是NR'，R^4是R″，其中R'和R″可相同或不同，为氢、(C_6-C_{12})芳基、(C_7-C_{11})芳烷基、(C_1-C_8)烷基、(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{12})芳基烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_8)烷基、(C_1-C_{10})烷基羰基，其可任选地被(C_7-C_{16})芳烷基羰基所取代，或者任选地被(C_6-C_{12})芳基羰基所取代；或者R'和R″一起形成$-(CH_2)_h$，其中一个CH_2基团可被O、S、N-酰基亚氨基或N-(C_1-C_{10})烷氧基羰基亚氨基所代替，h为3-7。

Y是N或CR^3。

R^1、R^2和R^3可相同或不同，为氢、羟基、卤素、氰基、三氟甲基、硝基、羧基、(C_1-C_{20})烷基、(C_3-C_8)环烷基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_{12})烷基、(C_3-C_8)环烷氧基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_8)烷氧基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_{12})烷基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_8)烷基(C_1-C_6)烷氧基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷氧基、(C_6-C_{12})芳基、(C_7-C_{16})芳烷基、(C_7-C_{16})芳烯基、(C_7-C_{16})芳炔基、(C_2-C_{20})烯基、(C_2-C_{20})炔基、(C_1-C_{20})烷氧基、(C_2-C_{20})烯氧基、(C_2-C_{20})炔氧基、视黄基氧基、(C_1-C_{20})烷氧基(C_1-C_{12})烷基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_6)烷氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基(C_1-C_6)烷氧基、(C_1-C_{16})羟烷基、(C_6-C_{16})芳氧基(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_7-C_{12})芳基烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_2-C_{20})烯氧基(C_1-C_6)烷基、(C_2-C_{20})炔氧基(C_1-C_6)烷基、视黄基氧基(C_1-C_6)烷基、$-O-(CH_2)_x-C_fH_{(2f+1-g)}F_g$、$-OCF_2Cl$、$-O-CF_2-CHFCl$、$(C_1-C_{20})$烷基羰基、$(C_3-C_8)$环烷基羰基、$(C_6-C_{12})$芳基羰基、$(C_7-C_{16})$芳烷基羰基、肉桂酰基、$(C_2-C_{20})$烯基羰基、$(C_2-$

C_{20})炔基羰基、(C_1-C_{20})烷氧基羰基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基羰基、(C_6-C_{12})芳氧基羰基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基羰基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基、(C_2-C_{20})烯氧基羰基、视黄基氧基羰基、(C_2-C_{20})炔氧基羰基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_6)烷氧基羰基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_6)烷氧基羰基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_6)烷氧基羰基、(C_1-C_{12})烷氧基羰基氧基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基氧基、(C_6-C_{12})芳基羰基氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基羰基氧基、肉桂酰氧基、(C_2-C_{12})烯氧基羰基氧基、(C_2-C_{12})炔氧基羰基氧基、(C_1-C_{12})烷氧基羰基氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基羰基氧基、(C_6-C_{12})芳氧基羰基氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基羰基氧基、(C_3-C_8)环烷氧基羰基氧基、(C_2-C_{12})烯氧基羰基氧基、(C_2-C_{12})炔氧基羰基氧基、氨基甲酰基、N-(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰基、N,N-二(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰基、N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰基、N,N-二环(C_3-C_8)烷基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰基、N-((C_3-C_8)环烷基(C_1-C_6)烷基)氨基甲酰基、N-(C_1-C_6)烷基-N-((C_3-C_8)环烷基（C_1-C_6）烷基)氨基甲酰基、N-(+)脱水松香基氨基甲酰基、N-（C_1-C_6）烷基-N-(+)脱水松香基氨基甲酰基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{16})芳基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰基、N-((C_1-C_{18})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-((C_6-C_{16})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_1-C_{10})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、CON(CH_2)$_h$，其中，CH_2基团可被O、S、N-(C_1-C_8)烷基亚氨基、N-(C_3-C_8)环烷基亚氨基、N-(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_4)烷基亚氨基、N-(C_6-C_{12})芳基亚氨基、N-(C_7-C_{16})芳烷基亚氨基、N-(C_1-C_4)烷氧基(C_1-C_6)烷基亚氨基所代替，h 为3-7；结构式 R 的氨基甲酰基：



(R)

其中，

R^x和R^y各自为氢、C_{1-6}烷基、C_{3-7}环烷基、芳基或者α氨基酸的α碳原子取代基，所述α氨基酸属于 L-和 D-氨基酸，

s=1-5；

T 是 OH 或 NR^*R^{**}，R^*、R^{**}和R^{***}可相同或不同，选自氢、C_{6-12}芳基、C_{7-11}芳烷

基、C_{1-8}烷基、C_{3-8}环烷基、(+)-脱水松香基、C_{1-8}烷氧基-C_{1-8}烷基、C_{7-12}芳基烷氧基 C_{1-8}烷基、C_{6-12}芳氧基 C_{1-8}烷基、C_{1-10}烷酰基，其可任选地被 C_{7-16}芳基烷酰基所取代，任选地被 C_{6-12}芳酰基所取代；或者 R^*和 R^{**}一起形成-$(CH_2)_h$，其中一个 CH_2基团可被 O、S、SO、SO_2、N-酰基氨基、N-(C_1-C_{10})烷氧基羰基亚氨基、N-(C_1-C_8)烷基亚氨基、N-(C_3-C_8)环烷基亚氨基、N-(C_3-C_8)环烷基-(C_1-C_4)烷基亚氨基、N-(C_6-C_{12})芳基亚氨基、N-(C_7-C_{16})芳烷基亚氨基、N-(C_1-C_4)烷氧基(C_1-C_6)烷基亚氨基所代替，h 为 3-7；

氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰氧基、N,N-二(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰氧基、N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰氧基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰氧基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰氧基、N-((C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰氧基、N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_1-C_{10})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、氨基、(C_1-C_{12})烷基氨基、二(C_1-C_{12})烷基氨基、(C_3-C_8)环烷基氨基、(C_3-C_{12})烯基氨基、(C_3-C_{12})炔基氨基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基、N-(C_7-C_{11})芳烷基氨基、N-烷基芳烷基氨基、N-烷基芳基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷酰基氨基、(C_3-C_8)环烷酰基氨基、(C_6-C_{12})芳酰基氨基、(C_7-C_{16})芳烷酰基氨基、(C_1-C_{12})烷酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_3-C_8)环烷酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_6-C_{12})芳酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_7-C_{11})芳烷酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_3-C_8)环烷酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{16})芳烷酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、氨基-(C_1-C_8)烷基、N-(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_8)烷基、N,N-二(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_{10})烷基、(C_3-C_8)环烷基氨基-(C_1-C_{10})烷基、(C_1-C_{20})烷基巯基、(C_1-C_{20})烷基亚硫酰基、(C_1-C_{20})烷基磺酰基、(C_6-C_{12})芳基巯基、(C_6-C_{12})芳基亚硫酰基、(C_6-C_{12})芳基磺酰基、(C_7-C_{16})芳烷基巯基、(C_7-C_{16})芳烷基亚硫酰基、(C_7-C_{16})芳烷基磺酰基、(C_1-C_{16})烷基巯基-(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_{12})烷基亚硫酰基-(C_1-C_6)烷基、(C_1-C_{12})烷基磺酰基-(C_1-C_6)烷基、(C_6-C_{12})芳基巯基-(C_1-C_6)烷基、(C_6-C_{12})芳基亚硫酰基-(C_1-C_6)烷基、(C_6-C_{12})芳基磺酰基-(C_1-C_6)烷基、(C_7-C_{16})芳烷基巯基-(C_1-C_6)烷基、(C_7-C_{16})芳烷基亚硫酰基-(C_1-C_6)烷基、(C_7-C_{16})芳烷基磺酰基-(C_1-C_6)烷基、氨磺酰基、N-(C_1-C_{10})烷基氨磺酰基、N,N-二(C_1-C_{10})烷基氨磺酰基、(C_3-C_8)环烷基氨磺酰基、N-(C_6-C_{12})芳基氨磺酰基、N-(C_7-C_{16})

芳烷基氨磺酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{12})芳基氨磺酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨磺酰基、(C_1-C_{10})烷基磺酰氨基、N-((C_1-C_{10})烷基)-(C_1-C_{10})烷基磺酰氨基、(C_7-C_{16})芳烷基磺酰氨基和N-(C_1-C_{10})烷基(C_7-C_{16})芳烷基磺酰氨基；其中的芳基可被1-5个下列基团所取代：羟基、卤素、氰基、三氟甲基、硝基、羧基、(C_2-C_{16})烷基、(C_3-C_8)环烷基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_{12})烷基、(C_3-C_8)环烷氧基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_{12})烷氧基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_{12})烷基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_8)烷基(C_1-C_6)烷氧基、(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_3-C_8)环烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_8)烷氧基、(C_6-C_{12})芳基、(C_7-C_{16})芳烷基、(C_2-C_{16})烯基、(C_2-C_{12})炔基、(C_1-C_{16})烷氧基、(C_1-C_{16})烯氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_{12})烷氧基、(C_1-C_{12})烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳氧基、(C_7-C_{16})芳基烷氧基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_6)烷氧基、(C_7-C_{16})芳烷氧基(C_1-C_6)烷氧基、(C_1-C_8)羟烷基、(C_6-C_{16})芳氧基(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{16})芳烷氧基(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、(C_7-C_{12})芳烷氧基(C_1-C_8)烷氧基(C_1-C_6)烷基、$-O-(CH_2)_x-C_fH_{(2f+1-g)}F_g$、$-OCF_2Cl$、$-O-CF_2-CHFCl$、($C_1$-$C_{12}$)烷基羰基、($C_3$-$C_8$)环烷基羰基、($C_6$-$C_{12}$)芳基羰基、($C_7$-$C_{16}$)芳烷基羰基、($C_1$-$C_{12}$)烷氧基羰基、($C_1$-$C_{12}$)烷氧基($C_1$-$C_{12}$)烷氧基羰基、($C_6$-$C_{12}$)芳氧基羰基、($C_7$-$C_{16}$)芳基烷氧基羰基、($C_3$-$C_8$)环烷氧基羰基、($C_2$-$C_{12}$)烯氧基羰基、($C_2$-$C_{12}$)炔氧基羰基、($C_6$-$C_{12}$)芳氧基($C_1$-$C_6$)烷氧基羰基、($C_7$-$C_{16}$)芳烷氧基($C_1$-$C_6$)烷氧基羰基、($C_3$-$C_8$)环烷基($C_1$-$C_6$)烷氧基羰基、($C_3$-$C_8$)环烷氧基($C_1$-$C_6$)烷氧基羰基、($C_1$-$C_{12}$)烷基羰基氧基、($C_3$-$C_8$)环烷氧基羰基氧基、($C_6$-$C_{12}$)芳基羰基氧基、($C_7$-$C_{16}$)芳烷基羰基氧基、肉桂酰氧基、($C_2$-$C_{12}$)烯基羰基氧基、($C_2$-$C_{12}$)炔基羰基氧基、($C_1$-$C_{12}$)烷氧基羰基氧基、($C_1$-$C_{12}$)烷氧基($C_1$-$C_{12}$)烷氧基羰基氧基、($C_6$-$C_{12}$)芳氧基羰基氧基、($C_7$-$C_{16}$)芳基烷氧基羰基氧基、($C_3$-$C_8$)环烷氧基羰基氧基、($C_2$-$C_{12}$)烯氧基羰基氧基、($C_2$-$C_{12}$)炔氧基羰基氧基、氨基甲酰基、N-($C_1$-$C_{12}$)烷基氨基甲酰基、N,N-二($C_1$-$C_{12}$)烷基氨基甲酰基、N-($C_3$-$C_8$)环烷基氨基甲酰基、N,N-二环($C_3$-$C_8$)烷基氨基甲酰基、N-($C_1$-$C_{10}$)烷基-N-($C_3$-$C_8$)环烷基氨基甲酰基、N-((($C_3$-$C_8$)环烷基($C_1$-$C_6$)烷基)氨基甲酰基、N-($C_1$-$C_6$)烷基-N-($C_3$-$C_8$)环烷基($C_1$-$C_6$)烷基氨基甲酰基、N-(+)-脱水松香基氨基甲酰基、N-(C_1-C_6)烷基-N-(+)-脱水松香基氨基甲酰基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{16})芳基氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰基、N-((C_1-C_{16})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰基、N-((C_6-C_{16})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰基、N-((C_7-C_{16})芳烷基氧

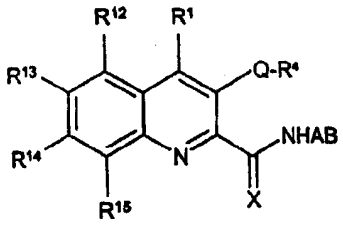
基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_1-C_{10})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰基、$CON(CH_2)_h$，其中，CH_2基团可被下列基团所代替：O、S、N-(C_1-C_8)烷基亚氨基、N-(C_3-C_8)环烷基亚氨基、N-(C_3-C_8)环烷基(C_1-C_4)烷基亚氨基、N-(C_6-C_{12})芳基亚氨基、N-(C_7-C_{16})芳烷基亚氨基、N-(C_1-C_4)烷氧基(C_1-C_6)烷基亚氨基，h 为 3-7；氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰氧基、N,N-二(C_1-C_{12})烷基氨基甲酰氧基、N-(C_3-C_8)环烷基氨基甲酰氧基、N-(C_6-C_{16})芳基氨基甲酰氧基、N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_6-C_{12})芳基氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-(C_7-C_{16})芳烷基氨基甲酰氧基、N-((C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰氧基、N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_1-C_{10})烷氧基-(C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_6-C_{12})芳氧基-(C_1-C_{10})烷基）氨基甲酰氧基、N-(C_1-C_{10})烷基-N-((C_7-C_{16})芳烷基氧基-(C_1-C_{10})烷基)氨基甲酰氧基、氨基、(C_1-C_{12})烷基氨基、二(C_1-C_{12})烷基氨基、(C_3-C_8)环烷基氨基、(C_3-C_{12})烯基氨基、(C_3-C_{12})炔基氨基、N-(C_6-C_{12})芳基氨基、N-(C_7-C_{11})芳烷基氨基、N-烷基芳烷基氨基、N-烷基芳基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基氨基、(C_1-C_{12})烷氧基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷酰基氨基、(C_3-C_8)环烷酰基氨基、(C_6-C_{12})芳酰基氨基、(C_7-C_{16})芳烷酰基氨基、(C_1-C_{12})烷酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_3-C_8)环烷酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_6-C_{12})芳酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_7-C_{11})芳烷酰基-N-(C_1-C_{10})烷基氨基、(C_1-C_{12})烷酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_3-C_8)环烷酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_6-C_{12})芳酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、(C_7-C_{16})芳烷酰基氨基-(C_1-C_8)烷基、氨基-(C_1-C_8)烷基、N-(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_8)烷基、N,N-二(C_1-C_{10})烷基氨基-(C_1-C_{10})烷基、(C_3-C_8)环烷基氨基-(C_1-C_{10})烷基、(C_1-C_{12})烷基巯基、(C_1-C_{12})烷基亚硫酰基、(C_1-C_{12})烷基磺酰基、(C_6-C_{16})芳基巯基、(C_6-C_{16})芳基亚硫酰基、(C_6-C_{16})芳基磺酰基、（C_7-C_{16})芳烷基巯基、(C_7-C_{16})芳烷基亚硫酰基、(C_7-C_{16})芳烷基磺酰基；

