(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 102202669 A
(43)申请公布日 2011.09.28

(21)申请号 200980143929.7

(22)申请日 2009.10.19

(30)优先权数据
61/109,081 2008.10.28 US
61/225,827 2009.07.15 US

(85)PCT申请进入国家阶段日
2011.04.27

(86)PCT申请的申请数据
PCT/US2009/005714 2009.10.19

(87)PCT申请的公布数据
WO2010/062308 EN 2010.06.03

(71)申请人 利兰·斯坦福青年大学托管委员会
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 D·默克利-罗森 C-H·陈 W·杨

(74)专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100
代理人 崔佳佳

(51)Int.Cl.
A61K 31/67(2006.01)

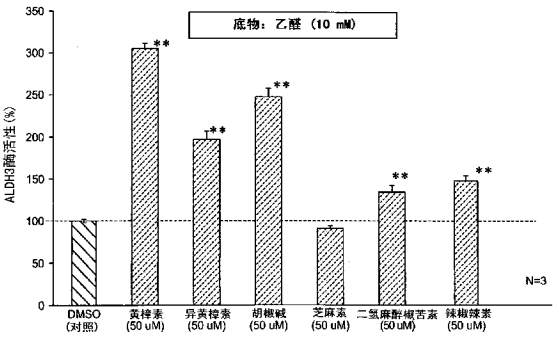
权利要求书 17 页 说明书 80 页
序列表 8 页 附图 24 页

(54)发明名称

醛脱氢酶调节剂及其使用方法

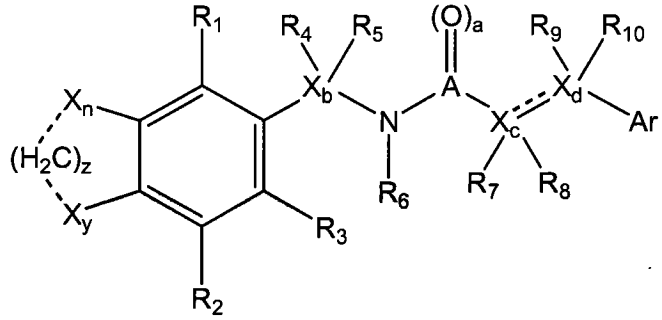
(57)摘要

本发明提供用作醛脱氢酶(ALDH)酶活性调节剂的化合物,以及包含所述化合物的组合物和制剂。本发明提供治疗方法,包括给予本发明的化合物或本发明的药物组合物。



CN 102202669 A

1. 以下式 I 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：



式 I

式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素（如 F、Br、Cl 或 I）；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

…（虚线）是任选的键；z 是整数 0、1 或 2；

…是任选的双键；

R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、R_7、R_8、R_9 和 R_{10} 各自独立选自：H；C；N；O；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；取代或未取代的苯基；脂族基团、烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基团；取代或未取代的芳基；和取代或未取代的杂芳基；

A 是 C 或 S；当 A = C 时，a = 1；当 A = S 时，a = 2；

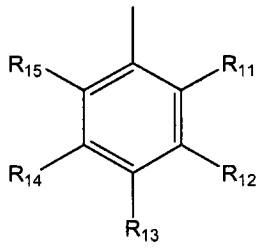
X_b 是 C、N、O 或 S；b 是整数 0 或 1；

X_c 是 C、N、O 或 S；c 是整数 0 或 1；

X_d 是 C、N、O 或 S；d 是整数 0 或 1；和

Ar 选自：取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基和未取代的杂芳基。

2. 如权利要求 1 所述的化合物，其特征在于，Ar 如下式所示：

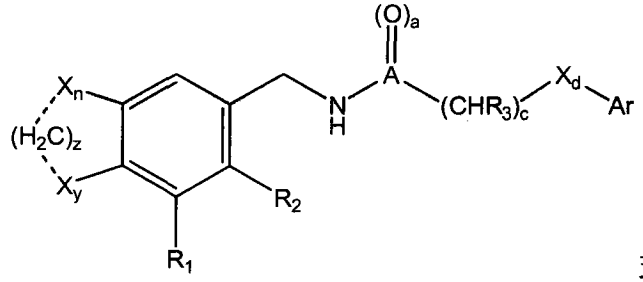


式中，R_{11}-R_{15} 各自独立选自下组：H；卤素；取代或未取代的苯基；脂族基团，烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；和取代或未取代的杂芳基。

3. 如权利要求 1 所述的化合物，其特征在于，Ar 是取代的萘基。

4. 如权利要求 1 所述的化合物，其特征在于，Ar 是取代的吡啶氧化物。

5. 以下式 Ia 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：



式 Ia

式中 z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X ＝卤素和…不是键时，z ＝ 0；和 2) z ＝ 0、X ＝ 0、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

其中 A ＝ C 或 S，并且当 A ＝ C 时 a ＝ 1；当 A ＝ S 时 a ＝ 2；

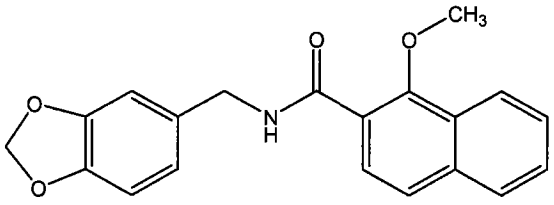
R_1、R_2 和 R_3 各自独立选自：H；卤素；脂族基团、烷基；取代的烷基；取代或未取代的烯基；和取代或未取代的炔基；

C 是整数 0 或 1；

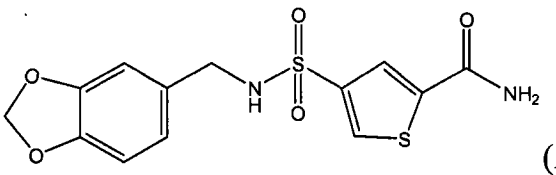
X_d 是 C、N、O 或 S；c 是整数 0 或 1；和

Ar 选自：取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基和未取代的杂芳基。

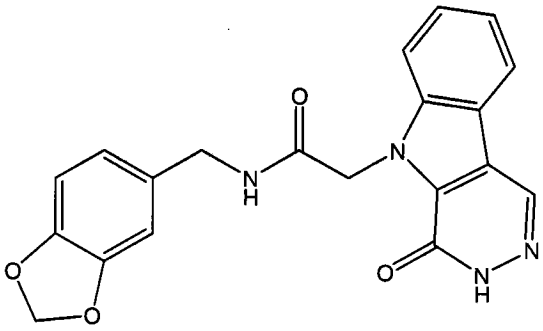
6. 如权利要求 5 所述的化合物，其特征在于，所述化合物具有选自以下的结构：



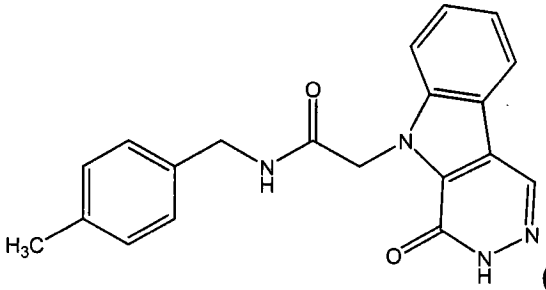
(Alda-52)、



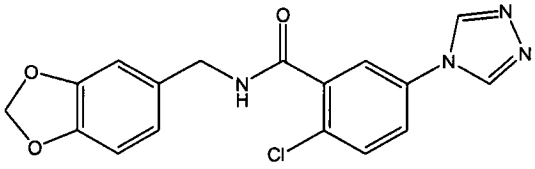
(Alda-59)、



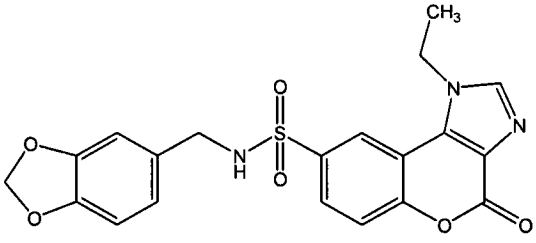
(Alda-72)、



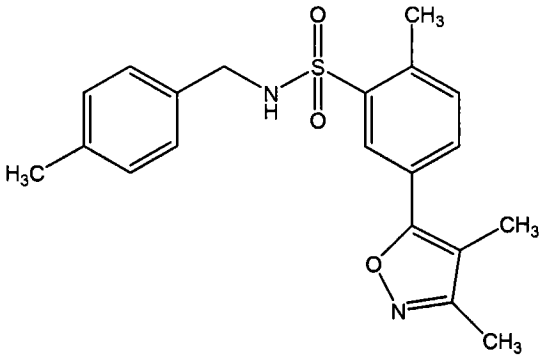
(Alda-71)



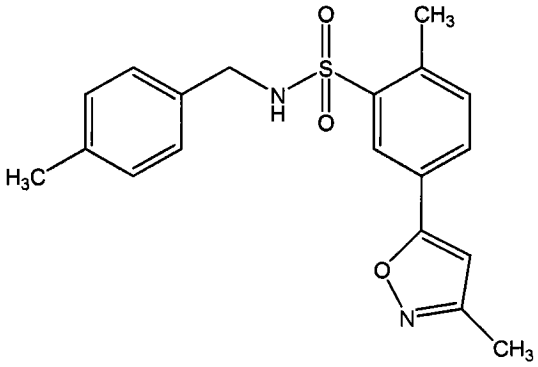
(Alda-53)、



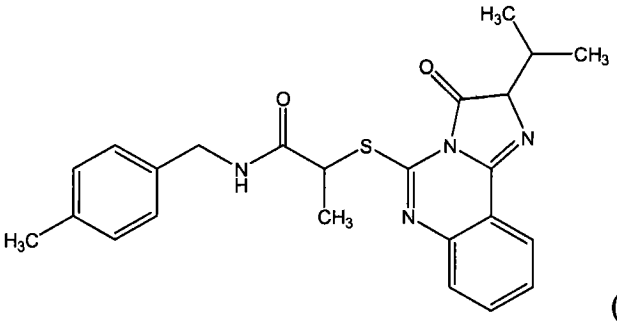
(Alda-54)、



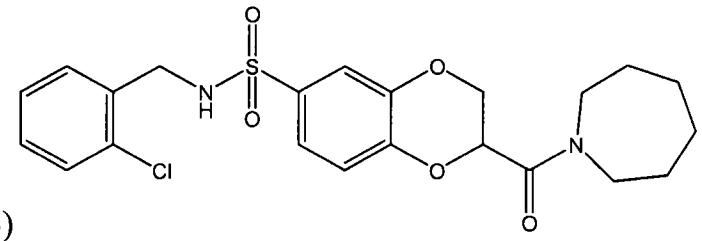
(Alda-61)、



(Alda-60)、

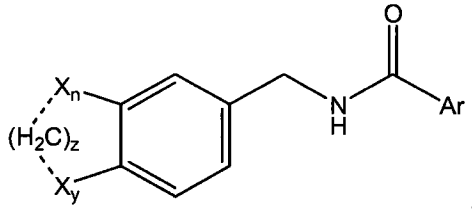


(Alda-66)和



(Alda-64)。

7. 以下式 Ib 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：



式 Ib

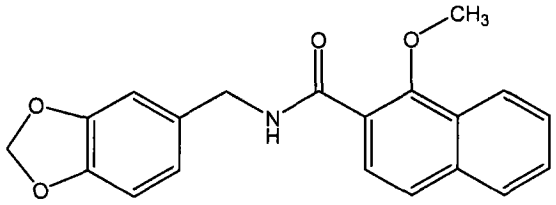
式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

…（虚线）是任选的键；

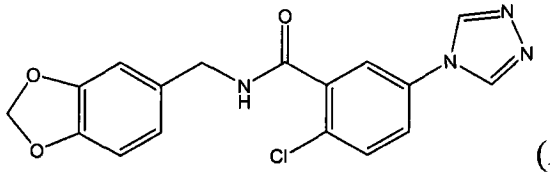
z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = 0、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

Ar 选自：取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基和未取代的杂芳基。

8. 如权利要求 7 所述的化合物，其特征在于，所述化合物具有选自以下的结构：

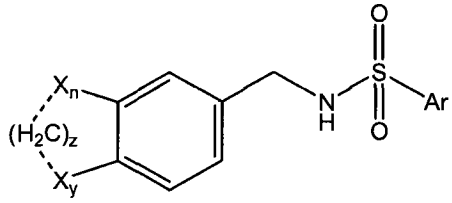


(Alda-52)和



(Alda-53)。

9. 以下式 Ic 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：



式 Ic

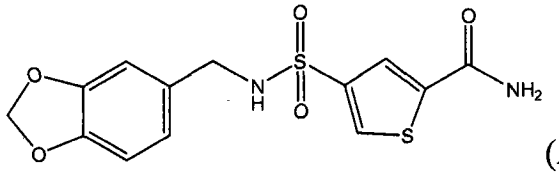
式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

…（虚线）是任选的键；

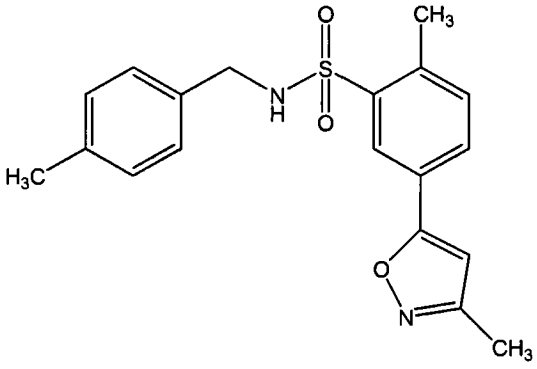
z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = 0、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

Ar 选自：取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基和未取代的杂芳基。

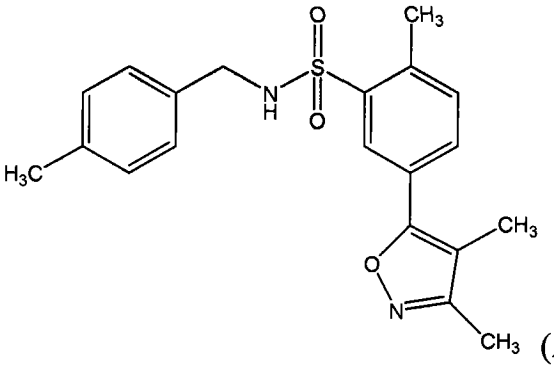
10. 如权利要求 9 所述的化合物，其特征在于，所述化合物具有选自以下的结构：



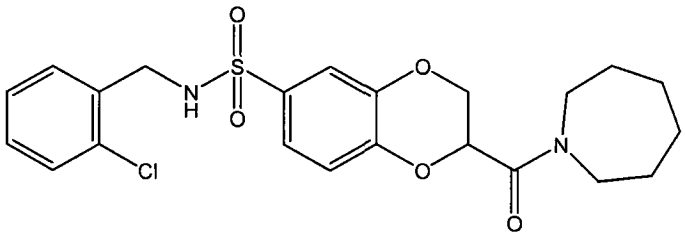
(Alda-59)、



(Alda-60)、

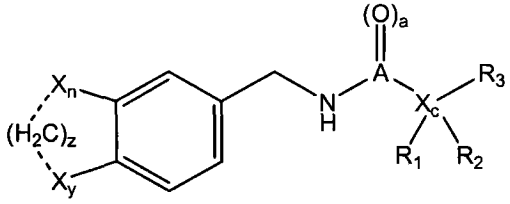


(Alda-61)和



(Alda-64)。

11. 以下式 Id 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：



式 Id

式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

…（虚线）是任选的键；

z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = 0、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

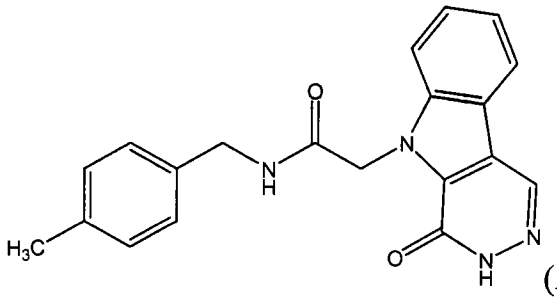
其中 A = C 或 S，并且当 A = C 时 a = 1；当 A = S 时 a = 2；

X_c 是 C、N、O 或 S；c 是整数 0 或 1；和

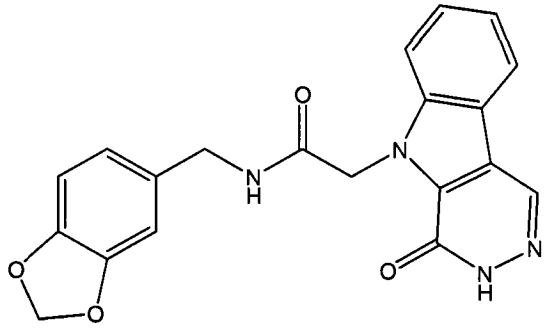
R_1 和 R_2 各自独立选自：H；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；脂族基团、烷基；取代的烷基；取代或未取代的烯基；和取代或未取代的炔基；

R_3 选自：取代的多环基团、未取代的多环基团、取代的杂多环基团和未取代的杂多环基团。

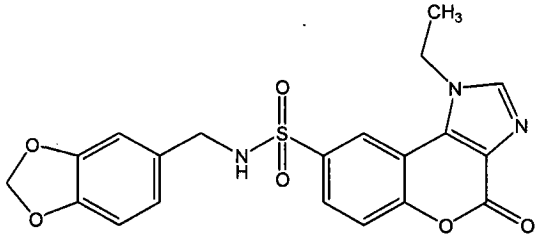
12. 如权利要求 11 所述的化合物，其特征在于，所述化合物具有以下结构：



(Alda-71)、

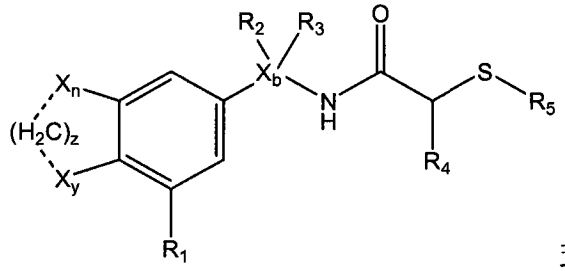


(Alda-72)和



(Alda-54)。

13. 以下式 Ie 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：



式 Ie

式中 X_n 和 X_y 各自独立地是 H、C、N、O 或卤素；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

…（虚线）是任选的键；

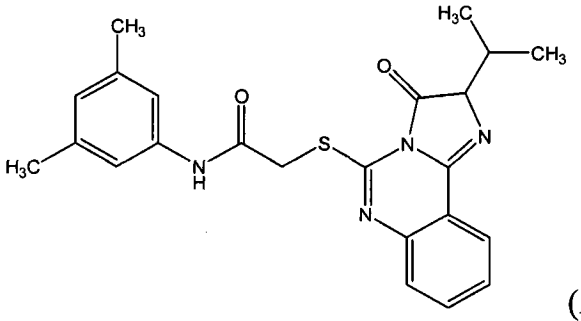
z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = 0、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

X_b 是 C、N、O 或 S；c 是整数 0 或 1；和

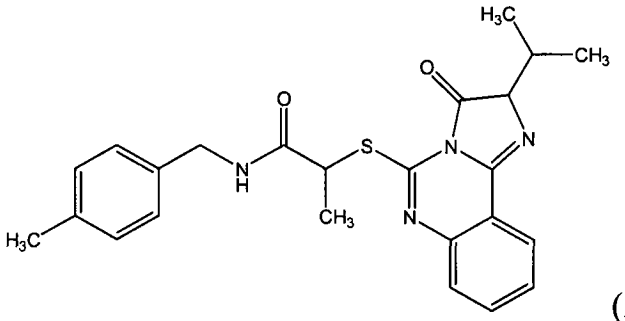
R_1、R_2、R_3 和 R_4 各自独立选自：H；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；脂族基团、烷基；取代的烷基；取代或未取代的烯基；和取代或未取代的炔基；

R_5 选自：取代的多环基团、未取代的多环基团、取代的杂多环基团和未取代的杂多环基团。

14. 如权利要求 13 所述的化合物，其特征在于，所述化合物具有选自以下的结构：

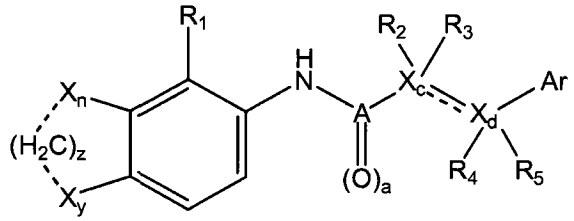


(Alda-65)和



(Alda-66)。

15. 以下式 If 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：



式 If

式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素（如 F、Br、Cl 或 I）；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

…（虚线）是任选的键；

z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

…是任选的双键；

其中 A = C 或 S，并且当 A = C 时 a = 1；当 A = S 时 a = 2；

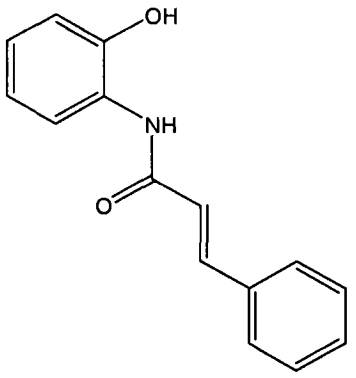
R_1、R_2、R_3、R_4 和 R_5 各自独立选自：H；-OH；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；脂族基团、烷基；取代的烷基；取代或未取代的烯基；和取代或未取代的炔基；

X_c 是 C、N、O 或 S；c 是整数 0 或 1；

X_d 是 C、N、O 或 S；c 是整数 0 或 1；和

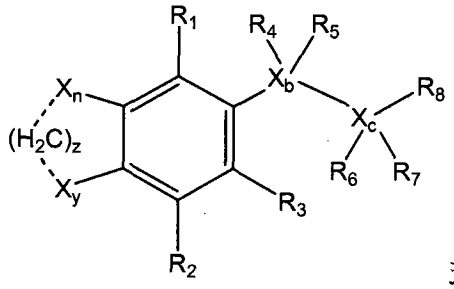
Ar 选自：取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基和未取代的杂芳基。

16. 如权利要求 15 所述的化合物，其特征在于，所述化合物具有以下结构：



(Alda-84)。

17. 以下式 II 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：



式 II

式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

…（虚线）是任选的键；z 是整数 0、1 或 2；

式中 R_1-R_7 各自独立选自：H；卤素（如溴、氟、氯、碘）；取代或未取代的苯基；脂族基，烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；和取代或未取代的杂芳基；