或者其中 R^1 和 R^2 或 R^2 和 R^3 形成$(CH_2)_o$链，它是饱和的或者含 C=C 双键不饱和的，其中一个或两个 CH_2 基团可任选地被 O、S、SO、SO_2 或 NR' 所代替，R' 是氢、（C_6-C_{12})芳基、（C_1-C_8)烷基、（C_1-C_8)烷氧基（C_1-C_8)烷基、（C_7-C_{12})芳基烷氧基（C_1-C_8)烷基、（C_6-C_{12})芳氧基（C_1-C_8)烷基、（C_1-C_{10})烯氧基，任选地被取代的（C_7-C_{16})芳基烷酰基所取代，或者任选地被取代的(C_6-C_{12})芳酰基所取代，o 是 3、4 或 5。

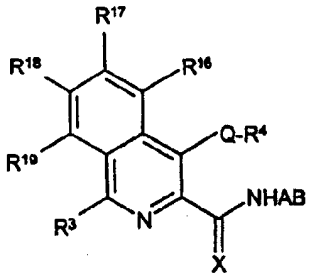
或者基团 R^1 和 R^2 或者 R^2 和 R^3 可与携带这些基团的吡啶或哒嗪形成 5,6,7,8-四氢异喹啉环，或者 5,6,7,8-四氢噌啉环。

或者其中 R^1 和 R^2 或者 R^2 和 R^3 可形成 5 元或 6 元碳芳环或杂芳环。

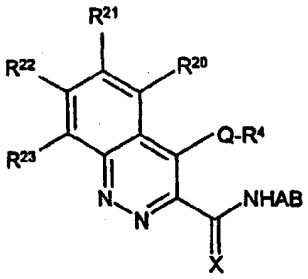
或者 R^1 和 R^2 或者 R^2 和 R^3 可与携带这些基团的吡啶或哒嗪形成任选取代的杂环体系，所述杂环体系选自噻吩并吡啶、呋喃并吡啶、吡啶并吡啶、嘧啶并吡啶、咪唑并吡啶、噻唑并吡啶、噁唑并吡啶、喹啉、异喹啉和噌啉。其中，喹啉、异喹啉和噌啉优选能满足结构式 Ia、Ib 和 Ic：



(Ia)



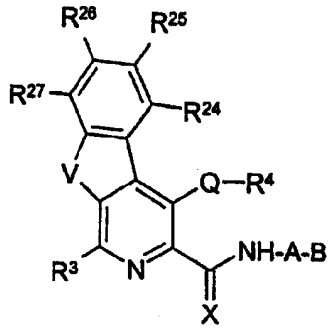
(Ib)



(Ic)

在各种情况下取代基 R^{12}-R^{23} 各自具有 R^1、R^2 和 R^3 的含义。

或者其中基团 R^1 和 R^2 与携带这些基团的吡啶一起形成结构式 Id 的化合物：



(Id)

其中，V 是 S、O 或者 NR^k，R^k 选自氢、$(C_1$-$C_6)$烷基、芳基或苄基；其中芳基可任选地被 1-5 个如上定义的取代基所取代。

在各种情况下 R^{24}、R^{25}、R^{26} 和 R^{27} 各自具有 R^1、R^2、和 R^3 的含义；

f=1-8；

g 为 0 或 1-(2f+1)；

x=0-3；

h=3-7；

包括由其衍生的药学上活性的盐和前体药物。

结构式(I)的例举性化合物可参见欧洲专利 EP0650960 和 EP0650961。在 EP0650960 和 EP0650961 中所列的所有化合物，尤其是权利要求书中所列的化合

物和实施例获得的最终产物，均纳入本申请中作为参考。其中所含的例举性化合物是((3-甲氧基吡啶-2-羰基)氨基)乙酸。

另外，结构式(I)的例举性化合物的描述见美国专利5,658,933。美国专利5,658,933中所列的所有化合物尤其是权利要求书中所列化合物和实施例的最终产物均纳入本申请书中作为参考。结构式(I)的例举性化合物包括但不限于：3-甲氧基吡啶-2-羧酸盐酸N-(((十六烷氧基)羰基)甲基)酰胺、盐酸3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-(((十六烷氧基)羰基)甲基)酰胺、3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-(((辛氧基)羰基)甲基)酰胺、3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-(((己氧基)羰基)甲基)酰胺、3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-(((丁氧基)羰基)甲基)酰胺、3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-(((壬氧基)羰基)甲基)酰胺外消旋物、3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-(((己氧基)羰基)甲基)酰胺、3-苄氧基吡啶-2-羧酸N-(((辛氧基)羰基)甲基)酰胺、3-苄氧基吡啶-2-羧酸N-(((丁氧基)羰基)甲基)酰胺、5-(((3-(1-丁氧基)丙基)-氨基)羰基)-3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-((苄氧基羰基)甲基)酰胺和5-(((3-(十二烷氧基)丙基)-氨基)羰基)-3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-((苄氧基羰基)甲基)酰胺。

其它结构式(I)化合物是美国专利5,620,995中描述的取代的杂环酰胺；美国专利6,020,350中描述的3-羟基吡啶-2-羧酰胺基酯；美国专利5,607,954中描述的磺酰氨基羰基吡啶-2-甲酰胺；以及美国专利5,610,172和5,620,996中描述的磺酰氨基羰基吡啶-2-甲酰胺和磺酰氨基羰基吡啶-2-羧酯酰胺。这些专利文献所列的所有化合物尤其是权利要求书中所列化合物和实施例的最终产物均纳入本申请书中作为参考。结构式(I)的例举性化合物包括，但不限于3-甲氧基吡啶-2-羧酸盐酸N-(((十六烷氧基)羰基)甲基)酰胺、盐酸3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-(((十六烷氧基)羰基)甲基)酰胺、3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-(((辛氧基)羰基)甲基)酰胺、3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-(((己氧基)羰基)甲基)酰胺、3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-(((丁氧基)羰基)甲基)酰胺、3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-(((壬氧基)羰基)甲基)酰胺外消旋物、3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-(((己氧基)羰基)甲基)酰胺、3-苄氧基吡啶-2-羧酸N-(((辛氧基)羰基)甲基)酰胺、3-苄氧基吡啶-2-羧酸N-(((丁氧基)羰基)甲基)酰胺、5-(((3-(1-丁氧基)丙基)-氨基)羰基)-3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-((苄氧基羰基)甲基)酰胺和5-(((3-(十二烷氧基)丙基)-氨基)羰基)-3-甲氧基吡啶-2-羧酸N-((苄氧基羰基)甲基)酰胺。

其它例举性的结构式(I)化合物包括，但不限于盐酸3-羟基吡啶-2-羧酸N-(((十六烷氧基)羰基)甲基)酰胺、3-羟基吡啶-2-羧酸N-(((1-辛氧基)羰基)甲基)酰胺、3-羟基吡啶-2-羧酸N-(((己氧基)羰基)甲基)酰胺、3-羟基吡啶-2-

羧酸 N-(((丁氧基)羰基)甲基)酰胺、3-羟基吡啶-2-羧酸 N-(((2-壬氧基)羰基)甲基)酰胺外消旋物、3-羟基吡啶-2-羧酸 N-(((庚氧基)羰基)甲基)酰胺、3-苄氧基吡啶-2-羧酸 N-(((辛氧基)羰基)甲基)酰胺、3-苄氧基吡啶-2-羧酸 N-(((丁氧基)羰基)甲基)酰胺、5-(((3-(1-丁氧基)丙基)氨基)羰基)-3-羟基吡啶-2-羧酸 N-((苄氧基羰基)甲基)酰胺、5-(((3-(1-丁氧基)丙基)氨基)羰基)-3-羟基吡啶-2-羧酸 N-(((1-丁氧基)-羰基)甲基)酰胺和 5-(((3-十二烷氧基)丙基)氨基)羰基)-3-羟基吡啶-2-羧酸 N-(((苄氧基)-羰基)甲基)酰胺。

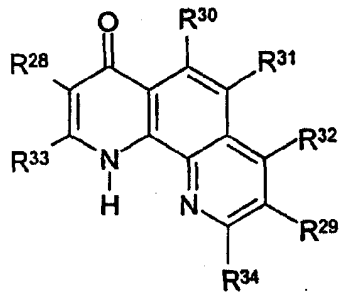
例举性的结构式(Ia)化合物的描述见美国专利 5,719,164 和 5,726,305 中，这些专利文献中所列的所有化合物尤其是权利要求书中所列化合物和实施例的最终产物均纳入本申请书中作为参考。例举性的结构式(Ia)化合物包括，但不限于 N-((6-(1-丁氧基)-3-羟基喹啉-2-基)羰基)-甘氨酸、N-((6-氯-3-羟基喹啉-2-基)羰基)-甘氨酸、N-((3-羟基-6-(2-丙氧基)-喹啉-2-基)羰基)-甘氨酸、N-((7-氯-3-羟基喹啉-2-羰基)氨基)乙酸、((3-苄氧基-7-氯喹啉-2-羰基)氨基)乙酸(化合物 D)、((3-羟基-6-异丙基喹啉-2-羰基)氨基)乙酸(化合物 E)、((3-羟基-6-苯氧基喹啉-2-羰基)氨基)乙酸(化合物 F)、((3-羟基-6-三氟甲氧基喹啉-2-羰基)氨基)乙酸（化合物 G）。

例举性的结构式(Ib)化合物的描述见美国专利 6,093,730 中，美国专利 6,093,730 中所列的所有化合物尤其是权利要求书中所列化合物和实施例的最终产物均纳入本申请书中作为参考。例举性的结构式(Ib)化合物包括，但不限于 N-((1-氯-4-羟基-7-(2-丙氧基)异喹啉-3-基)羰基)甘氨酸、N-((7-溴-4-羟基异喹啉-3-羰基)氨基)乙酸、N-((1-氯-4-羟基-6-(2-丙氧基)异喹啉-3-基)羰基)甘氨酸、N-((1-氯-4-羟基-7-甲氧基异喹啉-3-基)羰基)甘氨酸(化合物 J)、N-((1-氯-4-羟基-6-甲氧基异喹啉-3-基)羰基)甘氨酸、[(7-丁氧基-1-氯-4-羟基异喹啉-3-羰基)氨基]乙酸、N-((7-苄氧基-1-氯-4-羟基异喹啉-3-基)羰基)甘氨酸、N-((6-苄氧基-1-氯-4-羟基异喹啉-3-基)羰基)甘氨酸、((1-氯-4-羟基异喹啉-3-羰基)氨基)乙酸（化合物 C）、N-((8-氯-4-羟基异喹啉-3-基)羰基)甘氨酸、((4-羟基-7-异丙氧基-3-羰基)氨基)乙酸(化合物 H)、[(7-丁氧基-4-羟基异喹啉-3-羰基)氨基]乙酸（化合物 I）和((1-氯-4-羟基-7-异丙氧基异喹啉-3-羰基)氨基)乙酸（化合物 K）。

另外，适用于本发明方法的化合物是 Majamaa 等(1984, Eur J Biochem 138:239-245;和 1985 Biochem J 229:127-133), Kivirikko 和 Myllyharju (1998, Matrix Biol 16:357-368), Bickel 等(1998, Hepatology 28:404-411), Friedman

等(2000, 美国国家科学学会会报(Proc Natl Acad Sci USA) 97:4736-4741),以及 Franklin 等(2001, Biochem J 353:333-338)中所述的化合物,所有这些文献内容均纳入本文作为参考。此外，本发明提供其它例举性的化合物，其中例如 A 位和 B 位一起可形成例如己酸、氰基甲基、2-氨基乙基、苯甲酸、1H-苯并咪唑-2-基甲基等。

在其它实施例中，可用于本发明方法的化合物选自结构式(II)的化合物：



(II)

其中

R^{28} 为氢、硝基、氨基、氰基、卤素、(C_1-C_4)-烷基、羧基或其代谢不稳定的酯、(C_1-C_4)-烷基氨基、二-(C_1-C_4)-烷基氨基、(C_1-C_6)-烷氧基羰基、(C_2-C_4)-烷酰基、羟基-(C_1-C_4)-烷基、氨基甲酰基、N-(C_1-C_4)-烷基氨基甲酰基、(C_1-C_4)-烷硫基，(C_1-C_4)-烷基亚硫酰基，(C_1-C_4)-烷基磺酰基、苯硫基、苯基亚硫酰基、苯基磺酰基；所述苯基可任选地被 1-4 个相同或不同的卤素、(C_1-C_4)-烷氧基、(C_1-C_4)-烷基、氰基、羟基、三氟甲基、氟-(C_1-C_4)-烷硫基、氟-(C_1-C_4)-烷基亚硫酰基、氟-(C_1-C_4)-烷基磺酰基、(C_1-C_4)-烷氧基-(C_2-C_4)-烷氧基羰基、N,N-di-[(C_1-C_4)-烷基]氨基甲酰基-(C_1-C_4)-烷氧基羰基、(C_1-C_4)-烷基氨基-(C_2-C_4)-烷氧基羰基、二-(C_1-C_4)-烷基氨基-(C_2-C_4)-烷氧基羰基、(C_1-C_4)-烷氧基-(C_2-C_4)-烷氧基-(C_2-C_4)-烷氧基羰基、(C_2-C_4)-烷酰氧基-(C_1-C_4)-烷基或 N-(氨基-(C_2-C_8)-烷基]-氨基甲酰基所取代；