X_b 是 C、N、O 或 S；b 是整数 0 或 1；

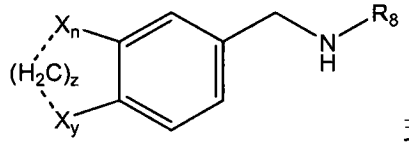
X_c 是 C、N、O 或 S；c 是整数 0 或 1；和

R_8 选自：取代或未取代的苯基；脂族基团、烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；取代或未取代的杂芳基；取代或未取代的双环基团；取代或未取代的杂双环基团；取代或未取代的多环基团；和取代或未取代的杂多环基团。

18. 如权利要求 17 所述的化合物，其特征在于，R_8 是取代的吡咯烷 -2- 酮基团、取代的吡咯并 [2,3-d] 嘧啶基团、取代的吡唑并 [3,4-d] 嘧啶基团、取代的吡嗪 -2- 酮基团、或取代的 4,5,6,7- 四氢 - 四唑并 [1,5-a] 嘧啶基团。

19. 如权利要求 17 所述的化合物，其特征在于，R_8 是取代的吡啶氧化物。

20. 以下式 IIa 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：



式 IIa

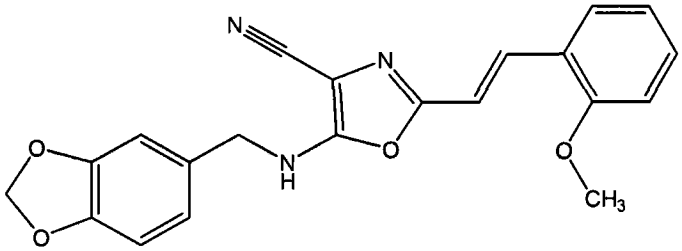
式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

…（虚线）是任选的键；

z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = 0、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

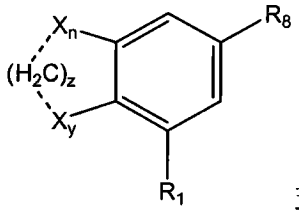
R_8 选自：取代的芳基；未取代的芳基；取代的杂芳基；和未取代的杂芳基。

21. 如权利要求 20 所述的化合物，其特征在于，所述化合物具有以下结构：



(Alda-58)。

22. 以下式 IIb 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：



式 IIb

式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

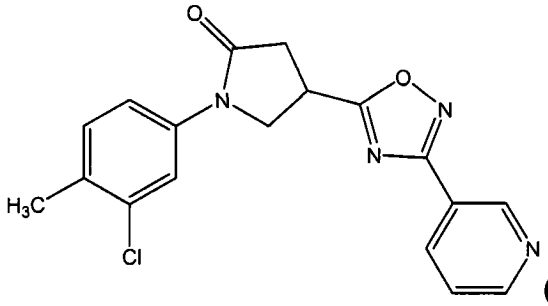
…（虚线）是任选的键；

z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = 0、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

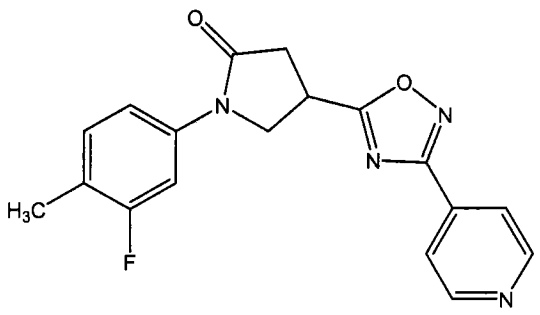
R_1 选自：H；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；脂族基团、烷基；取代的烷基；取代或未取代的烯基；和取代或未取代的炔基；

R_8 选自：取代的环状基团、未取代的环状基团、取代的杂环基和未取代的杂环基。

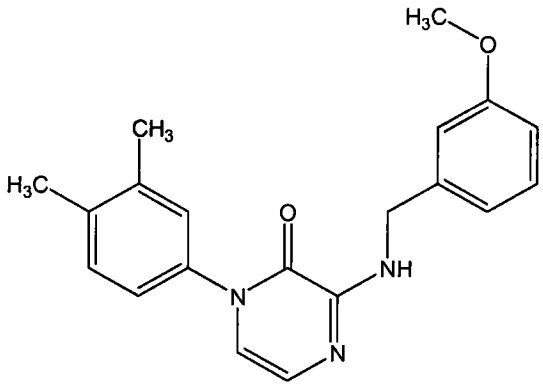
23. 如权利要求 22 所述的化合物，其特征在于，所述化合物具有选自以下的结构：



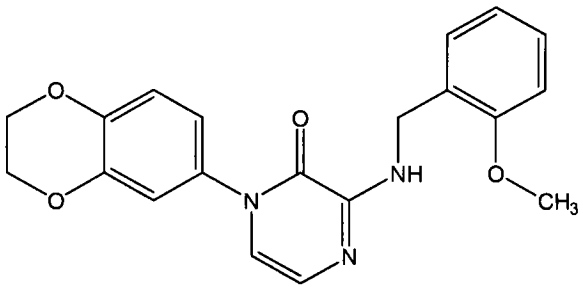
(Alda-69)、



(Alda-70)、

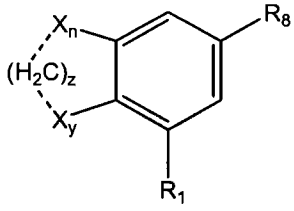


(Alda-62)和



(Alda-63)。

24. 以下式 IIc 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物，如下所示：



式 IIc

式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

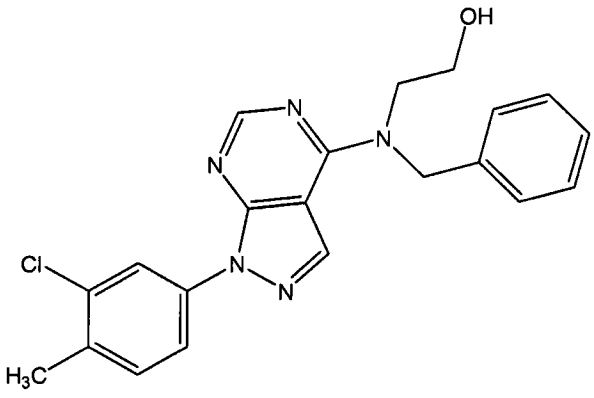
…（虚线）是任选的键；

z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = 0、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

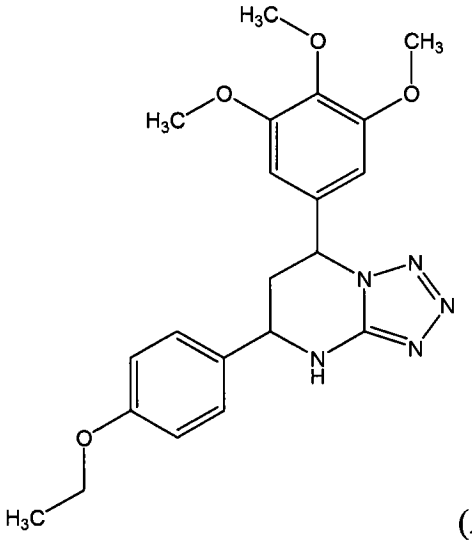
R_1 选自：H；卤素；脂族基团、烷基；取代的烷基；取代或未取代的烯基；和取代或未取代的炔基；

R_8 选自：取代的双环基团、未取代的双环基团、取代的杂双环基团和未取代的杂双环基团。

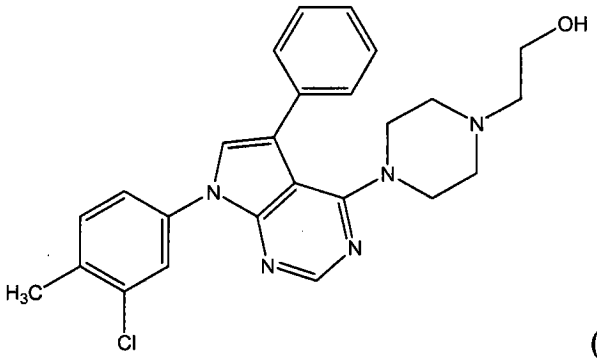
25. 如权利要求 24 所述的化合物，其特征在于，所述化合物具有选自以下的结构：



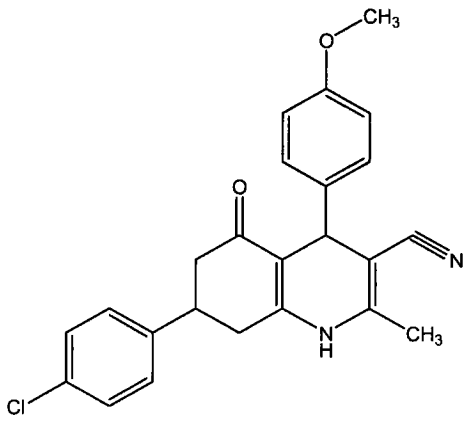
(Alda-67)、



(Alda-68)、

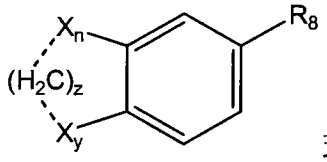


(Alda-73)和



(Alda-83)。

26. 以下式 IId 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：



式 IId

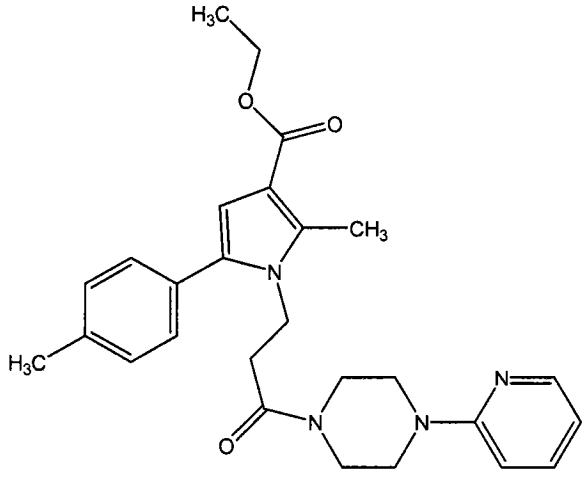
式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

…（虚线）是任选的键；

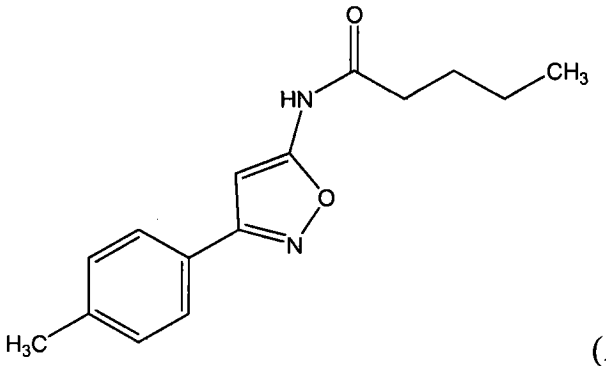
z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = 0、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

R_8 选自：取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基和未取代的杂芳基。

27. 如权利要求 26 所述的化合物，其特征在于，所述化合物具有选自以下的结构：

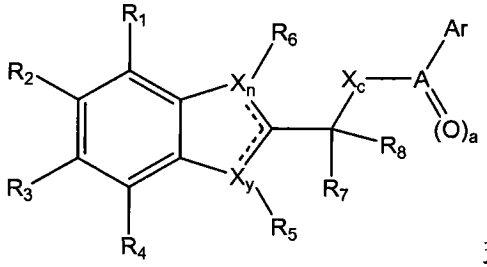


(Alda-56)和



(Alda-57)。

28. 以下式 III 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：



式 III

式中 X_n 和 X_y 各自独立为 C、N、O 或 S；n 是整数 0、1 或 2；y 是整数 0、1 或 2；

...是任选的双键；

R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、R_7 和 R_8 各自独立选自：H；C；N；O；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；取代或未取代的苯基；脂族基团、烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取

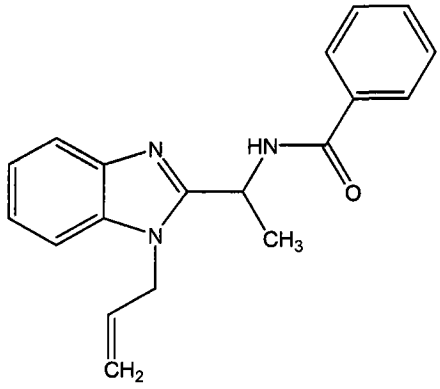
代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；和取代或未取代的杂芳基；

其中 A 是 C 或 S；并且当 A = C 时 a = 1；当 A = S 时 a = 2；

X_c 是 C、N、O 或 S；c 是整数 0 或 1；

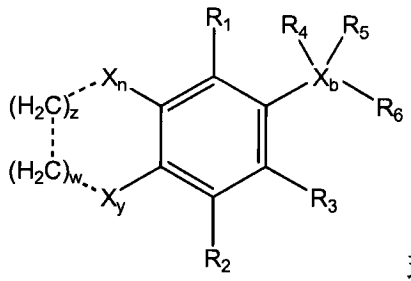
Ar 选自：取代或未取代的苯基；脂族基团、烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；取代或未取代的杂芳基；取代或未取代的双环基团；取代或未取代的杂双环基团；取代或未取代的多环基团；和取代或未取代的杂多环基团。

29. 如权利要求 28 所述的化合物，其特征在于，所述化合物具有以下结构：



(Alda-81)。

30. 以下式 IV 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：



式 IV

式中 X_n 和 X_y 各自独立为 C、N、O 或 S；n 是整数 0、1 或 2；y 是整数 0、1 或 2；

…（虚线）是任选的键；

z 是整数 0 或 1，前提是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

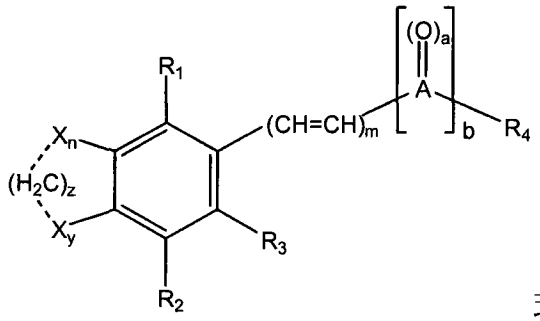
w 是整数 0 或 1，前提是：1) X = 卤素和…不是键时，w = 0；和 2) 当 w = 0、X = O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

R_1、R_2、R_3、R_4 和 R_5 各自独立选自：H；C；N；O；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；取代或未取代的烷氧基、取代或未取代的胺基、取代或未取代的苯基；脂族基团、烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；和取代或未取代的杂芳基；

X_b 是 C、N、O 或 S；b 是整数 0 或 1；

R_6 选自：取代或未取代的苯基；脂族基团、烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；取代或未取代的杂芳基；取代或未取代的双环基团；取代或未取代的杂双环基团；取代或未取代的多环基团；和取代或未取代的杂多环基团。

31. 以下式 V 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：



式 V

式中 X_n 和 X_y 各自独立为 C、N、O 或 S；n 是整数 0、1 或 2；y 是整数 0、1 或 2；

…（虚线）是任选的键；

z 是整数 0 或 1，前提是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

R_1、R_2 和 R_3 各自独立选自：H；C；N；O；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；取代或未取代的烷氧基、取代或未取代的胺基、取代或未取代的苯基；脂族基团、烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；和取代或未取代的杂芳基；

m 是整数 1-10；

其中 A 是 C 或 S；并且当 A = C 时 a = 1；当 A = S 时 a = 2；

b 是整数 0 或 1；

R_4 选自：羟基、取代或未取代的苯基；脂族基团、烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；取代或未取代的杂芳基；取代或未取代的双环基团；取代或未取代的杂双环基团；取代或未取代的多环基团；和取代或未取代的杂多环基团。

32. 如权利要求 31 所述的化合物，其特征在于，所述化合物是 Alda-101、Alda-102、、Alda-103、Alda-104a、Alda-104b、Alda-105、Alda-106、Alda-108、Alda-109、Alda-110、Alda-111 或 Alda-112。

33. 一种药物组合物，其包含：

a) 权利要求 1、5、7、9、11、13、16、17、20、22、24、26、28、30 和 31 中任一项所述的化合物；和

b) 药学上可接受的赋形剂。

34. 如权利要求 33 所述的组合物，其特征在于，将所述组合物配制成用于口服递送。

35. 如权利要求 33 所述的组合物，其特征在于，将所述组合物配制成用于局部递送至皮肤。

36. 如权利要求 33 所述的组合物，其特征在于，将所述组合物配制成用于眼部递送。

37. 如权利要求 33 所述的组合物，其特征在于，将所述组合物配制成用于全身性递送。

38. 如权利要求 33 所述的组合物，其特征在于，将所述组合物配制成用于注射。

39. 如权利要求 33 所述的组合物，其特征在于，将所述组合物配制成用于透皮递送。

40. 如权利要求 39 所述的组合物，其特征在于，将所述组合物配制成用透皮贴剂递送。

41. 如权利要求 33 所述的组合物，其特征在于，将所述组合物配制成用于连续递送。

42. 如权利要求 41 所述的组合物，其特征在于，将所述组合物配制成利用可植入泵递

送。

43. 如权利要求 33 所述的组合物，其特征在于，将所述组合物配制成用于递送至呼吸道。

44. 一种使个体中存在的毒性水平醛的水平降低到该毒性水平以下的方法，该方法包括给予该个体有效量的权利要求 33 所述的组合物，其中所述醛是生源醛或外源醛。

45. 如权利要求 44 所述的方法，其特征在于，所述生源醛是乙醛、丙二醛 (MDA)、3,4- 二羟基苯乙醛 (DOPAL)、3,4- 二羟基苯基羟乙醛 (DOPEGAL)、己醛、丙烯醛、乙二醛、丁烯醛、反式 -2- 壬醛、4- 氧代 -2- 壬醛或 4- 羟基 -2- 壬醛 (HNE)。

46. 如权利要求 44 所述的方法，其特征在于，所述生源醛是摄入或吸入的环境醛。

47. 一种治疗酒精不耐受、酒精成瘾或酗酒疾病的方法，该方法包括给予患有酒精不耐受、酒精成瘾或酗酒疾病的个体有效量的权利要求 33 所述的组合物。

48. 一种治疗有此需要的个体的急性或慢性自由基相关疾病的方法，该方法包括给予该个体有效量的权利要求 33 所述的药物组合物。

49. 如权利要求 48 所述的方法，其特征在于，所述急性自由基相关疾病是癫痫发作。

50. 如权利要求 48 所述的方法，其特征在于，所述急性自由基相关疾病是皮肤光损伤。

51. 一种治疗个体的眼睛疾病的方法，该方法包括给予该个体有效量的权利要求 33 所述的组合物。

52. 如权利要求 51 所述的方法，其特征在于，所述眼睛疾病是年龄相关的白内障、继发性白内障、创伤性白内障、先天性白内障、年龄相关的黄斑退行性改变或放射性白内障。

53. 如权利要求 51 所述的方法，其特征在于，所述组合物包含 ALDH3 激动剂。

54. 一种治疗个体的辐射诱导上皮细胞损伤的方法，该方法包括给予该个体包含有效量的醛脱氢酶 (ALDH) 激动剂的组合物。

55. 如权利要求 54 所述的方法，其特征在于，包括给予权利要求 33 所述的组合物。

56. 如权利要求 54 所述的方法，其特征在于，所述辐射诱导的损伤导致放射性皮炎。

57. 如权利要求 56 所述的方法，其特征在于，将所述组合物局部给予所述个体的皮肤。

58. 如权利要求 57 所述的方法，其特征在于，在所述个体暴露于电离辐射之前给予所述组合物。

59. 如权利要求 57 所述的方法，其特征在于，在所述个体暴露于电离辐射之后给予所述组合物。

60. 如权利要求 57 所述的方法，其特征在于，在所述个体暴露于电离辐射之前和之后给予所述组合物。

61. 如权利要求 54 所述的方法，其特征在于，所述辐射诱导的损伤导致粘膜炎。

62. 如权利要求 61 所述的方法，其特征在于，将所述组合物给予所述个体的粘膜表面。

63. 一种降低个体产生头颈癌可能性的方法，该方法包括给予该个体包含有效量醛脱氢酶 (ALDH) 激动剂的组合物。

64. 如权利要求 63 所述的方法，其特征在于，所述个体习惯使用菱叶咀嚼物。

65. 如权利要求 63 所述的方法，其特征在于，所述组合物是牙膏、牙凝胶、牙粉、口腔清洗剂、咀嚼胶或锭剂。

66. 一种治疗个体的癌症的方法，该方法包括给予 ：

a) 包含醛脱氢酶 (ALDH) 激动剂的组合物 ;和

b) 癌症化疗剂或电离辐射,

其中所述 ALDH 激动剂和所述癌症化疗剂,或所述 ALDH 激动剂和所述电离辐射以组合有效量给予以治疗癌症。

67. 如权利要求 66 所述的方法,其特征在于,所述化疗剂是烷化剂、亚硝基脲、抗代谢剂、抗肿瘤抗生素、植物 (长春花) 生物碱或类固醇激素。

68. 如权利要求 66 所述的方法,其特征在于,通过外线束放疗或近程放疗给予所述电离辐射。

69. 如权利要求 66 所述的方法,其特征在于,给予所述 ALDH 激动剂减少治疗癌症所需的化疗剂或电离辐射剂量。

70. 一种变体醛脱氢酶 (ALDH) 多肽,所述变体 ALDH 多肽在对应于 ALDH2 的 E487 的氨基酸处包含至少一个 E → K 取代,其中所述变体 ALDH 多肽显示比相应野生型 ALDH 多肽的酶活性低约 70%。

71. 一种鉴定醛脱氢酶 (ALDH) 多肽的激动剂的方法,该方法包括 :

a) 使权利要求 70 所述的变体 ALDH 多肽与 ALDH 的底物及测试物质相接触 ;和

b) 测定测试物质对所述变体 ALDH 酶活性的影响,如果有的话,其中提高所述变体 ALDH 的酶活性的物质是 ALDH 激动剂。

72. 如权利要求 71 所述的方法,其特征在于,所述测定步骤包括检测产生的 NADH 水平。

73. 如权利要求 72 所述的方法,其特征在于,所述检测包括采用荧光试验。

74. 一种降低个体发生口腔癌或肺癌的可能性的方法,该方法包括给予个体包含有效量的醛脱氢酶 (ALDH) 激动剂的组合物。

75. 如权利要求 74 所述的方法,其特征在于,口服给予所述 ALDH 激动剂。

76. 如权利要求 74 所述的方法,其特征在于,将所述 ALDH 激动剂给予呼吸道。

醛脱氢酶调节剂及其使用方法

[0001] 交叉参考

[0002] 本申请要求 2008 年 10 月 28 日提交的美国临时专利申请号 61/109,081 和 2009 年 7 月 15 日提交的美国临时专利申请号 61/225,827 的优先权，该两份申请通过引用全文纳入本文。