R^{29}是氢、羟基、氨基、氰基、卤素、(C_1-C_4)-烷基、羧基或其代谢不稳定的酯、(C_1-C_4)-烷基氨基、二-(C_1-C_4)-烷基氨基、(C_1-C_6)-烷氧基羰基、(C_2-C_4)-烷酰基、(C_1-C_4)-烷氧基、羧基-(C_1-C_4)-烷氧基、(C_1-C_4)-烷氧基羰基-(C_1-C_4)-烷氧基、氨基甲酰基、 N-(C_1-C_8)-烷基氨基甲酰基、N,N-二-(C_1-C_8)-烷基氨基甲酰基、N-[氨基-(C_2-C_8)烷基]氨基甲酰基、 N-[(C_1-C_4)-烷基氨基-(C_1-C_8)-烷基]-氨基甲酰基、 N-[二-(C_1-C_4)-烷基氨基-(C_1-C_8)-烷基)]-氨基甲酰基、 N-环己基氨基甲酰基、 N-环戊基氨基甲酰基、 N-(C_1-C_4)-烷基环己基氨基甲酰基、 N-(C_1-C_4)-烷基环戊基氨基甲酰基、 N-苯基氨基甲酰基、 N-(C_1-C_4)-烷基-N-苯基氨基

甲酰基、N,N-二苯基氨基甲酰基、N-[苯基-(C_1-C_4)-烷基]-氨基甲酰基、N-(C_1-C_4)-烷基-N-[苯基-(C_1-C_4)-烷基]-氨基甲酰基或 N,N-二[苯基-(C_1-C_4)-烷基]-氨基甲酰基、所述苯基可任选地被 1-4 个相同或不同的卤素、(C_1-C_4)-烷氧基、(C_1-C_4)-烷基、氰基、羟基、三氟甲基、N-[(C_2-C_4)-烷酰基]-氨基甲酰基、 N-[(C_1-C_4)-烷氧基羰基]-氨基甲酰基、 N-[氟-(C_2-C_6)-烷基]-氨基甲酰基、 N,N-[氟-(C_2-C_6)-烷基]-N-(C_1-C_4)-烷基氨基甲酰基、N,N-[二氟-(C_2-C_6)-烷基]氨基甲酰基、吡啶-1-基羰基、 哌啶羰基、哌嗪-1-基羰基、吗啉羰基所取代，其中的杂环基团可任选地被 1-4 个选自(C_1-C_4)-烷基、苄基、1,2,3,4-四氢-异喹啉-2-基羰基、N,N-[二-(C_1-C_4)-烷基]-硫代氨基甲酰基、N-(C_2-C_4)-烷酰基氨基、或 N-[(C_1-C_4)-烷氧基羰基]-氨基；

R^{30} 是氢、(C_1-C_4)-烷基、(C_2-C_4)-烷氧基、卤素、硝基、羟基、氟-(C_1-C_4)烷基或吡啶基；

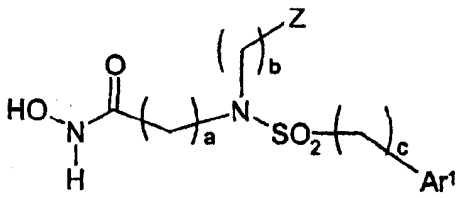
R^{31} 是氢、(C_1-C_4)-烷基、(C_2-C_4)-烷氧基、卤素、硝基、羟基、氟-(C_1-C_4)-烷基、吡啶或甲氧基；

R^{32} 是氢、羟基、氨基、(C_1-C_4)-烷基氨基、二-(C_1-C_4)-烷基氨基、卤素、(C_1-C_4)-烷氧基-(C_2-C_4)-烷氧基、 氟-(C_1-C_6)-烷氧基、吡咯-1-基、哌啶基、哌嗪-1-基、或吗啉基，其中杂环基团可任选地被 1-4 个相同或不同的 (C_1-C_4)-烷基或苄基所取代；

R^{33} 和 R^{34} 各自选自氢、(C_1-C_4)-烷基、和(C_1-C_4)-烷氧基；包括其药学上可接受的盐和由其制得的前体药物。

例举性的结构式(II)化合物的描述见美国专利 5,916,898 和 6,200,974，以及国际出版物 No.WO 99/21860 中，所有上述专利和文献所列的化合物，尤其是权利要求书所列的化合物以及实施例获得的最终产物均纳入本申请书中作为参考。其所包含的例举性化合物有 3-羰基-4-氧-3,4-二氢-1,10-菲咯啉 (参见例如 Seki 等(1974) Chem Abstracts 81:424, No.21),3-羧基-5-羟基-4-氧-3,4-二氢-1,10-菲咯啉、3-羧基-5-甲氧基-4-氧-3,4-二氢-1,10-菲咯啉(化合物 A),和 3-羧基-8-羟基-4-氧-3,4-二氢-1,10-菲咯啉。

在其它实施例中，可用于本发明方法的化合物选自结构式(III)或其药学上可接受的盐：



(III)

其中，

a 是 1-4 的整数；

b 是 0-4 的整数；

c 是 0-4 的整数；

Z 选自(C3-C10)环烷基、被一个或多个 Y^1 取代的(C3-C10)环烷基、3-10 元杂环烷基和被一个或多个 Y^1 分别取代的 3-10 杂环烷基、(C5-C20)芳基、被一个或多个 Y^1 分别取代的 (C5-C20)芳基、5-20 元杂芳基和被一个或多个 Y^1 分别取代的 5-20 杂芳基；

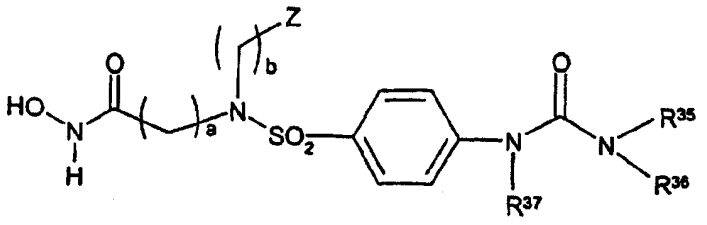
Ar^1 选自(C5-C20)芳基、被一个或多个 Y^2 分别取代的(C5-C20)芳基、5-20 元杂芳基和被一个或多个 Y^2 分别取代的 5-20 元杂芳基；

各个 Y^1 各自选自亲脂性官能团、(C5-C20)芳基、 (C6-C26)烷芳基、5-20 元杂芳基和 6-26 元烷基杂芳基；

各个 Y^2 各自选自-R'、-OR'、-OR″、-SR'、-SR″, -NR'R'、 $-NO_2$、-CN, -卤素、-三卤甲基、三卤甲氧基、-C(O)R'、-C(O)OR'、-C(O)NR'R'、-C(O)NR'OR'、-C(NR'R')=NOR'、 -NR'-C(O)R'、 $-SO_2R'$、$-SO_2R''$、$-NR'-SO_2-R'$、-NR'-C(O)-NR'R'、三唑-5-基、-NR'-C(O)-OR'、 -C(NR'R')=NR'、-S(O)-R'、-S(O)-R″、和-NR'-C(S)-NR'R'；

各个 R'分别选自-H、(C1-C8)烷基、(C2-C8)烯基、(C2-C8)炔基；

各个 R″分别选自(C5-C20)芳基和被一个或多个-OR'、 -SR'、-NR'R'、$-NO_2$、-CN、卤素或三卤甲基分别取代的(C5-C20)芳基；或者其中 c 为 0，Ar^1 是 N'取代的脲芳基，该化合物具有结构式(IIIa)或其药学上可接受的盐：



(IIIa)

a、b 和 Z 如上所定义；

R^{35} 和 R^{36} 各自选自氢、(C1-C8)烷基、(C2-C8)烯基、(C2-C8)炔基、(C3-C10)环烷基、(C5-C20)芳基、(C5-C20)取代的、(C6-C26)烷芳基、(C6-C26)取代的烷

芳基、5-20 元杂芳基、5-20 元取代的杂芳基、6-26 元烷基杂芳基和 6-26 元取代的烷基杂芳基；

R^{37} 各自选自氢、(C1-C8)烷基、(C2-C8)烯基、(C2-C8)炔基。

例举性的结构式(I11)化合物的描述见国际专利 No. WO 00/50390。上述文献中所列的所有化合物，特别是其权利要求书中给出的化合物和实施例获得的产物均纳入本申请书中作为参考。

例举性的结构式(III)化合物包括但不限于：3-{[4-(3,3-二苄基-脲基)苯磺酰基]-[2-(4-甲氧基苯基)乙基)氨基} -N-羟基丙酰氨(化合物 B)，3-{ {4-[3-(4-氯苯基)-脲剂]-苯磺酰基}-[2-(4-甲氧基苯基)-乙基)-氨基}-N-羟基-丙酰胺和 3- {{4-[3-(1,2-二苯基乙基)-脲基]-苯磺酰基}-[2-(4-甲氧基苯基)-乙基]-氨基}-N-羟基丙酰胺。

因此，本发明提供治疗、预防或预治疗红细胞生成素相关疾病如贫血和神经疾病的方法。特别考虑使用本文所述的化合物的方法。此外，本发明提供用于治疗患有与具体治疗方法如化疗、透析等相关的贫血患者的方法。在具体实施例中，这些方法涉及使用本文所述的化合物。此外，本发明提供使用体外细胞培养技术生产内源性红细胞生成素的方法。本发明还考虑增加动物中循环性网织红细胞的数量、以用于产生体外信使 RNA 翻译用的无细胞网织红细胞裂解物的方法。

使用本发明化合物的方法

本发明提供增加内源性红细胞生成素、从而增加红细胞生成的方法。这些方法可用于预防、预治疗或治疗红细胞生成素相关疾病，如与贫血、神经疾病等相关的病症和疾病。这些病症和疾病包括本文以上所述的疾病。

本发明还提供增加内源性红细胞生成素、以预防、预治疗或治疗红细胞生成素相关神经疾病的方法，所述神经疾病包括但不限于：急性疾病如中风、创伤、癫痫和脊髓损伤，和慢性疾病如神经变性疾病。这些方法可用于治疗包括但不限于手术(如胸腹大动脉手术)过程相关的神经疾病。

本发明提供可用于上述方法的化合物。例如，可单独给予已患有或存在发生红细胞生成素相关疾病(如贫血)危险的患者治疗有效量的化合物或其药学上可接受的盐，或者与药学上可接受的赋形剂一起给予。贫血可能是由于各种病症或疾病(包括但不限于急性或慢性肾病、糖尿病、癌症、溃疡)；病毒、细菌或寄生虫感染；炎症等而导致的；或者，贫血也可能与医学过程或治疗相关，包括如辐射

治疗、化疗、肾透析、手术等等。

例如，可将治疗有效量的化合物或其药学上可接受的盐单独或与药学上可接受的赋形剂一起，给予要用齐多夫定或其它逆转录酶抑制剂治疗的 HIV 感染患者。在另一实施例中，可将治疗有效量的化合物或其药学上可接受的盐单独或与药学上可接受的赋形剂一起，给予接受含有环状顺氯氨铂或不含顺氯氨铂化疗的贫血癌症患者。在又一实施例中，可将治疗有效量的化合物或其药学上可接受的盐单独或与药学上可接受的赋形剂一起，给予计划作手术的贫血或非贫血患者以减少同种异体输血的需要。

给药的优选途径包括口服和皮下给药途径。这些途径由于如容易给药、患者可自己服药、成本低、医生上门拜访少以及感染和免疫并发症风险减少的缘故而优于目前的 EPO 替代治疗，使一些患者对重组 EPO 给药产生的不良反应减到最小。

一方面，本发明化合物能抑制一种或多种 2-酮戊二酸双加氧酶。在一个实施例中，所述化合物以相同的特异性或不同的特异性能抑制 2-酮戊二酸双加氧酶家族中的至少两个成员，如 HIF 脯氨酰羟化酶和 HIF 天冬酰胺-羟化酶(FIH-1)等。在另一实施例中，所述化合物对一种 2-酮戊二酸双加氧酶如 HIF 脯氨酰羟化酶有特异性，但对家族中的其它成员显示出很小的特异性或者无特异性。

可与其它各种治疗方法相结合给予本发明化合物。在一个实施例中，将所述化合物与另一种 2-酮戊二酸双加氧酶抑制剂一起给予，其中两化合物对各个 2-酮戊二酸双加氧酶家族的成员具有不同的特异性。可以相互的比例同时给予所述两种化合物。对于治疗的指定过程或具体的患者确定适当的比例在本领域技术人员的水平之内。或者，在治疗过程中连续给予两种化合物，例如在心肌梗塞后。在一个具体实施例中，一种化合物特异性抑制 HIF 脯氨酰羟化酶活性，另一化合物特异性抑制原胶原脯氨酰基 4-羟化酶活性。在另一具体实施例中，一种化合物特异性抑制 HIF 脯氨酰羟化酶活性，另一种化合物特异性抑制 HIF 天冬酰胺酰-羟化酶活性。此外，所述化合物可与另一种制剂如离子添加剂如硫酸亚铁、维生素 B_{12}、和/或叶酸等一起给予。所述化合物还可偶联于外源性红细胞生成素，如 EPOGEN 或 ARANESP 重组人红细胞生成素(Amgen, Inc.，Thousand Oaks CA)，和/或粒细胞集落刺激因子(G-CSF)，如 NEUPOGEN 或 NEULASTA 重组 G-CSF (Amgen)给予。

药物制剂和给药途径

可直接传送本发明的组合物，或者使其在药物组合物中与合适的载体或赋形剂传送，这是本领域已知的。本发明的治疗方法可包括向患有贫血或由于例如慢性肾衰竭、糖尿病、癌症、AIDS、辐射治疗、化疗、肾透析或手术的缘故存在贫血危险的对象，给予有效量的本发明化合物。在一个优选实施例中，所述对象是哺乳动物，在最佳的实施例中，此对象是人。