[0003] 关于联邦资助研究的声明

[0004] 按照国立卫生研究院给予的基金号 AA11147，美国政府可享有本发明的某些权利。

[0005] 背景

[0006] 醛脱氢酶 (ALDH) 构成的酶家族在各种细胞毒性外源 (xenogenic) 醛和生源醛的脱毒过程中起着至关重要的作用。ALDH 家族至少有 19 个成员 / 同工酶，其中各种同工酶表现出不同于家族其它成员的底物特异性和 / 或细胞定位。

[0007] 细胞毒性醛可衍生自各种来源。例如，醛的环境（外部）来源包括以下产生的醛：消耗乙醇，消耗食物来源，摄入有害物质如氯乙烯、杀虫剂、除草剂等；或吸入有害物质如香烟烟雾、工业污染物中发现的有害物质，等等产生的醛。可能具有细胞毒性的醛还可由生物产生（如内源性），例如氧化应激，如缺血、辐射或细胞对前体物质，如神经递质和药物代谢或生物转化所产生的醛。细胞毒性水平的醛累积和 / 或 ALDH 酶缺陷涉及各种疾病和病症，或者产生疾病的风险增加。所涉及的疾病包括神经变性疾病、衰老、癌症、心肌梗塞、中风、皮炎、糖尿病、白内障和肝病。

[0008] 本领域需要调节 ALDH 酶活性的药剂。

[0009] 参考文献

[0010] 美国专利公布号 2008/0153926；WO 2008/122164。

[0011] 发明概述

[0012] 本发明提供用作醛脱氢酶 (ALDH) 活性调节剂的化合物，以及包含该化合物的组合物和制剂。本发明提供治疗方法，包括给予本发明化合物或本发明药物组合物。

[0013] 附图简述

[0014] 图 1-3 描述了示范性化合物对 ALDH2 酶活性的作用。

[0015] 图 4 是示范性荧光醛脱氢酶酶促试验的示意图。

[0016] 图 5A 和 5B 分别提供人 ALDH2 的氨基酸序列 (SEQ ID NO：1) 和人 ALDH2 的 E487K 变体的氨基酸序列 (SEQ ID NO：2)。

[0017] 图 6A 和 6B 提供示范性 ALDH1 的氨基酸序列。

[0018] 图 7 提供示范性 ALDH3 的氨基酸序列。

[0019] 图 8 描述了利用辛醛作为底物，四种示范性活化化合物 Alda-52、Alda-81、Alda-83 和 Alda-84 对 ALDH1 酶活性的作用。

[0020] 图 9 描述了利用苯乙醛作为底物，四种示范性活化化合物 Alda-52、Alda-81、Alda-83 和 Alda-84 对 ALDH1 酶活性的作用。

[0021] 图 10 描述了利用乙醛作为底物，五种示范性活化化合物 Alda-52、Alda-81、Alda-83、Alda-84 和 Alda-1 对 ALDH2 酶活性的作用。

[0022] 图 11 描述了利用苯乙醛作为底物，四种示范性活化化合物 Alda-52、Alda-81、Alda-83、Alda-84 和 Alda-1 对 ALDH2 酶活性的作用。

[0023] 图 12 提供示范性 ALDH5 的氨基酸序列。

[0024] 图 13 描述了利用乙醛作为底物，各种化合物对 ALDH3 的活化作用。

[0025] 图 14 描述了利用苯乙醛作为底物，各种化合物对 ALDH3 的活化作用。

[0026] 图 15 描述了利用乙醛作为底物，黄樟素对 ALDH3 酶活性的作用。

[0027] 图 16 描述了利用乙醛作为底物，称为 Alda-101 到 Alda-112 的各种化合物对 ALDH3 酶活性的作用。

[0028] 图 17 描述了利用乙醛作为底物，高浓度黄樟素对 ALDH2 酶活性的抑制作用。

[0029] 图 18 描述了利用乙醛作为底物，1000μM 黄樟素对 ALDH2 酶活性抑制作用的 15- 分钟动力学检测。

[0030] 图 19 描述了在暴露于 6Gy 辐射的皮肤中，Alda-1 对 ALDH 活性的作用。

[0031] 图 20 描述了 Alda-1 可减轻接触辐射诱导的皮肤损伤。

[0032] 图 21 描述了 Alda-1 和辐射减缓肿瘤生长的作用。

[0033] 图 22 描述了 ALDH 激动剂可使乙醇解毒。

[0034] 图 23 描述了站立饲养活动 (rearing activity) 中 ALDH 激动剂的乙醇解毒功能分析。

[0035] 图 24 描述了行为评分中 ALDH 激动剂的乙醇解毒功能分析。

[0036] 图 25 描述了 ALDH 激动剂对血液酒精水平的作用。

[0037] 定义

[0038] 本文所用的术语“醛脱氢酶”或“ALDH”指能在 NAD^+- 依赖性或 $NADP^+$- 依赖性反应中，将醛（如外源醛、生源醛，或由摄入、吸入或吸收的化合物产生的醛）氧化成其相应酸的酶。例如，ALDH 能氧化以下化合物分解产生的醛：例如摄入、吸收、吸入或氧化应激产生的毒性化合物，或正常代谢过程，例如视黄醛转化成视黄酸所产生的毒性化合物。生源醛的一个例子是醇脱氢酶活性作用于摄入乙醇所产生的乙醛。醛脱氢酶也显示有酯酶活性和 / 或还原酶活性。

[0039] 术语“ALDH”包括在胞质溶胶、线粒体、微粒体或其它细胞腔室中发现的 ALDH。术语“ALDH”包括主要在一种或少数几种组织，例如角膜、唾液、肝脏等或干细胞和胚胎中发现的 ALDH。术语“ALDH”包括任何已知的 ALDH 同工酶，包括 ALDH1、ALDH2、ALDH3、ALDH4、ALDH5 等。

[0040] 本文所用的术语“线粒体醛脱氢酶 -2”或“ALDH2”指在 NAD^+- 依赖性反应中，将醛（如外源醛，生源醛，或由摄入、吸入或吸收的化合物产生的醛）氧化成其相应酸的酶。例如，ALDH2 能氧化在（例如）摄入、吸收、吸入或正常代谢过程中产生的有毒化合物分解产生的醛。线粒体 ALDH2 是线粒体中天然发现的。

[0041] 术语“ALDH2”包括各种物种的 ALDH2。各种物种的 ALDH2 的氨基酸序列公众可获得。例如，人 ALDH2 的氨基酸序列见 GenBank 登录号 AAH02967 和 NP_000681；小鼠 ALDH2 的氨基酸序列见 GenBank 登录号 NP_033786；大鼠 ALDH2 的氨基酸序列见 GenBank 登录号 NP_115792。术语“ALDH2”包括表现出底物特异性，例如优先氧化脂族醛的醛脱氢酶。术语“ALDH2”包括与 SEQ ID NO:1 或 SEQ ID NO:2 所示氨基酸序列的氨基酸 18-517 有至少

约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 98%、至少约 99%或 100%氨基酸序列相同性的酶活性多肽。

[0042] 本文所用的术语“ALDH2”还包括保留了 ALDH2 酶活性的片段、融合蛋白和变体（如含有一个或多个氨基酸取代、加入、缺失和 / 或插入的变体）。可通过调整本文所述方法验证具体的酶活性 ALDH2 变体、片段、融合蛋白等。ALDH2 变体的一个例子是在以下位置包含 Glu- 到 -Lys 取代的 ALDH2 多肽 :成熟人 ALDH2 的氨基酸 487 位，如图 5B 所示 (SEQ ID NO :2 的氨基酸 504)，或对应于人 ALDH2 的氨基酸 487 的位置。该突变称为“E487K 突变”;“E487K 变体”;或“Glu504Lys 多态性”。参见，例如 Larson 等 . (2005) J. Biol. Chem. 280 :30550 ;和 Li 等 . (2006) J. Clin. Invest. 116 :506。ALDH2 变体保留了相应野生型 ALDH2 酶的至少约 1%酶活性。例如，E487K 变体保留了含图 5A 所示氨基酸序列 (SEQ ID NO :1) 的酶的至少约 1%酶活性。“ALDH2”包括将乙醛转化成乙酸的酶，例如通过醇脱氢酶作用于摄入的乙醇体内形成的乙醛。

[0043] 本文所用的术语“ALDH1”指在 NAD^+- 依赖性反应中，能将醛（如外源醛，生源醛，或由摄入、吸入或吸收的化合物产生的醛）氧化成其相应酸的胞质醛脱氢酶。

[0044] 术语“ALDH1”包括各种物种的 ALDH1。各种物种 ALDH1 的氨基酸序列公众可获得。参见，例如 GenBank 登录号 AAC51652（智人 (Homo sapiens) ALDH1) ;NP_000680（智人 ALDH1) ;AAH61526（褐 鼠 (Rattus norvegicus) ALDH1) ;AAI05194（牛 (Bos taurus) ALDH1) ;和 NP_036051（小鼠 (Mus musculus) ALDH1)。本文所用的术语“ALDH1”还包括保留了 ALDH1 酶活性的片段、融合蛋白和变体（如含有一个或多个氨基酸取代、加入、缺失和 / 或插入的变体）。术语“ALDH1”包括能氧化芳族醛，包括视黄醛、萘醛、菲醛和香豆素醛 (coumarinaldehyde) 系列以及复杂的多聚芳族醛的醛脱氢酶。术语“ALDH1”包括胞质中的醛脱氢酶。

[0045] 术语“ALDH1”包括与 SEQ ID NO :3 或 SEQ ID NO :4 所示氨基酸序列有至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 98%、至少约 99%或 100%氨基酸序列相同性的酶活性多肽（分别示于图 6A 和 6B)。

[0046] 术语“ALDH3”包括各种物种的 ALDH3。各种物种的 ALDH3 的氨基酸序列公众可获得。参见，例如 GenBank 登录号 AAB26658（智人 ALDH3)、NP_000683（智人 ALDH3)、P30838（智人 ALDH3)、NP_001106196（小鼠 ALDH3) 和 AAH70924（褐鼠 ALDH3)。本文所用的术语“ALDH3”还包括保留了 ALDH3 酶活性的片段、融合蛋白和变体（如含有一个或多个氨基酸取代、加入、缺失和 / 或插入的变体）。术语“ALDH3”包括对芳族醛表现出特异性的醛脱氢酶，例如氧化 2- 萘醛系列芳族醛，但对 1- 萘醛和更高级聚芳族醛无活性。术语“ALDH3”包括可利用 NAD^+ 和 $NADP^+$ 作为协同底物 (co-substrate) 的醛脱氢酶。术语“ALDH3”包括在胃、肺、唾液和角膜中天然发现的醛脱氢酶。

[0047] 术语“ALDH3”包括与 SEQ ID NO :5 所示氨基酸序列有至少约 75%、至少约 80%、至少约 85%、至少约 90%、至少约 95%、至少约 98%、至少约 99%或 100%氨基酸序列相同性的酶活性多肽（示于图 7)。

[0048] 术语“ALDH5”（也称为“琥珀酸半醛脱氢酶”）包括将琥珀酸半醛氧化成琥珀酸的 NAD^+- 依赖性酶。ALDH5 参与 4- 氨基丁酸 (GABA) 的分解代谢。天然产生的 ALDH5 见于真核细胞的线粒体中。术语“ALDH5”包括与图 12 所示氨基酸序列 (SEQ ID NO :6) 有至少