可采用常规的实验不难确定所述制剂的有效量，可同样确定最有效的和最方便的给药途径和最合适的制剂。本领域只有各种制剂和药物传送系统。可参见如Gennaro, A. R.编辑，1995，“Remington's Pharmaceutical Scinces”，同上。

合适的给药途径包括如口服、直肠给药、跨粘膜给药、鼻内给药、或者肠内给药和肠胃道外给药(包括肌肉注射、皮下注射、脊髓内注射)、以及胸内给药、直接心室内给药、静脉内给药、腹膜内给药、鼻内给药或眼内注射。可以局部而非全身方法给予所述制剂或其组合物。例如，可通过注射传送合适的制剂，或者以靶向药物传送系统(如储存室或持续释放制剂)传送。

可采用本领域熟知的各种方法配制本发明的药物组合物，如通过常规混合、溶解、制粒、糖包衣、研磨、乳化、封装、包载或者冻干过程。如上所述，本发明的组合物可含有一种或多种能促进活性分子加工成药用制品的生理学上可接受的载体，如赋形剂和辅佐剂。

适当的制剂取决于所选择的给药途径。例如，对于注射，可将组合物配制成水溶液，优选以生理学上相容的缓冲液如 Hank 溶液、Ringer 溶液、或生理盐水缓冲液配制。对于跨粘膜或鼻给药，在制剂中可使用适合于透过屏障的渗透剂。这类渗透剂通常是本领域已知的。在本发明的一个优选实施例中，将本发明化合物配制成口服用的制剂。对于口服给药，可将活性化合物与本领域已知的药学上可接受的载体混合不难配制成所述化合物。这类载体能将本发明化合物配制成片剂、糖衣丸、胶囊、液体、凝胶、糖浆、浆液、悬浮液等等，为了便于对象口服摄取。也可将所述化合物配制成直肠组合物，如栓剂或保留灌肠剂(retention enemas)，如含有常规的栓剂基料如可可粉缓冲剂或其它甘油酯的灌肠剂。

用于口服的药物制品可以固体赋形剂的形式获得，任选地研磨所得混合物，加工颗粒混合物，加入合适的辅佐剂(如果需要)后，可获得片剂或糖衣丸核心。合适的赋形剂具体是填充剂，如糖类，包括乳糖、蔗糖、甘露糖醇或山梨糖醇；纤维素制品，如玉米淀粉、大米淀粉、小麦淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄蓍胶、

甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、和/或聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。如果需要，可加入崩解剂，如交联的聚乙烯吡咯烷酮、琼脂、或藻酸或其盐如藻酸盐。此外，可含有增湿剂如十二烷基磺酸钠。

提供具有合适包衣的糖衣丸核心。为此，可使用浓糖溶液，该溶液可任选地含有阿拉伯树胶、滑石粉、聚乙烯吡咯烷酮、carbopol 凝胶、聚乙二醇、和/或二氧化钛、硝基纤维素溶液(lacquer solution)和合适的有机溶剂或溶剂混合物。可将染料或色素加到片剂或糖衣丸包衣中，便于鉴定或特征分析活性化合物剂量的不同组合。

用于口服的药物制品包括由明胶制得的推入配合型胶囊(push-fit capsule)，以及由明胶和增塑剂(如甘油或山梨糖醇)制得的软密封胶囊。该推入配合型胶囊可含有活性成分与填充剂如乳糖、粘合剂如淀粉、和/或润滑剂如滑石粉或硬脂酸镁、以及任选的稳定剂相混合。在软胶囊中，活性化合物可溶解或悬浮在合适的液体中，如脂肪油、液态石蜡、或液态聚乙二醇中。此外，可加入稳定剂。所有的口服剂型其剂量都应当适用于这样的给药方式。

在一个实施例中，可透皮给予本发明的混合物，如通过皮肤贴片，或者局部给予。一方面，本发明的透皮或局部制剂可另外含有一种或多种渗透增强剂或其它效应剂，包括能增强所传送化合物迁移的制剂。如需要在特定部位传送情况下，透皮或局部给药是优选的。

对于吸入给药，可使用合适的推进剂如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其它任何合适的气体，从加压的包或喷雾器中以气溶胶喷雾形式方便地传送本发明的化合物。就加压气溶胶而言，通过提供一阀门传送计好量的药物，可确定适当的剂量单位。可配制用于吸入剂或吹入剂的(例如)明胶胶囊和药柱(cartridge)。这些胶囊或药柱通常含有所述化合物与合适的粉末基料如乳糖或淀粉的粉末混合物。

配制注射(如推注或连续输液)用的肠胃道外给药的组合物，可以单位剂型的形式采用例如安瓿或多剂量容器，其中还可加入防腐剂。这些组合物可以为油性或水性运载体配制的悬浮液、溶液或乳液形式，可含有各种配制用制剂，如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。肠胃道外给药的制剂包括水溶液或水溶形式的其它组合物。

也可将活性化合物的悬浮液配制成适当的油性注射悬浮液。合适的亲脂性溶剂或运载体包括脂肪油(如芝麻油)和合成性脂肪酸酯(如油酸乙酯)或甘油三酯，或

者脂质体。水性注射悬浮液可含有能增加悬浮液粘度的物质，如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇或葡聚糖。任选地，该悬浮液还可含有合适的稳定剂或能增加化合物稳定性的制剂，以制备高浓度的溶液。或者，活性成分可以为粉末形式，在使用前以合适的运载体如无菌的无热原水配制。

如上所述，还可将本发明的组合物配制成储存制品(depot preparation)。可通过植入(如皮下或肌肉内)或肌肉注射给予这类长时间起作用的制剂。因此，例如，可将本发明化合物与合适的聚合材料或疏水材料配制(如以可接受油配制成乳液)，或者与离子交换树脂配制，或者将其配制成有限溶解的衍生物，例如有限溶解的盐。

用于本发明疏水分子的合适载体是本领域已知的，包括含有如苄醇、非极性表面活性剂、可与水混溶的有机聚合物和水相的共溶剂系统。该共溶剂系统可以是 VPD 共溶剂系统。VPD 是含有 3%w/v 苄醇、8%w/v 非极性表面活性剂聚山梨糖醇 80(polysorbate 80)和 65%w/v 聚乙二醇 300、加入无水乙醇至 100%体积的溶液。该 VPD 共溶剂系统(VPD:5W)由 VPD 以 1：1 稀释于 5%的葡萄糖水溶液组成。这种共溶剂系统能有效溶解疏水化合物，并在全身给予后产生低的毒性。当然，共溶剂系统的比例可以有各种变化，只要不破坏其溶解度和毒性特征。此外，共溶剂成分可以改变。例如，可使用其它低毒性非极性表面活性剂替换聚山梨糖醇 80，聚乙二醇的馏分(fraction)大小可以改变。可使用其它生物相容性聚合物替换聚乙二醇，如用聚乙烯吡咯烷酮替换，可使用其它糖类或多糖替换葡萄糖。

或者，可使用其它输送系统传送疏水分子。脂质体和乳剂是已知的可用于输送疏水药物的输送媒介或运载体。脂质体输送系统在上述基因输送系统中已有讨论。可使用某些有机溶剂，如二甲亚砜，虽然通常其毒性较大。此外，可使用持续释放系统输送所述化合物，如含有有效量的待输送组合物的固体疏水聚合物的半渗透基质。已制备了各种持续释放的材料，本领域技术人员可获得这类材料。根据其化学性质，持续释放胶囊可在几周到 100 天以上的时间内释放所述化合物。根据治疗剂的化学性质和生物稳定性，可采用其它的策略来稳定蛋白质。

对于本发明治疗方法所用的组合物，可采用本领域已知的各种技术初步估计其治疗有效剂量。例如，在细胞培养试验中，可在动物模型中配制一剂量，以获得一个循环浓度范围，该范围包括在细胞培养中测得的 IC_{50}。适用于人的剂量范围可利用细胞培养试验和其它动物研究获得的数据来确定。

某制剂的治疗有效剂量指能使对象的症状减轻或生存延长的该制剂的量。可采用细胞培养或试验动物中的标准药学程序来确定这些分子的毒性和治疗效果，如通过测定 LD_{50}(使群体 50%致死的剂量)和 ED_{50}(使群体 50%的治疗有效的剂量) 来确定。毒性与治疗效果的剂量比是治疗指数，可以 LD_{50}/ED_{50} 表示。具有高治疗指数的制剂是优选的。

优选的剂量应在包括该 ED_{50} 值具有极小毒性或无毒性的循环浓度范围内。剂量可在此范围内根据所使用的剂型和给药途径而变化。应根据本领域已知的方法、对象疾病的具体情况准确选择制剂、给药途径和剂量。

剂量和给药间隔可个别调整，以提供足以调节产生所需的内源性红细胞生成素血浆水平〔即最小有效浓度(MEC)〕的活性部分的血浆水平。各化合物的 MEC 不同，但可根据体外数据估计。获得该 MEC 所必需的剂量取决于个体特征和给药途径。应采用能使血浆水平在治疗期间维持在约 10-90%、较佳约 30-90%、更佳 50-90%和 MEC 之上的治疗方案，给予所述制剂或其组合物。就局部给药或选择性摄取而言，药物的有效局部浓度可能与血浆浓度不相关。或者，可通过以下方式刺激产生内源性红细胞生成素：1) 给予负载剂量，接着给予维持剂量；2) 给予诱导剂量，以快速获得目标范围内的红细胞生成素水平，接着给予较低的维持剂量，以维持血细胞比容在所需的目标范围内；或者 3) 重复间歇性给药。

当然，给予的制剂或组合物的量将取决于各种因素，包括受治疗对象的体重、性别、年龄、受痛苦的严重程度、给药方式，以及主治医生的判断。

如果需要，本发明组合物可存在于小包或分散装置中，所述小包或装置为含有一剂量或多剂量活性成分的剂型。这种小包或装置可含有如金属箔或塑料箔，如泡型小包(blister pack)。所述小包或分散装置可包括用药说明书。还可制备含有配制在适当药学运载体中的本发明化合物的组合物，将其放在合适的容器中，并标记出可治疗的疾病。标签上标明合适的疾病，可包括病症、疾病或贫血为其主要指征的疾病。

化合物的筛选和鉴定

本发明提供筛选和鉴定能提高内源性红细胞生成素的其它化合物的方法。在一个具体实施例中，提供了鉴定能提高内源性 EPO 血浆水平的化合物的方法。可采用各种试验和筛选技术(包括以下所述的试验和技术)鉴定能增加内源性红细胞生成素水平的小分子。特别有用的一个试验涉及用感兴趣的化合物治疗动物，然

后测量血浆中的红细胞生成素水平。可参见如实施例 2。这些试验通常将提供与反应底物的消耗或反应产物的产生相关的可检测的信号。检测可涉及如荧光团、放射性同位素、酶偶联物和本领域已知的其它可检测标记。这些结果可以是定性或定量的。标记物(如生物素或组氨酸尾)有利于反应产物的分离，可通过沉积或亲和层析使所述反应产物从其它反应成分中纯化出来。

在提高内源性红细胞生成素表达涉及细胞内 HIFα的稳定化作用的优选实施例中，考虑了用于鉴定能调节(如增加或减少)HIFα水平或活性的小分子的试验。HIFα羟基化试验可涉及测量 HIFα或其片段中的羟基化脯氨酸或天冬酰胺残基，或测定在酶和 HIFα或其片段的存在时 2-酮戊二酸向琥珀酸酯的转化。例如，可参见 Palmerini 等(1985)，J Chromatogr 339：285-292；Cunliffe 等(1986)，Biochem J，240：617-619。测定 HIFα羟基化的代表性方法见例如 Ivan 等(同上)和实施例 9 中的描述。测定从 2-酮戊二酸产生琥珀酸酯的示范性方法见 Kaule 和 Gunlzer(1990，Anal Biochem，184：291-297)中的描述。底物分子可包括 HIFα或其片段，如 HIF(556-575)；例如，用于实施例 7 所述的试验的代表性底物是〔甲氧基香豆素〕-DLDLEALAPYIPADDDFQL-酰胺(SEQ ID NO:5)。酶可包括任何来源获得的 HIFα脯氨酰羟化酶(例如，可参见 GenBank 登录号 AAG33965 等)。酶也可存在于粗制细胞裂解物中，或以部分纯的形式存在。在存在或缺乏所述化合物的情况下测定和比较酶的活性可鉴定出能抑制 HIFα羟基化的化合物。

此外，结合上述方法，可采用本领域已知的各种筛选技术来鉴定本发明的化合物。这些筛选方法允许目标多肽或化合物游离于在溶液中、固定到固相载体上、连接在细胞表面上、位于细胞内等。例如，可将测试化合物排列在一表面上，并以本领域目前可得到的阵列方法类似的方式分析其活性。例如，可参见 Shalon 等，1995，国际出版号 WO 95/35505；Baldeschweiler 等，1995，国际出版号 WO 95/251116；Brennan 等，1995，美国专利 5474796；和 Heller 等，1997，美国专利 5605662。

体外内源性红细胞生成素的产生

本发明提供使用体外细胞培养技术产生内源性红细胞生成素的方法。在具体实施例中，采用本领域技术人员可以获得的各种技术,培养用本发明化合物刺激时能表达红细胞生成素的从动物组织(较佳为人组织)获得的细胞，以体外产生内源性蛋白质。考虑用于这些方法的细胞包括但不限于得自肝组织、造血组织、肾组

织和神经组织等的细胞。用于产生本发明内源性红细胞生成素的代表性细胞系是衍生自肝组织的 Hep3B。

可采用本领域通常采用的细胞培养技术，这些技术包括维持细胞生存力并促进内源性蛋白质表达的任何方法。通常将细胞培养在用于细胞生长、生存和产生蛋白质的优化生长培养基中。细胞可成悬浮状态，或者粘附于基底上。可以批量进料或连续流动(flow-through)方案提供培养基。以刺激产生红细胞生成素而不损伤细胞生存力的水平将本发明的化合物加到培养基中。细胞产生的红细胞生成素分泌到培养基中。然后收集培养基，采用本领域技术人员已知的方法纯化红细胞生成素。例如，可参见 Lai 等，1987，美国专利 4667016；和 Egri，1985，美国专利 4558006。