约 75％、至少约 80％、至少约 85％、至少约 90％、至少约 95％、至少约 98％、至少约 99％或 100％氨基酸序列相同性的酶活性多肽。

[0049] 术语“分离化合物”指与其天然状态共存的其它化合物基本上相分离的，或相对富集的化合物。以重量计，分离化合物的纯度为至少约 80％、至少约 90％、至少约 98％或至少约 99％。应理解本发明包括非对映体以及它们的外消旋和拆分对映纯形式及它们药学上可接受的盐。

[0050] 病症或疾病的“处理”或“治疗”包括 :(1) 预防该病症的至少一种症状，即，使可能接触过或倾向于发生该疾病，但尚未出现或显示该疾病的症状的哺乳动物中不显著发生临床症状，(2) 抑制该疾病，即，阻滞或减轻该疾病或其症状的发生，或 (3) 缓解该疾病，即，导致该疾病或其临床症状消退。

[0051] “治疗有效量”或“有效量”表示当与另一药剂组合或单独给予哺乳动物或其它对象以治疗疾病时，化合物的用量足以实现对疾病的治疗。“治疗有效量”视所用化合物、所治疾病及其严重程度和治疗对象的年龄、体重等而不同。

[0052] 术语“对象”、“个体”和“患者”在本文可互换使用，表示可能需要用本文所述药学方法、组合物治疗的任何种类哺乳动物或非哺乳动物的一个或多个成员。因此，对象和患者包括但不限于 :灵长类 (包括人和非人灵长类)、犬、猫、有蹄类 (例如，马、牛、猪 (如家猪 (pig)))、禽、和其它对象。特别感兴趣的是人和商业上比较重要的非人哺乳动物 (如家畜和家养动物)。

[0053] “哺乳动物”指任何种类哺乳动物的一个或多个成员，包括，例如犬 ;猫 ;马 ;牛 ;绵羊 ;啮齿目等和灵长类，例如人。非人动物模型，特别是哺乳动物，例如非人灵长类、鼠科 (如小鼠、大鼠)、兔类等可用于实验研究。

[0054] 就给予第一化合物和至少一种第二化合物而言，本文所用的“联合”或“共同给予”指以下应用 :例如，在所述第二化合物的整个给药期间给予所述第一化合物 ;所述第一化合物的给药时间与所述第二化合物的给药重叠，例如在所述第二化合物的给药之前开始给予所述第一化合物，而在所述第二化合物的给药结束之前结束所述第一化合物的给药 ;在所述第一化合物的给药之前开始给予所述第二化合物，而在所述第一化合物的给药结束之前结束所述第二化合物的给药 ;在所述第二化合物的给药之前开始所述第一化合物的给药，而在所述第一化合物的给药结束之前结束所述第二化合物的给药 ;在所述第一化合物的给药之前开始给予所述第二化合物，而在所述第二化合物的给药结束之前结束所述第一化合物的给药。因此，“联合”还可指包括给予两种或更多种化合物的方案。本文所用的“联合”也指可在同一制剂或不同制剂中、通过相同或不同途径、采用相同或不同剂型给予两种或更多种化合物。

[0055] 本文所用的术语“单位剂型”指适合作为人和动物对象所用单位剂量的物理上不连续单位，各单位含有经计算足以产生所需效果的预定量本发明化合物与药学上可接受的稀释剂、载体或运载体。本发明的新型单位剂型的规格取决于所用的具体化合物和在宿主中需要实现的效果以及与各化合物相关的药效学性能。

[0056] 术语“生理条件”包括与活细胞相容的条件，例如温度、pH、盐度等与活细胞基本上相容的水性条件。

[0057] “药学上可接受的赋形剂”、“药学上可接受的稀释剂”、“药学上可接受的载体”和

“药学上可接受的辅佐剂”表示可用于制备药物组合物的赋形剂、稀释剂、载体和辅佐剂，它们通常是安全、无毒性，在生物学或其它方面没有不良特性，包括兽医学应用以及人药物应用可接受的赋形剂、稀释剂、载体和辅佐剂。本说明书和权利要求书中采用的“药学上可接受的赋形剂、稀释剂、载体和辅佐剂”包括一种和多种此类赋形剂、稀释剂、载体和辅佐剂。

[0058] 本文所用的“药物组合物”表示包括适合给予对象，例如哺乳动物，特别是人的组合物。通常，“药物组合物”无菌，不含有能在对象中引发不良应答的污染物（如药物组合物中的化合物为药物级）。可将药物组合物设计成通过不同给药途径，包括口服、口腔含化、直肠、胃肠外、腹膜内、真皮内、气管内等给予有此需要的对象或患者。在一些实施方式中，采用除二甲基亚砜 (DMSO) 以外的渗透增强剂时，该组合物适合通过透皮途径给药。在其它实施方式中，该药物组合物适合通过透皮给药以外的途径给药。在一些实施方式中，药物组合物包含本发明化合物和药学上可接受的赋形剂。在一些实施方式中，药学上可接受的赋形剂不是 DMSO。

[0059] 本文所用的本发明化合物的“药学上可接受的衍生物”包括其盐、酯、烯醇醚、烯醇酯、缩醛、缩酮、原酸酯、半缩醛、半缩酮、酸、碱、溶剂化物、水合物或前药。本领域技术人员采用已知的这种衍生方法不难制备这类衍生物。可将产生的化合物给予动物或人而没有实质上的毒性作用，所述化合物具有药学活性或是前药。

[0060] 化合物的“药学上可接受的盐”表示药学上可接受的具有母体化合物所需药理学活性的盐。此类盐包括：(1) 无机酸或有机酸形成的酸加成盐，所述无机酸例如有盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等；所述有机酸例如有乙酸、丙酸、己酸、环戊烷丙酸、乙醇酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、琥珀酸、苹果酸、马来酸、延胡索酸盐、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、3-(4- 羟基苯甲酰基）苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2- 乙二磺酸、2- 羟基乙磺酸、苯磺酸、4- 氯苯磺酸、2- 萘磺酸、4- 甲苯磺酸、樟脑磺酸、葡庚糖酸 (glucoheptonic acid)、4,4’- 亚甲基二 -(3- 羟基 -2- 烯 -1- 羧酸）、3- 苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、月桂基硫酸、葡糖酸、谷氨酸、羟萘甲酸、水杨酸、硬脂酸、粘康酸等；或 (2) 母体化合物中存在的酸性质子被金属离子，例如碱金属离子、碱土金属离子或铝离子替代；或与有机碱，例如乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、缓血酸胺、N- 甲基葡萄糖胺等配位形成的盐。

[0061] 本发明化合物的“药学上可接受的酯”表示药学上可接受的具有母体化合物所需药理学活性的酯，包括但不限于：酸性基团的烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、芳烷基、杂芳烷基、环烷基和杂环基酯，所述酸性基团包括但不限于：羧酸、磷酸、膦酸 (phosphinic acids)、磺酸、硫酸、亚磺酸和硼酸。

[0062] 本发明化合物的“药学上可接受的烯醇醚”表示药学上可接受的具有母体化合物所需药理学活性的烯醇醚，包括但不限于：式 C ＝ C(OR) 所示的衍生物，其中 R 是氢、烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、芳烷基、杂芳烷基、环烷基或杂环基。

[0063] 本发明化合物的“药学上可接受的溶剂化物或水合物”表示药学上可接受的具有母体化合物所需药理学活性的溶剂化物或水合物络合物，包括但不限于：本发明化合物与一个或多个溶剂分子或水分子，或与 1 至约 100 个、或 1 至约 10 个或 1 至约 2、3 或 4 个溶剂分子或水分子的络合物。

[0064] “前药”表示当将此类前药给予哺乳动物对象时，能在体内释放一种或多种以下通式所示活性母体药物的任何化合物。通过修饰通式化合物中的官能团，可在体内切断这种

修饰而释放母体化合物，从而制备一种或多种以下通式所示化合物的前药。前药包括一种或多种以下通式所示的化合物，其中一种或多种以下通式中的羟基、氨基或巯基结合于可在体内被切断而分别再产生游离羟基、氨基或巯基的任何基团。前药的例子包括但不限于一种或多种以下通式所示化合物中的羟基官能团的酯（如乙酸酯、甲酸酯和苯甲酸酯衍生物）、氨基甲酸酯（如 N，N- 二甲基氨基羰基）等。

[0065] 本文所用的术语“有机基团”表示任何含碳基团，包括分类为脂族基团、环状基团、芳族基团、其功能化衍生物和 / 或其各种组合的烃基团。术语“脂族基团”表示饱和或不饱和的线形或支链烃基，例如包括烷基、烯基和炔基。术语“烷基”表示取代的或未取代的、饱和的线形或支链烃基或链（例如，C_1-C_8），包括，例如甲基、乙基、异丙基、叔丁基、庚基、异丙基、正 - 辛基、十二烷基、十八烷基、戊基、2- 乙基己基等。合适的取代基包括羧基、受保护的羧基、氨基、受保护的氨基、卤素、羟基、受保护的羟基、硝基、氰基、单取代的氨基、受保护的单取代氨基、二取代的氨基、C_1-C_7 烷氧基、C_1-C_7 酰基、C_1-C_7 酰氧基等。术语“取代的烷基”表示被以下基团取代 1-3 次的上述烷基：羟基、受保护的羟基、氨基、受保护的氨基、氰基、卤素、三氟甲基、单 - 取代的氨基、二 - 取代的氨基、低级烷氧基、低级烷硫基、羧基、受保护的羧基；或羧基、氨基和 / 或羟基的盐。与杂芳环的取代基联用的术语“取代的（环烷基）烷基”和“取代的环烷基”如下文定义用与“取代的烷基”所列相同的基团取代。术语“烯基”表示含一个或多个碳 - 碳双键的不饱和线形或支链烃基，例如乙烯基。术语“炔基”表示含一个或多个碳 - 碳三键的不饱和线形或支链烃基。术语“环状基团”表示分类为脂环族基团、芳族基团或杂环基团的闭环烃基。术语“脂环族基团”表示特性类似于脂族基团的环状烃基。术语“芳族基团”或“芳基”表示单环或多环芳族烃基，可包括一个或多个杂原子，下文有进一步的定义。术语“杂环基”表示闭环烃，环中有一个或多个原子是除碳以外的元素（例如，氮、氧、硫等），下文有进一步的定义。

[0066] “有机基团”可功能化或包含与所述有机基团结合的额外官能团，例如羧基、氨基、羟基等，这些官能团可以是受保护或未保护的。例如，短语“烷基”应不仅包括单纯的开链饱和烃烷基取代基，例如甲基、乙基、丙基、叔丁基等，而且包括携带本领域已知的其它取代基，例如羟基、烷氧基、烷基磺酰基、卤素原子、氰基、硝基、氨基、羧基等的烷基取代基。因此，“烷基”包括醚、酯、卤代烷基、硝基烷基、羧基烷基、羟基烷基、磺基烷基等。

[0067] 术语“卤代”和“卤素”指氟、氯、溴或碘基团。可以有一个或多个相同或不同的卤素。特别感兴趣的卤素包括氯和溴基团。

[0068] 术语“卤代烷基”指被一个或多个卤素原子取代的以上定义的烷基。所述卤素原子可以相同或不同。术语“二卤代烷基”指被两个相同或不同的卤素基团取代的上述烷基。术语“三卤代烷基”指被三个相同或不同的卤素基团取代的上述烷基。术语“全卤代烷基”指烷基中的各氢原子都被卤素原子替代的上述卤代烷基。术语“全氟烷基”指烷基中各氢原子都被氟基团取代的上述卤代烷基。

[0069] 术语“环烷基”表示完全饱和或部分不饱和的单 -、双 - 或三环饱和环。这类基团的例子包括环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、金刚烷基、环辛基、顺式 - 或反式 - 萘烷、双环 [2.2.1] 庚 -2- 烯、环己 -1- 烯基、环戊 -1- 烯基、1，4- 环辛二烯基等。

[0070] 术语“（环烷基）烷基”表示取代以上环烷基环之一的上述烷基。此类基团的例子包括（环己基）甲基、3-（环丙基）- 正 - 丙基、5-（环戊基）己基、6-（金刚烷基）己基等。

[0071] 术语“取代的苯基”指被选自下组的一个或多个部分，在一些情况中被 1、2 或 3 个部分取代的苯基，从而得到例如，联苯基或萘基：卤素、羟基、受保护的羟基、氰基、硝基、三氟甲基、C_1-C_7 烷基、C_1-C_7 烷氧基、C_1-C_7 酰基、C_1-C_7 酰氧基、羧基、氧基羧基 (oxycarboxy)、受保护的羧基、羧基甲基、受保护的羧基甲基、羟基甲基、受保护的羟基甲基、氨基、受保护的氨基、（单取代的）氨基、受保护的（单取代）氨基、（二取代的）氨基、羧酰胺、受保护的羧酰胺、N-(C_1-C_6 烷基）羧酰胺、受保护的 N-(C_1-C_6 烷基）羧酰胺、N,N- 二 (C_1-C_6 烷基）羧酰胺、三氟甲基、N-(((C_1-C_6 烷基）磺酰基）氨基、N-（苯基磺酰基）氨基或苯基，它们是取代或未取代的。

[0072] 术语“取代的苯基”的例子包括单 - 或二（卤代）苯基，例如 2、3 或 4- 氯苯基、2，6- 二氯苯基、2，5- 二氯苯基、3，4- 二氯苯基、2、3 或 4- 溴苯基、3，4- 二溴苯基、3- 氯 -4- 氟苯基、2、3 或 4- 氟苯基等；单或二（羟基）苯基，例如 2、3 或 4- 羟基苯基、2，4- 二羟基苯基、其受保护的羟基衍生物等；硝基苯基，例如 2、3 或 4- 硝基苯基；氰基苯基，例如 2、3 或 4- 氰基苯基；单 - 或二（烷基）苯基，例如 2、3 或 4- 甲基苯基、2，4- 二甲基苯基、2、3 或 4-（异 - 丙基）苯基、2、3 或 4- 乙基苯基、2、3 或 4-（正 - 丙基）苯基等；单或二（烷氧基）苯基，例如 2，6- 二甲氧基苯基、2、3 或 4-（异丙氧基）苯基、2、3 或 4-（叔丁氧基）苯基、3- 乙氧基 -4- 甲氧基苯基等；2、3 或 4- 三氟甲基苯基；单 - 或二羧基苯基或（受保护的羧基）苯基，例如 2、3 或 4- 羧基苯基或 2，4- 二（受保护的羧基）苯基；单 - 或二（羟甲基）苯基或（受保护的羟甲基）苯基，例如 2、3 或 4-（受保护的羟甲基）苯基或 3，4- 二（羟甲基）苯基；单 - 或二（氨基甲基）苯基或（受保护的氨基甲基）苯基，例如 2、3 或 4-（氨基甲基）苯基或 2，4-（受保护的氨基甲基）苯基；或单 - 或二 (N-（甲基磺酰基氨基））苯基，例如 2、3 或 4-(N-（甲基磺酰基氨基））苯基。术语“取代的苯基”还表示取代基不同的二取代苯基，例如 3- 甲基 -4- 羟基苯基、3- 氯 -4- 羟基苯基、2- 甲氧基 -4- 溴苯基、4- 乙基 -2- 羟基苯基、3- 羟基 -4- 硝基苯基、2- 羟基 -4- 氯苯基等。

[0073] 术语“（取代的苯基）烷基”表示与上述烷基之一结合的一种上述取代的苯基。其例子包括例如 2- 苯基 -1- 氯乙基、2-(4’- 甲氧基苯基）乙基、4-(2’,6’- 二羟基苯基）正 - 己基、2-(5’- 氰基 -3’- 甲氧基苯基）正 - 戊基、3-(2’,6’- 二甲基苯基）正 - 丙基、4- 氯 -3- 氨基苄基、6-(4’- 甲氧基苯基)-3- 羧基（正 - 己基）、5-(4’- 氨基甲基苯基)-3-（氨基甲基）正 - 戊基、5- 苯基 -3- 氧代 - 正 - 戊 -1- 基、(4- 羟基萘 -2- 基）甲基等基团。

[0074] 如上所述，术语“芳族”或“芳基”指 6 元碳环。以上术语“杂芳基”还表示含有 1-4 个杂原子的任选取代的 5- 元或 6- 元环，所述杂原子例如是氧、硫和 / 或氮原子，特别是单独或与硫或氧环原子结合的氮。

[0075] 而且，上述任选取代的五元或六元环可任选稠合于芳族五元或六元环系统。例如，该环可任选稠合于芳族 5 元或 6 元环系统，如吡啶或三唑系统，优选稠合于苯环。

[0076] 以下环系统是术语“杂芳基”所指的杂环（无论取代或未取代的）基团的例子：噻吩基、呋喃基、吡咯基、吡咯烷基、咪唑基、异噁唑基、三唑基、噻二唑基、噁二唑基、四唑基、噻三唑基、噁三唑基、吡啶基、嘧啶基、吡嗪基、哒嗪基、噁嗪基、三嗪基、噻二嗪基、四唑并 (tetrazolo)，1，5-[b] 哒嗪基和嘌呤基以及苯稠合衍生物，例如苯并噁唑基、苯并噻唑基、苯并咪唑基和吲哚基。

[0077] 用于上述任选取代的杂芳环的取代基有：一至三个卤素、三卤代甲基、氨基、受保护的氨基、氨基盐、单取代的氨基、双取代的氨基、羧基、受保护的羧基、羧酸盐、羟基、受保护的羟基、羟基的盐、低级烷氧基、低级烷硫基、烷基、取代的烷基、环烷基、取代的环烷基、（环烷基）烷基、取代的（环烷基）烷基、苯基、取代的苯基、苯基烷基和（取代的苯基）烷基。杂芳基的取代基的定义如前所述，或者在三卤代甲基的情况下，该取代基可以是三氟甲基、三氯甲基、三溴甲基或三碘甲基。与杂芳基环的以上取代基联用的“低级烷氧基”指 C_1-C_4 烷氧基，同样，“低级烷硫基”指 C_1-C_4 烷硫基。

[0078] 术语“（单取代的）氨基”指含有一个选自下组取代基的氨基：苯基、取代的苯基、烷基、取代的烷基、C_1-C_4 酰基、C_2-C_7 烯基、C_2-C_7 取代的烯基、C_2-C_7 炔基、C_7-C_{16} 烷基芳基、C_7-C_{16} 取代的烷基芳基和杂芳基。（单取代的）氨基还可具有术语“受保护的（单取代的）氨基”所包括的氨基-保护基团。术语“（二取代的）氨基”指含有两个选自下组取代基的氨基：苯基、取代的苯基、烷基、取代的烷基、C_1-C_7 酰基、C_2-C_7 烯基、C_2-C_7 炔基、C_7-C_{16} 烷基芳基、C_7-C_{16} 取代的烷基芳基和杂芳基。这两个取代基可以相同或不同。

[0079] 术语“杂芳基（烷基）”指任何位置被上述杂芳基取代的上述烷基。

[0080] “任选”或“任选地”表示随后描述的事件、情况、特征或要素可发生但不一定发生，本说明书包括所述事件或情况发生或不发生的例子。例如，“任选被烷基单-取代或双-取代的杂环基”指该烷基可存在但不一定存在，本说明书包括杂环基被烷基单-取代或双-取代的情况和杂环基未被烷基取代的情况。

[0081] 分子式相同但性质或原子的结合顺序或原子空间排布不同的化合物称为“异构体”。原子空间排布不同的异构体称为“立体异构体”。彼此不呈镜像的立体异构体称为“非对映体”，彼此呈非重叠镜像的那些异构体称为“对映体”。当化合物具有不对称中心时，例如它结合于四种不同基团时，可能形成一对对映体。可通过其不对称中心的绝对构型表征对映体，可用 Cahn 和 Prelog 的 R-和 S-顺序规则描述，或用分子旋转偏振光平面方式描述，称为右旋或左旋（即分别为 (+) 或 (-) 异构体）。存在的手性化合物可以是其二种对映体之一或二者的混合物。含有等比例对映体的混合物称为“外消旋混合物”。

[0082] 本发明化合物可具有一个或多个不对称中心；因此，此类化合物可形成各自不同的 (R)-或 (S)-立体异构体或其混合物。除非另有说明，本说明书和权利要求书中具体化合物的描述和命名应包括两种不同的对映体，二者的混合物或外消旋物。本领域熟知测定立体异构体的立体化学性质和分离立体异构体的方法（参见，例如“高级有机化学 (Advanced Organic Chemistry)”第 4 章中的讨论，第 4 版 J.March，约翰韦利父子公司 (John Wiley and Sons)，纽约，1992）。

[0083] 本文所用术语“联用”指如下所述的应用，例如在给予第二化合物的整个期间给予第一化合物；给予第一化合物的时间与给予第二化合物相重叠，例如在给予第二化合物之前开始给予第一化合物和在结束给予第二化合物之前结束给予第一化合物；在给予第一化合物之前开始给予第二化合物和在结束给予第一化合物之前结束给予第二化合物；在开始给予第二化合物之前开始给予第一化合物和在结束给予第一化合物之前结束给予第二化合物；在开始给予第一化合物之前开始给予第二化合物和在结束给予第二化合物之前结束给予第一化合物。同样，“联合”也可指包括给予两种或更多种化合物的方案。在本文中，“联合”也指给予两种或更多种化合物，所述化合物可以通过相同或不同途径、采用相同或

不同剂型、在同一或不同制剂中给予。

[0084] 在进一步描述本发明之前，应理解，本发明不限于本文所述的具体实施方式，因为它们当然可能变化。还应理解，本文所用术语目的仅是描述具体实施方式，而非限制本发明，因为本发明的范围仅受所附权利要求的限制。

[0085] 应理解，当提供数值范围时，除非文中另有明确说明，该范围上下限之间、以下限单位的十分之一为间隔的各间插数值，以及所述范围的任何其它标称或间插数值均包括在本发明内。所述较小范围内可独立地包含这些较小范围的上下限，它们也包括在本发明内，除非明确地排除所述范围的上下限。当所述范围包括一个或两个界限时，除了这一个或两个界限以外的范围也包括在本发明内。

[0086] 除非另有说明，本文所用的所有科技术语与本发明所属领域普通技术人员共同理解的含义相同。虽然也可采用与本文所述类似或等同的任何方法和材料实施或检验本发明，但以下描述的是优选的方法和材料。本文述及的所有出版物均通过引用纳入本文以公开和描述与所引用出版物相关的方法和 / 或材料。

[0087] 应注意，除非另有明确说明，本文和所附权利要求书中所用的单数形式“一个”、“一种”和“该种”包括复数形式。因此，例如述及“一种 ALDH 激动剂”包括多个此类激动剂，述及“该制剂”包括述及一个或多个制剂以及本领域技术人员已知的其等价形式，等等。还应注意，权利要求书可撰写成排除任何任选的要素。因此，本声明意味着可作为采用这类排除性术语，如“只有”、“唯一”等与引用权利要求元素相结合，或采用“负”限制的前提基础。