本领域技术人员阅读了本文公开内容将不难想到本发明这些和其它实施例，而且这些和其它实施例也是本发明特别考虑的。

实施例

可结合下述实施例进一步理解本发明。所述实施例仅仅用于阐述本发明。本发明的范围不受到这些具体实施例的限制，这些具体实施例仅仅用于阐述本发明的各个方面。功能上相当的任何方法都包括在本发明范围之内。除了文中所述的内容以外，本领域技术人员根据前述说明书和附图也易于理解本发明的各种的改进。这类改进均属于本发明权利要求书的保护范围之内。

实施例 1：提高体外内源性红细胞生成素水平

将衍生源自肝癌(Hep3B)(参见如美国典型培养物保藏中心，Manassas VA)的人细胞接种到 35mm 培养皿中，使其在 37℃、20%O_2、5%CO_2 条件下在极限必需培养基(MEM)、Earle 平衡盐溶液(Mediatech Inc.，Herndon VA)、2mM L-谷氨酰胺、0.1mM 非必需氨基酸、1mM 丙酮酸钠和 1%FBS 中生长。当细胞层铺满时，用 OPTI-MEM 培养基(Invitrogen Life Technologies，Carlsbad CA)替换原先的培养基，然后在 37℃、20%O_2、5%CO_2 的条件下培养细胞层约 24 小时。然后将本发明化合物(化合物 a 至 I 中的一种)或 1%DMSO(阴性对照)加到现在的培养基中，继续培养过夜。

在培养后，从细胞培养物中收集条件培养基，根据制造商的建议，用 QUANTIKINE 免疫试验(R&D Systems, Inc.，Minneapolis MN)分析红细胞生成素

的表达。如图 1 所示，当用本发明化合物处理时，肝衍生的细胞(Hep3B)显示红细胞生成素表达明显提高。因此，本发明化合物能提高动物中通常产生红细胞生成素的组织衍生的细胞体外表达红细胞生成素。

实施例 2：提高体内内源性红细胞生成素水平

实验 I

从 Simonsen Inc. (Gilroy CA)获得 12 只 Swiss Webster 雄性小鼠(30-32g)，每天口服填喂 4ml/kg 体积的 0.5％羧甲基纤维素(CMC，Sigma-Aldrich，St. Louis MO)(0mg/kg/天)或 2.5％的化合物 C(25mg/ml 以 0.5％CMC 配制)(200mg/kg/天)，每天两次，共 2.5 天(5 剂)。给予最后一剂后 4 小时，用异氟烷麻醉动物，从其腹部静脉采集两份血样品。一份血样品采集到 MICROTAINER 血清分离管中(Becton-Dickinson，Franklin Lakes NJ)，室温下培育 30 分钟，4℃8000rpm 离心 10 分钟。然后处理血清组分，按制造商的建议，用 QUANTIKINE 免疫试验(R&D Systems)分析红细胞生成素(EPO)的表达。将另一份血样品采集到 MICROTAINER EDTA-2K 管(Becton-Dickinson)中，进行血细胞比容分析。通过将 EDTA-血样品吸入 75mm×1.1-1.2mm I.D.毛细管(Chase Scientific Glass, Inc., Rockwood TN)约 3/4 长度，测定血细胞比容。管的一端用 CRITOSEAL 密封剂(Sherwood Medical Company)密封，然后在 J-503M MICROHEMATOCRIT 离心机(Jorgensen Laboratories Inc.，Loveland CO)上以 12000rpm 离心 5 分钟。对照读数卡读取血细胞比容。然后处死小鼠，分离出约 150mg 的肝脏和各肾脏，将其-20℃保存在 RNALATER 溶液(Ambion)中。

采用下述方法分离 RNA。将组织切片切成小块，加入 1.75 毫升的 RLT 裂解缓冲液(RNEASY 试剂盒，Qiagen Inc., Valencia CA)，用转子-定子 POLYTRON 匀浆器(Kinematica, Inc., Cincinnati OH)匀浆所述小块约 20 秒。微离心 350 微升的匀浆物 3 分钟，使不溶的物质沉积。将上清液转移到新试管中，按制造商的建议，用 RNEASY 试剂盒(Qiagen)分离 RNA。用 80 微升的水洗提 RNA，用 RIBOGREEN 试剂(Molecular Probes, Eugene OR)定量测定。然后按制造商的建议，用 DNA-FREE 试剂盒(Ambion Inc., Austin TX)除去该 RNA 中的基因组 DNA。测定 260 纳米和 280 纳米的吸光度，以测定 RNA 纯度和浓度。

按制造商的建议，用 1μM 随机六聚体引物、1μg 总 RNA 和 OMNISCRIPT 逆转录酶(Qiagen)进行 cDNA 合成。用水将所得 cDNA 稀释 5 倍，得到 100 微升的最终体积。按制造商建议，用 FASTSTART DNA MASTER SYBR GREEN I 试剂盒(Roche)和基因特异性引物，用 LIGHTCYCLER 系统(Roche)以定量 PCR 分析红细胞生成素基因表达的相对水平。将样品加热到 94℃6 分钟，然后以 95℃15 秒、60℃5 秒、72℃10 秒循环，共 42 轮。红细胞生成素特异性引物如下：

mEPO-R3	TTCTGGCCCCGAGGATGTCA	(SEQ ID NO:1)
mEPO-F3	ACGAACTTGCTCCCCGTCACTG	(SEQ ID NO:2)

。

测定 18S 核糖体 RNA 基因表达的相对水平作为对照。按制造商建议，用 QUANTITECT SYBR GREEN PCR 试剂盒(Qiagen)和基因特异性引物，用 LIGHTCYCLER 系统(Roche)进行定量 PCR。将样品加热到 95℃15 分钟，然后以 94℃15 秒、60℃20 秒、72℃10 秒进行循环，共 42 轮。核糖体 RNA 特异性引物如下：

18S-rat-2B	TAGGCACGGCGACTACCATCGA	(SEQ ID NO:3)
18S-rat-2A	CGGCGGCTTTGGTGACTCTAGAT	(SEQ ID NO:4)

。

各 PCR 循环包括标准曲线和水空白对照。此外，在各 PCR 循环完成后还进行熔点曲线测试，以评估扩增特异性。相对于该样品的 18S 核糖体 RNA 的表达水平归一化红细胞生成素基因的表达。

如图 2A 所示，相对于未治疗对照，治疗动物的肾和肝脏中都诱导了红细胞生成素基因的表达。在 EPO 转录水平方面，与未治疗的肝和肾脏相比，经治疗的肝脏显示超过背景约 32 倍的增加，而肾脏显示约 580 倍的增加。如图 2B 所示，与未治疗对照相比，治疗组中相同动物的红细胞生成素血浆水平明显增加。此外，如图 2C 所示，与未治疗对照相比，本发明化合物诱导的内源性红细胞生成素的增加明显增加了治疗动物中的血细胞比容。

实施例 II

从 Simonson, Inc.获得雄性 Swiss Webster 小鼠(29-34g)，每天口服填喂一次 4ml/kg 体积的 0.5%羧甲基纤维素(CMC，Sigma-Aldrich，St. Louis MO) (0mg/kg/天)，共 2.5 天(5 剂)，或填喂化合物 E 或 K 中的一种(200mg/kg/天)3 天。如实施例 I 采集血样 kkk 和处理组织(同上)。或者，用 0.5%CMC 或化合物 F 或 J 中的一种(60mg/kg/天) 治疗小鼠 5 天。最后一次治疗后 48 小时，如上所述采集血样品，处死小鼠，获得组织。

如图 3A 所示，用本发明化合物治疗 2 天后，血浆红细胞生成素水平与对照相比有增加。此外，如图 3B 所示，与未治疗对照相比，用化合物治疗的动物在 2 天和 7 天后测定到较高的血细胞比容。

实施例 3：体内剂量反应

从 Charles River Laboratories, Inc.获得 12 只 Sprague Dawley 雄性大鼠(大约 260g)，如下口服喂养：(1) 从第 1 天到第 7 天，每天给 4 只大鼠 0.5%羧甲基纤维素(CMC，Sigma-Aldrich, St. Louis MO)(0mg/kg)，第 8-14 天不作治疗，第 15-19 天每天接受 0.5%CMC(0mg/kg)；(2) 在第 0 天和第 3 天给 4 只大鼠总共 7ml/kg/天的 5.0%化合物 C(50mg/ml，以 0.5%CMC 配制)(350mg/kg)，第 8-14 天不作治疗，然后在第 15-19 天，每天接受 3%化合物 C(30mg/ml，以 0.5%CMC 配制)(60mg/kg/天)；和(3) 从第 1 天到第 7 天，每天给 4 只大鼠总体积 4ml/kg/天的 2.5%化合物 C(25mg/ml，以 0.5%CMC 配制)(100mg/kg)，第 8-14 天不作治疗，然后在第 15-19 天每天接受 3%的化合物 C(60mg/kg/天)。这样，第 2 组和第 3 组动物在前 7 天中总共接受了 700mg/千克体重的化合物，在第 8-14 天不作治疗，然后再接受 5 天 60mg/kg/天的治疗。监测动物的体重变化和中毒迹象。如下在第 1、3、7、10、17 和 21 采集血样品(2×0.5ml)。用异氟烷麻醉动物，从各动物的尾静脉采集血样品，放到两个 MICROTAINER EDTA-2K 管(Becton-Dickinson)的各管中。如上所述处理血样品，以测定红细胞生成素水平、血红素和血细胞比容。

从图 4A 可以看出，在治疗 1 天中，所述化合物显著提高了血清红细胞生成素的水平。如图 4B 所示，血清 EPO 的增加导致不成熟血细胞(网织红细胞)的继起性增加，证明该化合物刺激了新的红细胞形成。此外，如图 4C 和 4D 所示，所述化合物分别提高了血液血红素水平和血细胞比容。此外，用较低剂量的所述化合物，能使血红素和血细胞比容的增加维持长时间。这些结果证明本发明的化合物能产生红细胞的受控增加，使动物在长时间内对该化合物维持反应。

实施例 4：对顺氯氨铂引起的贫血的治疗

采用 Vaziri 等〔1994，Am J Physiol，266(3 Pt 2)：F360-6〕所述的方法测定本发明化合物治疗局部缺血后急性肾衰竭相关贫血的能力。从 Charles River Laboratories 获得 15 只 Sprague Dawley 雄性大鼠(280-300g)。在第 0 天，以 8ml/kg(对照，n=3)给大鼠腹膜内注射单剂盐水，或者以 7mg/kg(7ml/kg，n＝6)或 10mg/kg(10ml/kg，n=6)注射顺氯氨铂(CP，Bedford Laboratories，Bedford OH)。如下在第 5、9 和 16 天采集血样品(0.2ml)。用异氟烷麻醉动物，从其尾静脉采集 0.2ml 血样品，放到 MICROTAINER EDTA-2K 管(Becton-Dickinson)中。如上所述处理血样品测定血细胞比容，以确定各动物中产生的贫血程度。

从第 19 天开始，每天都使顺氯氨铂(cp)处理组动物中的一半动物(n=3×2)和对照组的所有动物口服 2ml/kg 体积的 0.5CMC(Sigma-Aldrich)，每天一次，持续 5 天。顺氯氨铂处理组的其余一半动物每天口服 2ml/kg 体积的 2.5％化合物 C(25mg/ml，以 0.5％CMC 配制)，每天一次，持续 5 天。在治疗前刻和初次治疗后 4 天，如上所述采集血样品(0.5 毫升)。如上所述分析血样品的 CBC 和网织红细胞数量。初次口服治疗后第 9 天，如上所述采集血样品(0.1 毫升)并将其加工用于血细胞比容测定。

图 5A 显示，在采用本发明方法治疗前，与第 19 天的对照相比，接受 7 和 10mg/kg CP 处理大鼠的血细胞比容分别减少了 14％和 22％。但是，在初次用本发明化合物治疗后 4 天，CP-处理动物的血细胞比容增加，而且明显高于处理后第 9 天的不治疗对照动物。如图 5A 所示，在第 9 天，最初接受 7mg/kg CP 处理、接着用本发明化合物治疗的动物的血细胞比容水平等于或高于正常对照水平。图 5B 显示，血细胞比容的增加是由于形成新的血细胞的缘故，因为在用所示化合物治疗的动物中，循环性网织红细胞的数量也增加。

实施例 5：溶血性贫血的治疗

溶血性贫血可能由多种因素引起，包括但不限于接触毒素、血液透析等等。采用 Rencricca 等〔1970，Blood，36：64-71〕所述方法测试了本发明化合物治疗溶血性贫血的能力。简言之，给小鼠口服 2ml/kg 体积的 0.5％CMC(Sigma-Aldrich)(A 组)或本发明化合物，每天二次，共 5 天。从第 3 天开始，每天用盐水或 60mg/kg 苯肼(PHZ)连续皮下注射处理小鼠 3 天。在第 8 天，心脏穿刺抽取各实验动物的血液，并测定血细胞比容。第一次给予 PHZ 后 4 天，仅接受 PHZ 的小鼠应显示出最低的血细胞比容水平(大约为对照的 50％)。约 8 天内，血细胞比容水平恢复至正常。用本发明化合物治疗应使小鼠的血细胞比容水平与载体治疗的对照相比减少得最少。

或者，采用 Criswell 等(2000，J Appl Toxicol，20：25-34)所述方法处理大鼠。该方法基本上与上述处理小鼠的方法相同，除了腹膜内给大鼠注射 50mg/kg PHZ 代替皮下给药外。PHZ 处理动物在第 3 天如预期那样红细胞计数最大减少(68％)。

实施例 6：肾衰竭相关贫血的治疗

采用 Tan 等(1996，Kidney Int，50：1958-64)所述方法测试了本发明化合物治疗局部缺血后急性肾衰竭相关贫血的能力。简言之，将大鼠左肾动脉单边夹住一个小时。然后除去动脉夹，缝合切开的伤口。给大鼠口服 2ml/kg 体积的 0.5% CMC(Sigma-Aldrich)(A 组)或 5%本发明化合物，每天两次。在放开动脉夹后 2 小时、12 小时和 1 周后，获得血液，用于测定血细胞比容。用载体治疗的大鼠，其血细胞比容值如预料的那样分别为相应时间点假对照大鼠的约 85%、91%和 93%。

此外，采用 Nemoto 等(2001，Kidney Int，59：246-51)所述方法测试了本发明化合物治疗局部缺血性急性肾衰竭相关贫血的能力。简言之，给大鼠口服 2ml/kg 体积的 0.5%CMC(Sigma-Aldrich)(A 组)或 5%的本发明化合物，每天 2 次。用血管夹夹住大鼠的右肾，同时对左肾进行肾切除术。各闭塞结束后，松开夹子 30 分钟(适度)或 45 分钟(严重)，观察再灌输。

实施例 7：红细胞生成素的体内表达

从 Simonson, Inc.获得 25 只雄性 Swiss Webster 小鼠(35-38g)，给小鼠口服 4ml/kg 体积的 0.5%羧甲基纤维素(CMC，Sigma-Aldrich，St. Louis MO)(0mg/kg/天)，每天一次，共 2.5 天(5 剂)；或每天给予 30 或 100mg/kg/天的化合物 C，共 4 天；或者如上述诱导贫血那样，每天采集动物的血样品。如实施例 2 的实验 I 那样采集血样品，获得肾、肝、脑、肺、心脏和骨骼肌，并对其进行加工。

采用以下方案分离 RNA。将各器官的 50 毫克部分切成块，加入 875 微升的 RLT 缓冲液(RNEASY 试剂盒，Qiagen Inc.，Valencia CA)。用转子-定子 POLYTRON 匀浆器(Kinematica, Inc., Cincinnati OH)匀浆所述小块约 20 秒。微离心匀浆物 3 分钟，使不溶的物质沉积。将上清液转移到新试管中，按制造商的建议，用 RNEASY 试剂盒(Qiagen)分离 RNA。用 80 微升的水洗提 RNA，用 RIBOGREEN 试剂(Molecular Probes, Eugene OR)作定量测定。然后按制造商的建议，用 DNA-FREE 试剂盒(Ambion Inc., Austin TX)除去该 RNA 中的基因组 DNA。测定 260 纳米和 280 纳米的吸光度，以确定 RNA 纯度和浓度。

在-20℃，将 RNA 沉淀在 0.3M 醋酸钠 9pH2.5)、50ng/ml 糖原和 2.5 体积的乙醇中 1 小时。离心样品，用冷的 80%乙醇洗涤沉积物，干燥，重悬浮在水中。按制造商建议，用 T7-(dT)24 第一链引物(Affymetrix, Inc., Santa Clara CA)和 SUPERSCRIPT CHOICE 系统(Invitrogen)合成双链 cDNA。用 PHASE LOCK GEL

insert(Brinkman, Inc.，Wetbury NY)，用等体积的 25：24：1 的苯酚：氯仿：异戊醇抽提获得最终的 cDNA。收集液相，用 0.5 体积的 7.5M 乙酸铵和 2.5 体积的乙醇沉淀 cDNA。或者，按制造商建议，用 GENECHIP 样品清除模块(Affymetrix)纯化 cDNA。

按制造商的建议，用 BIOARRAY HighYield RNA 转录标记试剂盒(Enzo Diagnostics, Inc.，Farmingdale NY)在体外翻译(IVT)反应中合成该 cDNA 的生物素标记 cRNA。按制造商的建议，用 GENECHIP 样品清除模块(Affymetrix)纯化和片段化最终的标记产物。

如下制备杂交混合物：将 5 微克探针加到 100 微升 1x 杂交缓冲液(100mM MES，1M [Na^+]，20mM EDTA，0.01% Tween 20)、100 微克/毫升鲱鱼精子 DNA、500 微克/毫升乙酰化 BSA、0.03nM cotol oligo B2(Affymetrix)和 1x GENECHIP 真核生物杂交对照(Affymetrix)中。接着 99℃培育该混合物 5 分钟，45℃培育 5 分钟，然后离心 5 分钟。将小鼠基因组 U74AV2 阵列(MG-U74AV2，Affymetrix)恢复至室温，然后 45℃摇动与 1x 杂交缓冲液预杂交 10 分钟。然后用 10 微升的杂交混合物替换该缓冲液，45℃以 60rpm 保持均衡使该阵列杂交 16 小时，。杂交后，用 6x SSPE、0.1%Tween 20 洗涤阵列一次，然后按制造商的 micro_1v1 方案，用 GENECHIP Fluidics Station 400 仪器(Affymetrix)，用偶联了 R-藻红素的链霉亲和素(Molecular Probes，Eugene OR)、山羊抗-链霉亲和素抗体(Vector Laboratories，Burlingame CA)洗涤和染色。用 GENEARRAY 扫描仪(Affymetrix)和 Microarray Suite 软件(Affymetrix)分析阵列。

小鼠基因组 U74AV2 阵列(Affumetrix)代表了已作过功能性特征分析的小鼠 UniGene 数据库构建物 74(National Center for Biotechnology Information, Bethesda MD)中的所有序列(～6000)，和大约 6000 个未评注的已表达序列标记(EST)群。

从图 6A、6B 和 6C 可以看出，可分别在脑、肾和肝组织中看到红细胞生成素转录物的剂量取决性增加。表达的水平等于或超过相同组织中出血所致贫血中观察到的转录水平。因此，用于本发明方法的化合物可渗透到动物正常产生红细胞生成素的器官中，并诱导其产生内源性红细胞生成素。

实施例 8：两侧的肾切除后红细胞生成素的产生

采用 Jacobson 等(1957，Nature，179：633-634)所述方法测试了缺失功能性肾脏情况下本发明化合物诱导产生内源性红细胞生成素的能力。简言之，用异戊

烷麻醉大鼠，在无菌条件下进行腹部中线切口。摘除肾囊，结扎肾蒂，除去两个肾脏。然后缝合腹部，使动物恢复。

在手术后第 2 小时和第 20 小时，给动物口服 0.5%羧甲基纤维素(CMC，Sigma-Aldrich，St. Louis MO)或 100 或 150mg/kg 的化合物 C。如下在 24 小时采集血样品(0.6ml)。用异戊烷麻醉动物，从其尾静脉采集血样，放到 MICROTAINER EDTA-2K 管(Becton-Dickinson)中。如实施例 2 所述处理血样品，测定红细胞生成素水平和血细胞比容。由 IDEXX veterinary service(W. Sacramento, CA)进行全血液计数(Complete Blood Count，CBC)分析，包括血液血红素水平、网织红细胞数量以及血细胞比容。

如图 7 所示，所述化合物显著提高了假手术动物的血清红细胞生成素水平。此外，与未处理 BN 和假对照相比，用所述化合物治疗的摘除了双肾的动物其血清红细胞生成素水平明显增加。

实施例 9：筛选试验

可采用实施例 1 所述的方法鉴定能增加内源性红细胞生成素水平的化合物。可用以下试验鉴定和特征分析能抑制 HIF-特异性脯氨酰羟化酶活性和使 HIFα稳定、提高内源性红细胞生成素的其它化合物。将 50 微升等份的含有 4mg/ml BSA、0.1M Tris HCl(pH 7.2)、2mM 抗坏血酸盐、80μM 硫酸亚铁、0.2mM 2-酮戊二酸、600 单位/毫升过氧化氢酶、有或无 100μM HIFα肽的反应混合物与 50 微升 Hela 细胞抽提物或纯化的 HIF 脯氨酰羟化酶混合，37℃培育 1.5 小时。培育后，加入 50 微升的链霉亲和素珠，4℃搅拌培育该混合物 1 小时。将该混合物转移到管中，低速离心沉淀珠。用 0.5-1ml 20mMg 的 Tris HCl(pH7.2)洗涤珠 3 次。然后用 5 微升含 2mM 生物素的 20mM Tris HCl(pH7.2)溶液从珠上洗提肽 1 小时。离心试管沉降树脂，除去 40-50 微升的上清液，加入等体积的乙腈。或者，使肽结合于甲氧基香豆素(一种 pH 不敏感荧光团)。该荧光团对采用粗制细胞裂解液的试验可提高其检测的敏感性和特异性。筛选试验中所用的示范性 HIF 肽可含有〔甲氧基香豆素〕-DLDLEALAPYIPADDDFQL-酰胺(SEQ ID NO:5)。然后用反相 HPLC，在 C18 柱上分离未羟基化和羟基化的肽，用 214nmUV 检测。

除了本文所述和所示的以外，本领域技术人员根据前述内容将会明白本发明的各种变化。这些变化都属于附带的权利要求书的范围之内。

本文在此将所引用的所有参考文献的内容纳入作为参考。

<110> Klaus, Stephen J.
Lin, Al Y.
Neff, Thomas B.
Wang, Qingjian
Arend, Michael P.
Flippin, Lee A.
Melekhov, Alexey G.

<120> 提高内源性红细胞生成素(EPO)的方法

<130> FP0601 US

<140> PCT/US02/39163
<141> 2002-12-06

<150> US 60/349,659
<151> 2002-01-16

<150> US 60/386,488
<151> 2002-06-05

<150> US 60/337,082
<151> 2001-12-06

<150> US 60/359,683
<151> 2002-02-25

<160> 5

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1
<211> 22
<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 1
acgaacttgc tccccgtcac tg 22

<210> 2
<211> 20

<212> DNA
<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 2
ttctggcccc gaggatgtca 20

<210> 3
<211> 23
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 3
cggcggcttt ggtgactcta gat 23

<210> 4
<211> 22
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus

<400> 4
taggcacggc gactaccatc ga 22

<210> 5
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 5

Asp Leu Asp Leu Glu Ala Leu Ala Pro Tyr Ile Pro Ala Asp Asp Asp
1 5 10 15

Phe Gln Leu

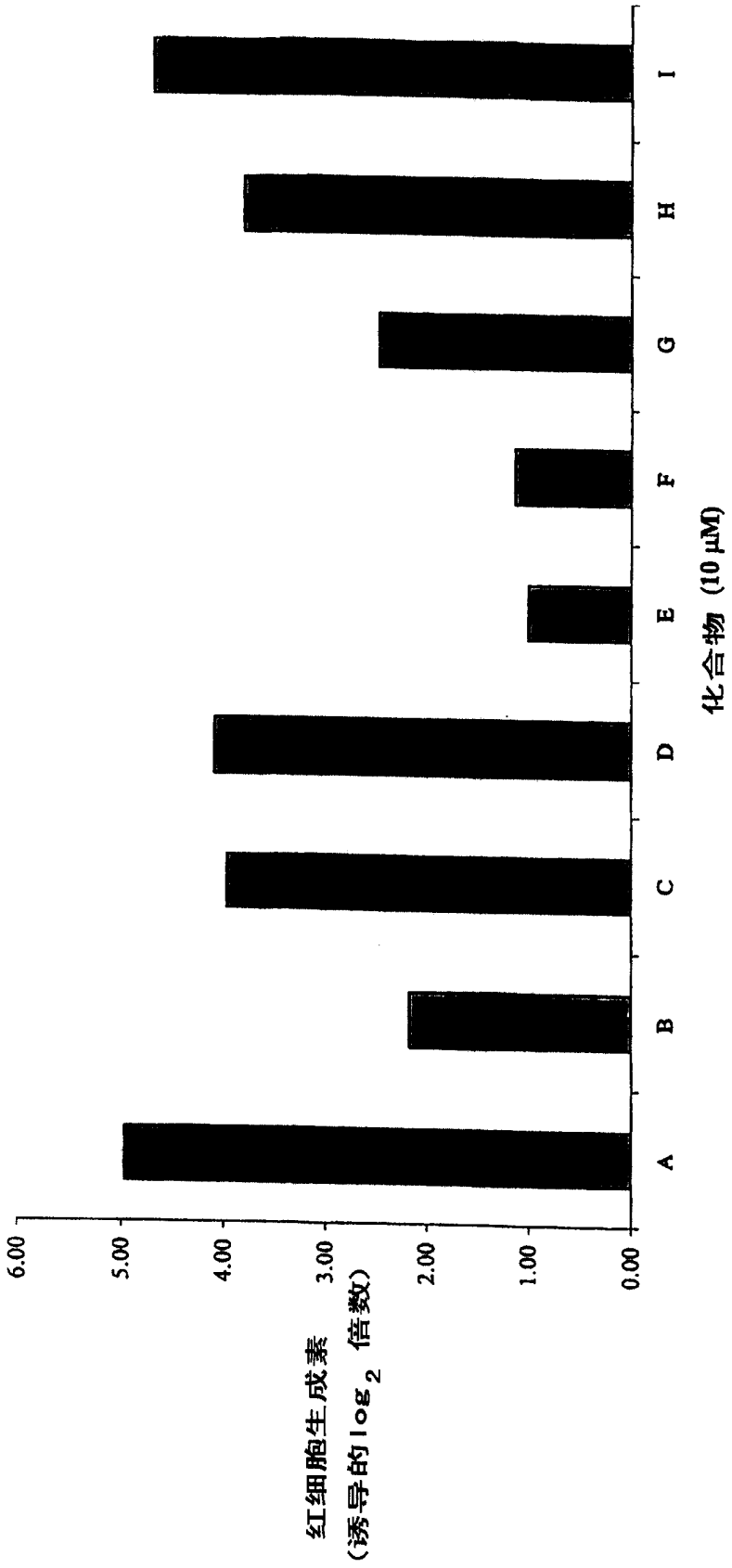

红细胞生成素
(诱导的log2 倍数)
6.00
5.00
4.00
3.00
2.00
1.00
0.00
A
B
C
D
E
F
G
H
I
化合物 (10 μM)

图 1

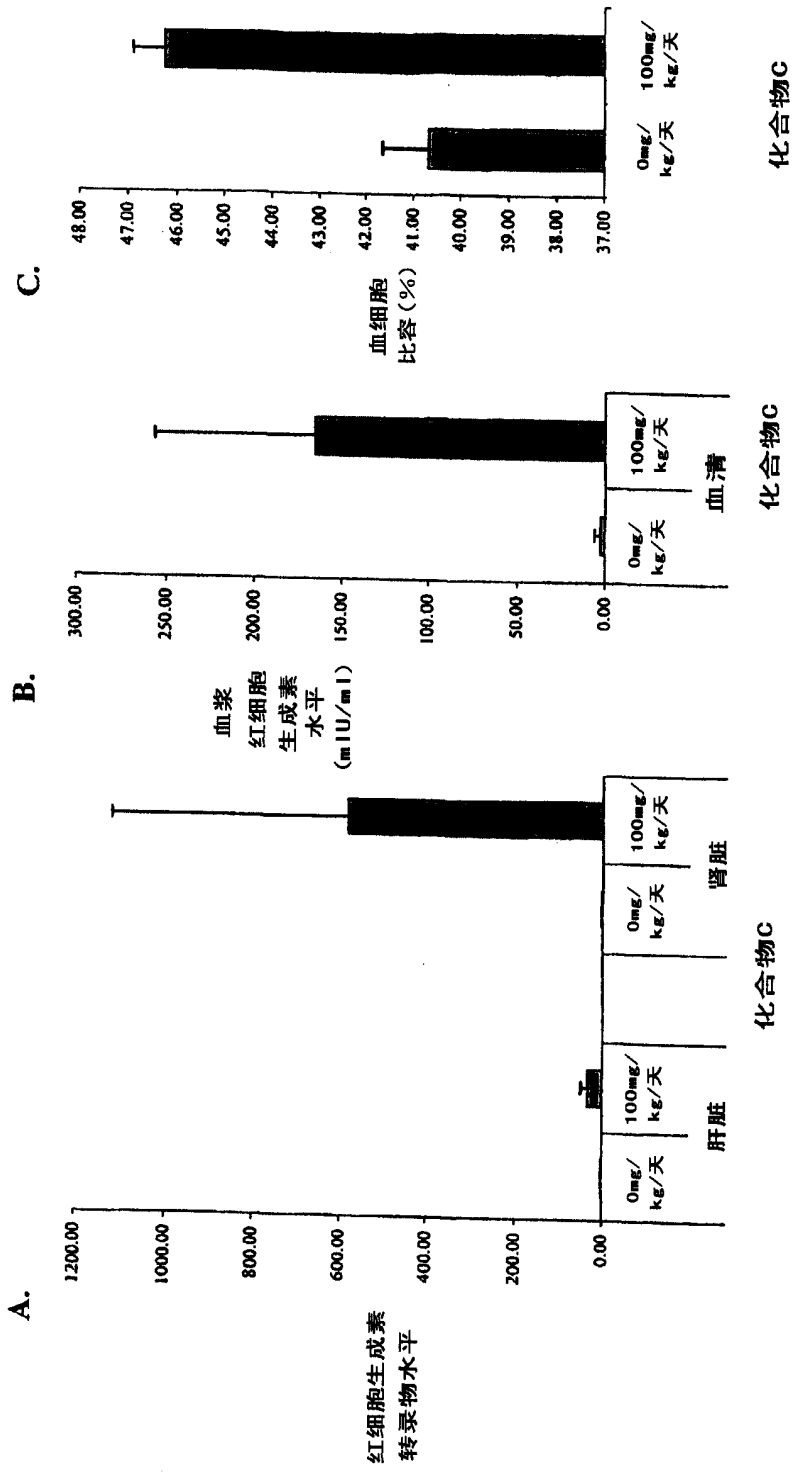

A.
红细胞生成素转录物水平
1200.00
1000.00
800.00
600.00
400.00
200.00
0.00
0mg/kg/天
100mg/kg/天
肝脏
0mg/kg/天
100mg/kg/天
肾脏
化合物C
B.
血浆红细胞生成素水平（mIU/ml）
300.00
250.00
200.00
150.00
100.00
50.00
0.00
0mg/kg/天
100mg/kg/天
血清
化合物C
C.
血细胞比容（%）
48.00
47.00
46.00
45.00
44.00
43.00
42.00
41.00
40.00
39.00
38.00
37.00
0mg/kg/天
100mg/kg/天
化合物C

图 2

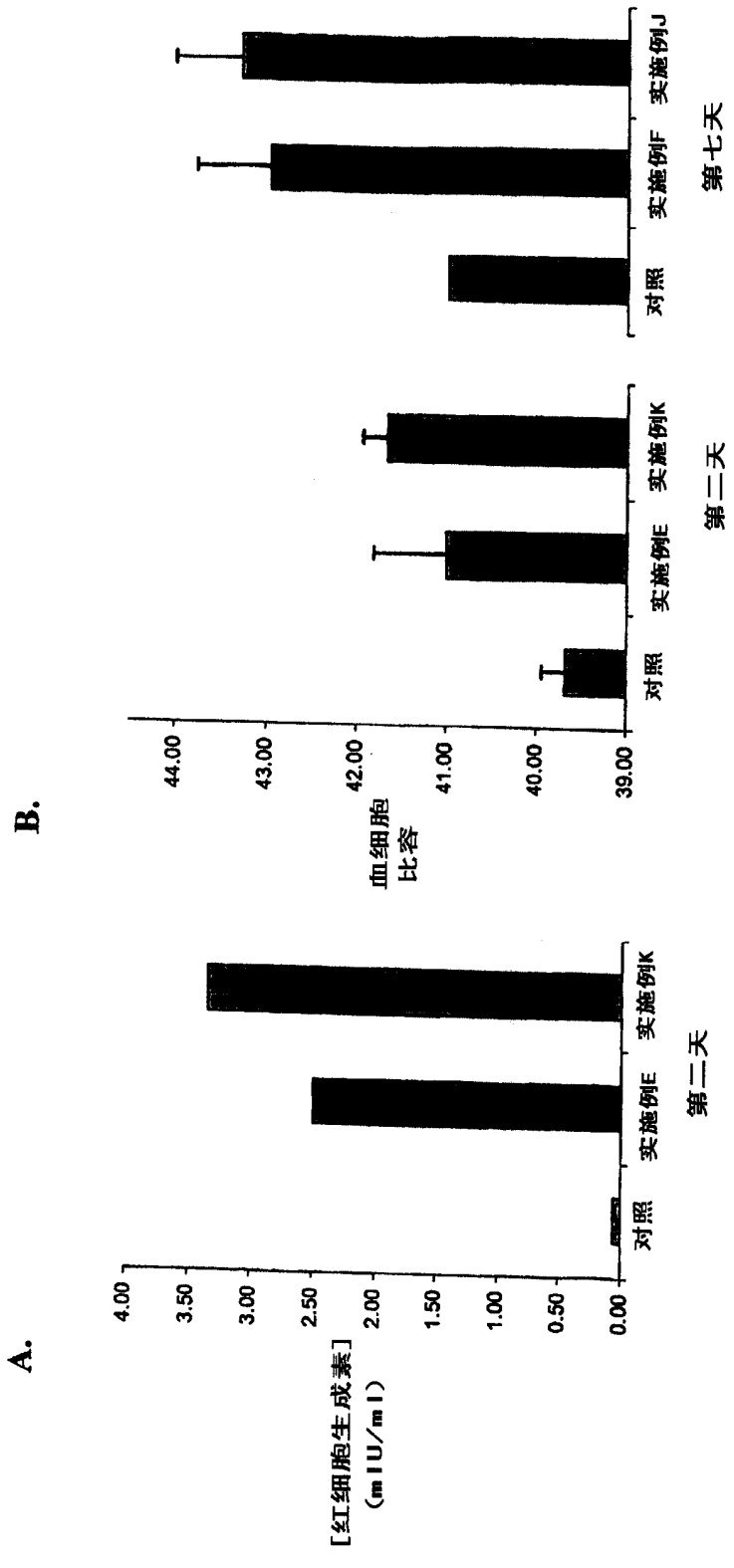

A.
[红细胞生成素]
(mIU/ml)
4.00
3.50
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
对照
实施例E
实施例K
第二天
B.
血细胞
比容
44.00
43.00
42.00
41.00
40.00
39.00
对照
实施例E
实施例K
第二天
对照
实施例F
实施例J
第七天

图 3

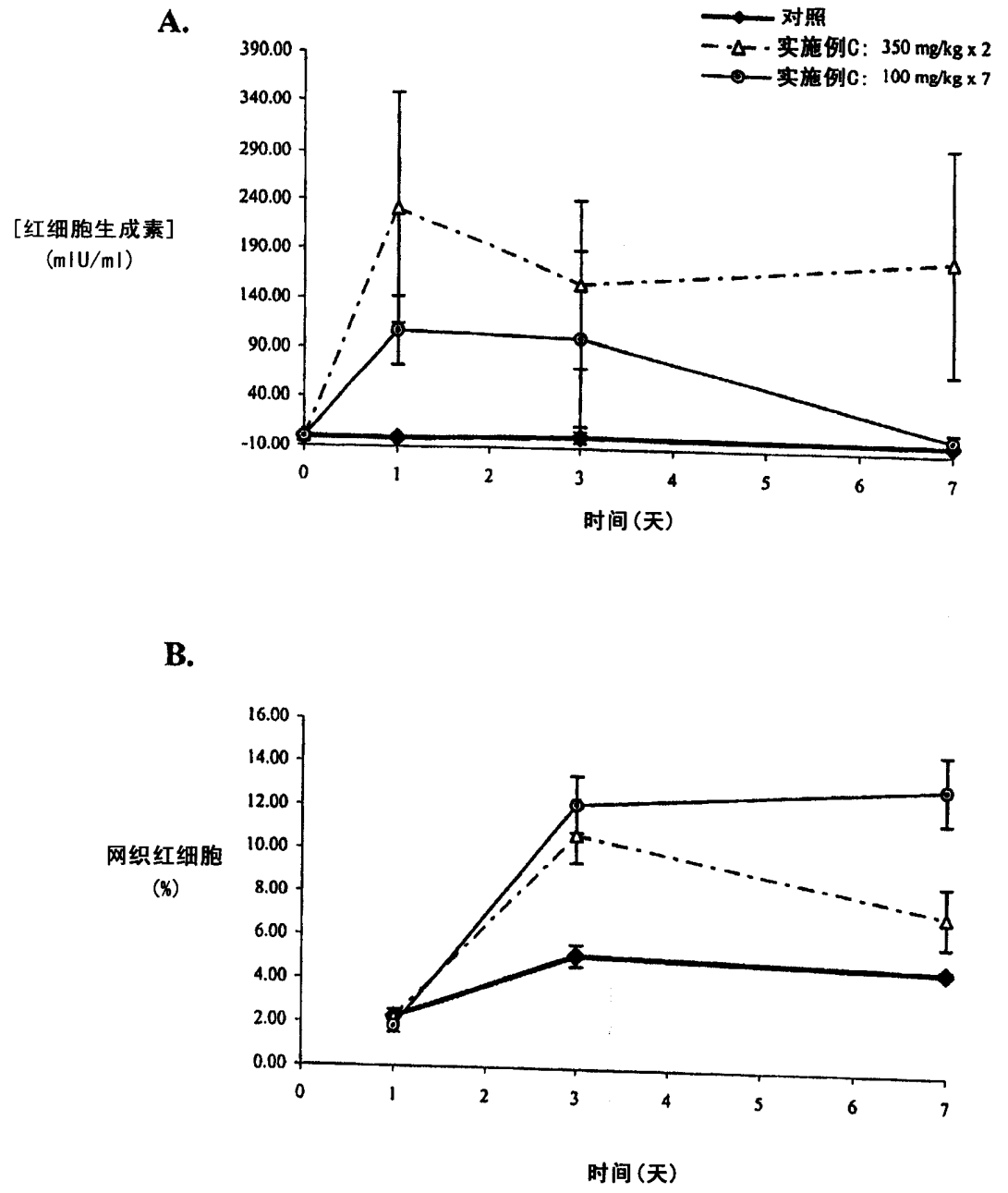
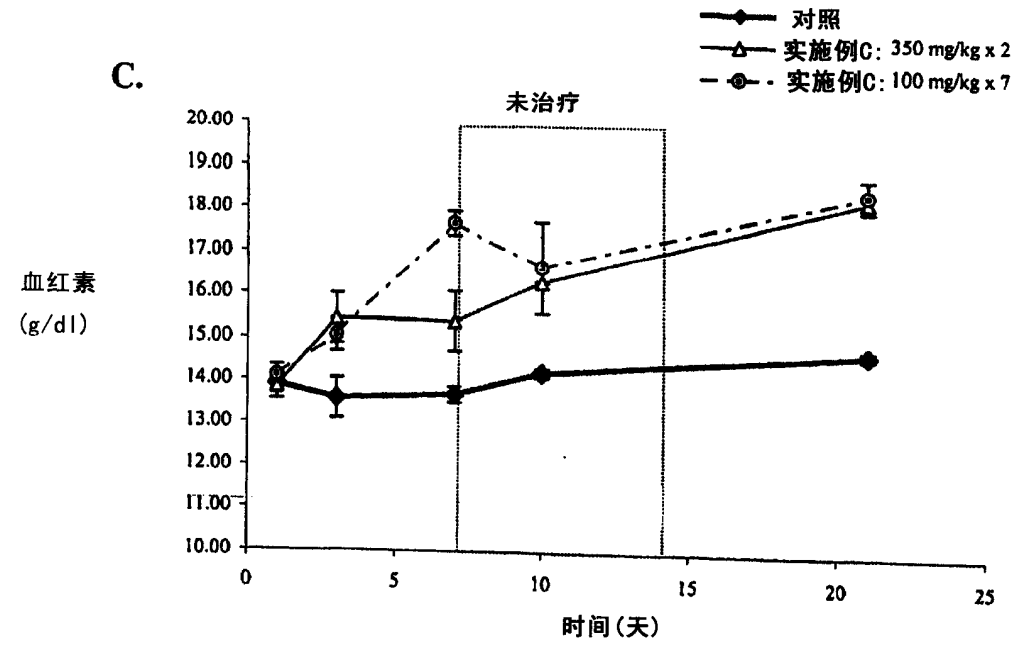

A.
对照
实施例C: 350 mg/kg x 2
实施例C: 100 mg/kg x 7
[红细胞生成素]
(mIU/ml)
390.00
340.00
290.00
240.00
190.00
140.00
90.00
40.00
-10.00
0
1
2
3
4
5
6
7
时间(天)
B.
网织红细胞
(%)
16.00
14.00
12.00
10.00
8.00
6.00
4.00
2.00
0.00
0
1
2
3
4
5
6
7
时间(天)

图 4


C.
对照
实施例C: 350 mg/kg x 2
实施例C: 100 mg/kg x 7
未治疗
血红素
(g/dl)
20.00
19.00
18.00
17.00
16.00
15.00
14.00
13.00
12.00
11.00
10.00
0
5
10
15
20
25
时间(天)

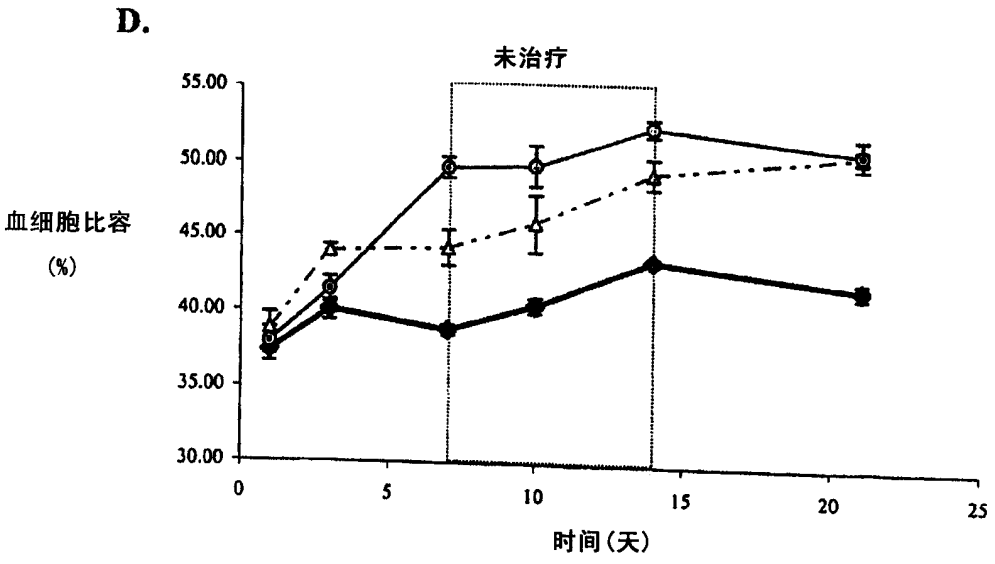

D.
未治疗
血细胞比容
(%)
55.00
50.00
45.00
40.00
35.00
30.00
0
5
10
15
20
25
时间(天)

图 4(续)

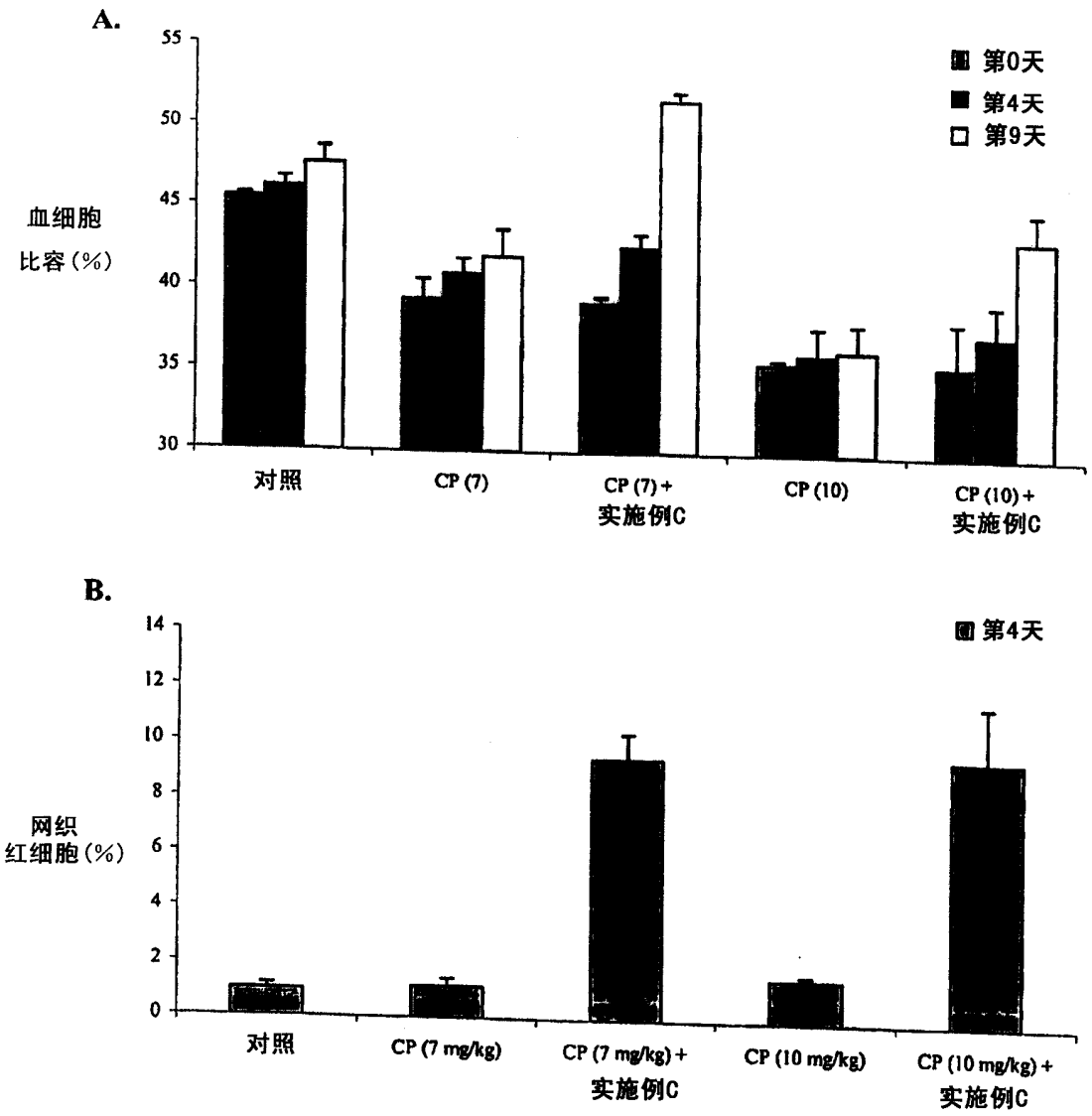

A.
55
50
45
40
35
30
血细胞
比容(%)
第0天
第4天
第9天
对照
CP (7)
CP (7)+
实施例C
CP (10)
CP (10)+
实施例C
B.
14
12
10
8
6
4
2
0
网织
红细胞(%)
第4天
对照
CP (7 mg/kg)
CP (7 mg/kg)+
实施例C
CP (10 mg/kg)
CP (10 mg/kg)+
实施例C

图 5

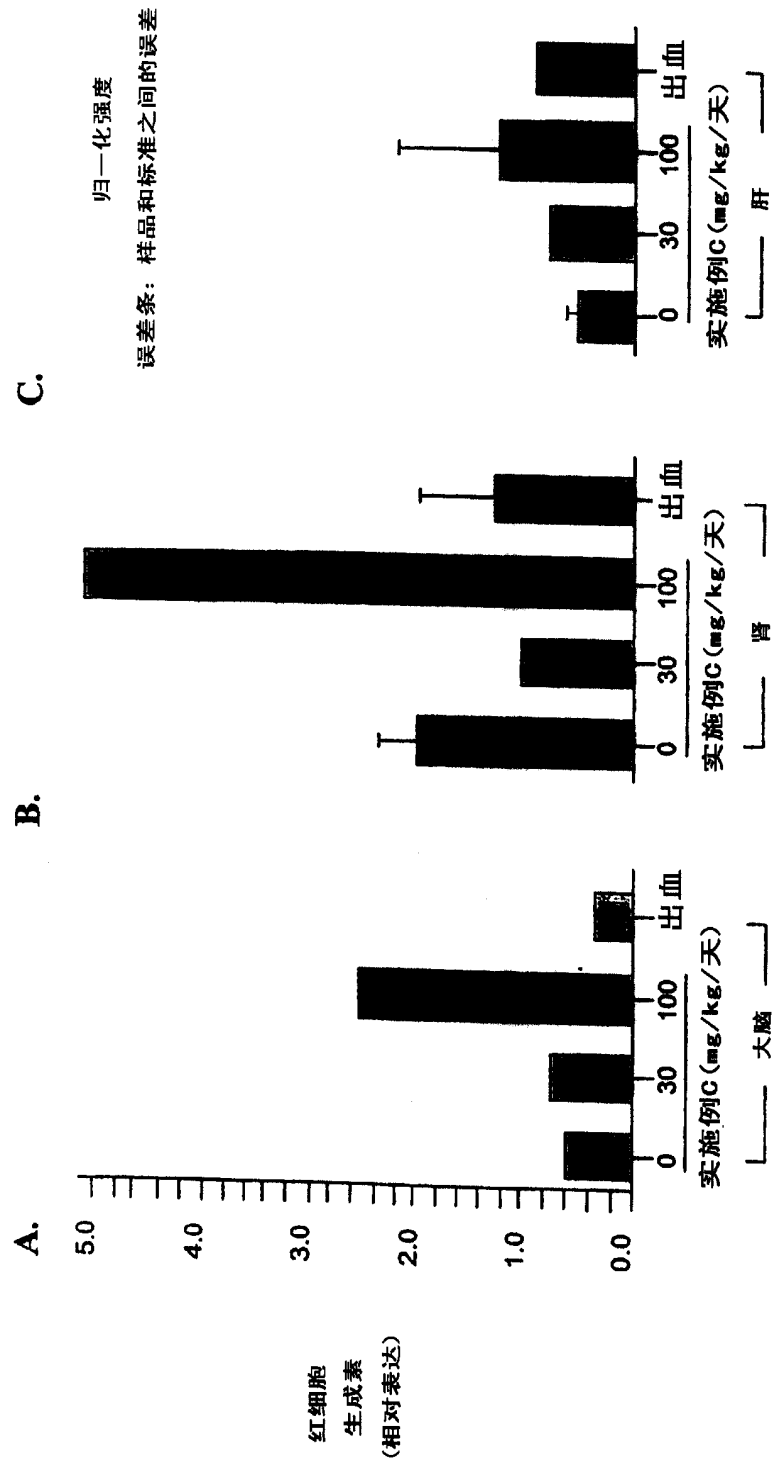

A.
B.
C.
归一化强度
误差条：样品和标准之间的误差
红细胞
生成素
(相对表达)
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
0
30
100
出血
实施例C(mg/kg/天)
大脑
肾
肝

图 6

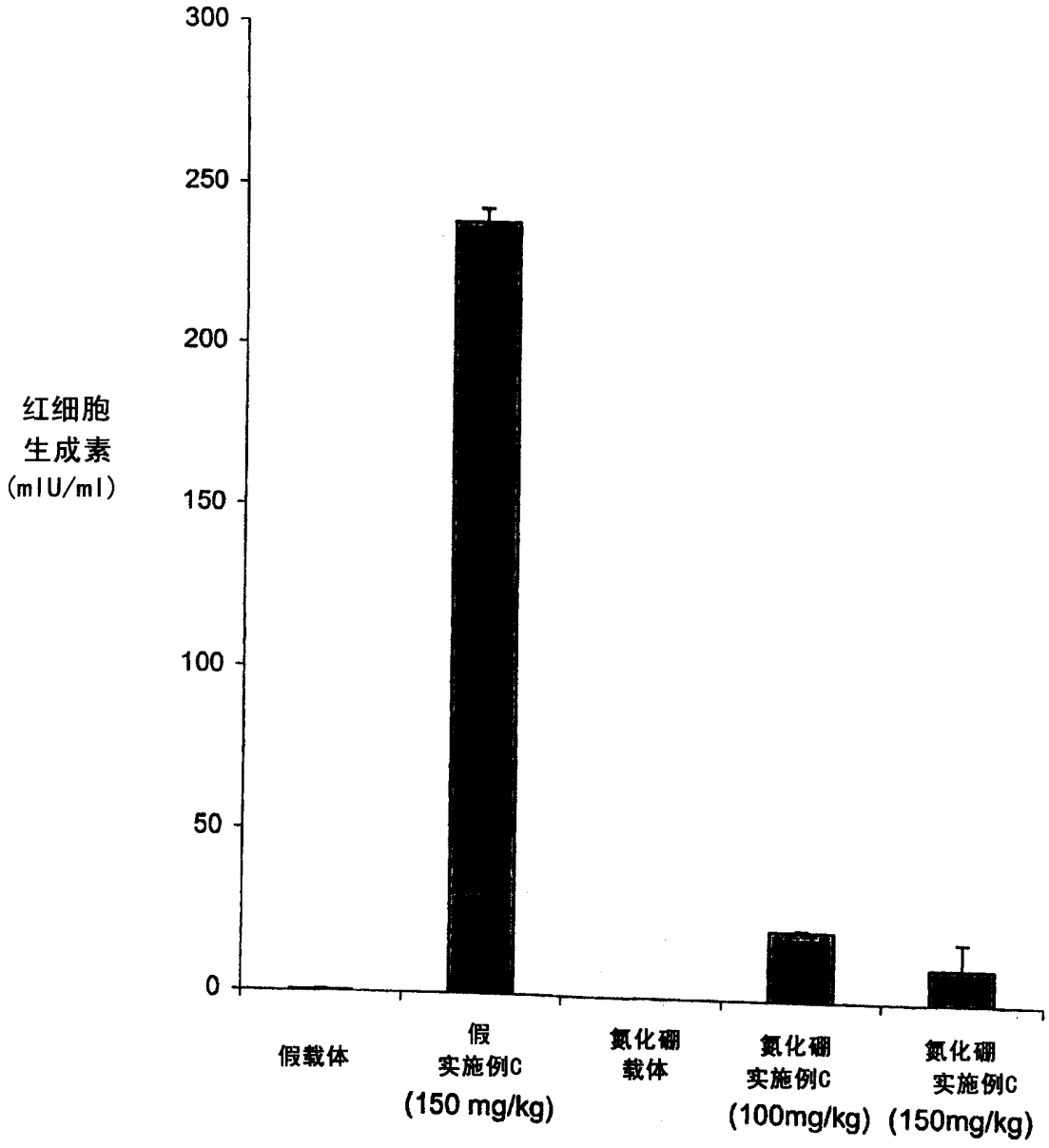

红细胞
生成素
(mIU/ml)
300
250
200
150
100
50
0
假载体
假
实施例C
(150 mg/kg)
氮化硼
载体
氮化硼
实施例C
(100mg/kg)
氮化硼
实施例C
(150mg/kg)

图 7