[0088] 提供本文所述的出版物只是因为他们公开早于本申请的提交日期。本文不能解释为承认本发明由于在先发明而不早于其出版。此外，所提供的出版日期可能与实际公开日期不同，可能需要单独确认。

[0089] 详述

[0090] 本发明提供用作醛脱氢酶 (ALDH) 酶活性调节剂的化合物以及包含所述化合物的组合物和制剂。本发明提供治疗方法，包括给予本发明化合物或本发明药物组合物。

[0091] ALDH(例如，ALDH1、ALDH2、ALDH3、ALDH4、ALDH5 等) 激动剂可用于治疗各种疾病，包括涉及缺血性应激、氧化应激的疾病，慢性自由基相关疾病，急性自由基相关疾病、对硝酸甘油不敏感 (例如心绞痛和心力衰竭)、高血压、外周动脉疾病、糖尿病、白内障、年龄相关黄斑退行性改变、吸烟导致的肺病、癌症、神经变性疾病、乙醇不耐受和骨质疏松症。

[0092] 也可用 ALDH 激动剂调节胚胎发生、干细胞再生、发育和分化。也可将 ALDH 激动剂用于各种皮肤治疗。还可用 ALDH 激动剂降低个体中化合物，例如乙醇、甲醇、乙二醇一甲醚、聚氯乙烯、外源醛和生源醛的水平。可用 ALDH 激动剂降低个体中醛的水平，所述醛经摄入、吸入或吸收或是从摄入、吸入或吸收的化合物体内形成的，而 ALDH 激动剂可将醛水平降低至毒性水平以下。还可用 ALDH 激动剂降低个体中化合物的水平，所述化合物在摄入、吸收或吸入时产生 ALDH 的醛底物。本发明提供治疗方法，包括给予本发明化合物或本发明药物组合物。

[0093] 醛脱氢酶的调节剂

[0094] 本发明提供用作 ALDH 酶活性调节剂的化合物 ；和包含所述化合物的药物组合物。调节剂包括激动剂 (本文也称为“活化剂”)。

[0095] 在一些实施方式中，待治疗个体是人。在一些实施方式中，要按照本发明方法治疗

的人是具有两种“野生型”ALDH2 等位基因的人，例如，所述两种野生型 ALDH2 等位基因编码的 ALDH2 在成熟蛋白质的 487 位（含前导肽的蛋白质的氨基酸 504）具有谷氨酸，如图 5A 所示。在其它实施方式中，要按照本发明方法治疗的人是具有一种或两种“ALDH*2”等位基因的人，例如，一种或两种 ALDH2 等位基因编码的 ALDH2 在成熟蛋白质的氨基酸 487 位（含前导肽的蛋白质的氨基酸 504）具有赖氨酸，如图 5B 所示。E487K 多态性是半显性多态性，导致 ALDH2 四聚体的酶活性显著低于“野生型”ALDH2。因此，ALDH2*2 等位基因杂合或纯合个体的体内 ALDH2 活性远低于“野生型”ALDH2 等位基因纯合个体。预计 ALDH2*2 等位基因杂合或纯合个体可从本发明 ALDH2 激动剂的治疗中获益，因为这类个体中 ALDH2 活性水平特别低，预计 ALDH2 活性水平的任何提高都能提供疗效。ALDH2 活性的任何提高均有利于治疗某些疾病，例如缺血性疾病，可提高这类个体对硝酸甘油等的反应性，下文将更详细讨论。

[0096] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能选择性调节（例如，提高）特定 ALDH 同工酶的酶活性。例如，在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能选择性提高 ALDH1 的酶活性。例如，在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能提高 ALDH1 的酶活性，但不能实质性提高 ALDH1 以外的 ALDH 同工酶的同一酶活性，例如，即使这种 ALDH 激动剂能提高 ALDH1 以外的 ALDH 同工酶的酶活性，但不超过约 15％，如低于 15％、低于 10％、低于 5％或低于 1％。

[0097] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能选择性调节（例如提高）ALDH2 的酶活性。例如，在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能提高 ALDH2 的酶活性，但不能实质性提高 ALDH2 以外的 ALDH 同工酶的同一酶活性，例如，即使这种 ALDH 激动剂能提高 ALDH2 以外的 ALDH 同工酶的酶活性，但不超过约 15％，如低于 15％、低于 10％、低于 5％或低于 1％。

[0098] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能选择性调节（例如提高）ALDH3 的酶活性。例如，在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能提高 ALDH3 的酶活性，但不能实质性提高 ALDH3 以外的 ALDH 同工酶的同一酶活性，例如，即使这种 ALDH 激动剂能提高 ALDH3 以外的 ALDH 同工酶的酶活性，但不超过约 15％，如低于 15％、低于 10％、低于 5％或低于 1％。

[0099] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能选择性调节（例如提高）ALDH5 的酶活性。例如，在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能提高 ALDH5 的酶活性，但不能实质性提高 ALDH5 以外的 ALDH 同工酶的同一酶活性，例如，即使这种 ALDH 激动剂能提高 ALDH5 以外的 ALDH 同工酶的酶活性，但不超过约 15％，如低于 15％、低于 10％、低于 5％或低于 1％。

[0100] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能同时提高 ALDH2 和 ALDH1 的酶活性。在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能同时提高 ALDH2 和 ALDH1 的酶活性，但不能实质性提高 ALDH2 和 ALDH1 以外的 ALDH 同工酶的酶活性。在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能同时提高 ALDH1 和 ALDH2 的酶活性，其中所述 ALDH2 成熟蛋白质的氨基酸 487 位（含前导肽的蛋白质的氨基酸 504）为赖氨酸，如图 5B 所示。

[0101] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能提高 ALDH 对特定底物或底物类别的酶活性。例如，在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能提高 ALDH3 酶对复杂的多聚芳族

醛，例如菲醛的酶活性。再例如，本发明的 ALDH 激动剂能提高 ALDH1 酶对底物，例如苯乙醛或视黄醛的酶活性。再例如，本发明的 ALDH 激动剂能提高 ALDH1 酶对菲系列的萘醛衍生物的酶活性。再例如，本发明的 ALDH 激动剂能提高 ALDH3 酶对长链脂族醛，例如辛醛、癸醛等的酶活性。再例如，本发明的 ALDH 激动剂能提高 ALDH 酶对芳族醛，例如 6- 甲氧基 -2- 萘醛、2- 萘醛、6- 二甲基氨基 -2- 萘醛等的酶活性。再例如，本发明的 ALDH 激动剂能提高 ALDH2 酶对乙醛的酶活性。

[0102] 在一些实施方式中，调节 ALDH 活性的化合物能调节 ALDH 的脱氢酶活性，例如，所述化合物调节将醛（例如，外源醛、生源醛或摄入、吸入或吸收化合物产生的醛）氧化成相应酸的脱氢酶活性。在其它实施方式中，调节 ALDH 活性的化合物调节 ALDH 的酯酶活性。在其它实施方式中，调节 ALDH 活性的化合物调节 ALDH 的还原酶活性。例如，ALDH 可通过其还原酶活性使硝酸甘油转变成氧化氮 (NO)。

[0103] 如上所述，在一些实施方式中，调节 ALDH 活性的化合物能调节 ALDH 的脱氢酶活性，例如，这种化合物调节将醛（例如，外源醛、生源醛或从摄入、吸入或吸收的化合物产生的醛）氧化成相应酸的脱氢酶活性。

[0104] 各种化合物可产生 ALDH2 的醛底物。可产生 ALDH2 的醛底物的化合物的非限制性例子包括乙醇；各种杀虫剂；工业毒素如氯乙烯（如聚氯乙烯）；和丙酮酸。例如，哺乳动物摄入、吸收（例如通过皮肤）或吸入化合物，随后在哺乳动物体内转化成 ALDH2 的醛底物。

[0105] 生源醛包括哺乳动物产生的醛，例如哺乳动物代谢产生的醛。生源醛的非限制性例子包括：丙二醛 (MDA)；3,4- 二羟基苯乙醛 (DOPAL)；3,4- 二羟基苯基羟乙醛 (DOPEGAL)；己醛；丙烯醛；乙二醛；丁烯醛；反式 -2- 壬醛 (nonenal)；4- 氧代 -2- 壬醛；4- 羟基 -2- 壬醛 (HNE)（参见，例如 Ellis，Pharmacology & Therapeutics(2007)115：13；Picklo 和 Montine(2007)J Alzheimers Dis.12：185)；3- 氨基丙醛 (3-AP)、聚胺氧合酶的产物；酪氨酸、丝氨酸和苏氨酸的醛产物（参见 Wood 等，Brain Res(2006)1095；190)；和视黄醛（参见，例如 Chen 等，Molecular Pharmacology(1994)46：88)。

[0106] 外源醛包括哺乳动物从哺乳动物以外来源摄入、吸收或吸入的醛。外源醛包括，例如甲醛和戊二醛（例如，McGregor 等.，Crit Rev Toxicol(2006)36：821 和 Pandey 等 Hum Exp.Toxicol.(2000)19：360)；氯乙醛（参见，例如 Richardson 等.，Mutat. Research(2007)636：178)；香烟烟雾中的反应活性醛（参见 Simth 等.，Inhal.Toxicol. (2006)18：667)；和食物来源中存在的反应活性醛（参见，例如 Feron 等.(1991)Mut. Res.259：363；Wang 等.(2008)J.Mol.Cell.Cardiol.44：1016)。

[0107] 作为线粒体 ALDH2 和胞质 ALDH1 底物的化合物的非限制性例子包括：3,4- 二羟基苯乙醛 (DOPAL)；3,4- 二羟基苯基羟乙醛 (DOPEGAL)；丙烯醛；甲醛；乙醛；丙醛；正 - 丁醛；己醛；庚醛；戊醛；辛醛；癸醛；视黄醛；3- 羟基苯甲醛；2,5- 二羟基苯甲醛；苯乙醛；3- 苯基丙醛（参见，例如 Want 等.(2002)Drug Metabolism and Disposition 30：69)；肉桂酰基和氢化肉桂酰基醛及它们的衍生醛（例如，对 - 硝基肉桂醛、对 -（二甲基氨基）肉桂醛、氢化肉桂醛、α - 苯基丙醛）；苯甲醛及其衍生醛（例如，2,4- 二硝基 - 苯甲醛、邻 - 硝基 - 苯甲醛、对 - 硝基 - 苯甲醛、对 - 甲基 - 苯甲醛、间 - 甲基 - 苯甲醛、对 - 甲氧基 - 苯甲醛、对 -（二甲基氨基）- 苯甲醛、间 - 甲氧基 - 苯甲醛、间 - 羟基 - 苯甲醛、3,4- 二甲氧基 - 苯甲醛、邻 - 甲氧基 - 苯甲醛）；萘醛及其衍生醛（例如，5- 溴 -1- 萘醛、

5- 硝基 -1- 萘醛、6-[O-$(CH_2)_5$-COOH]-2- 萘醛、6-(二甲基氨基)-2- 萘醛) ;香豆素 -4- 羧醛 (carboxaldehyde) 及其衍生醛 (例如,7- 乙酰氧基 - 香豆素 -4- 羧醛、7-(二甲基氨基)- 香豆素 -4- 羧醛、7- 甲氧基 - 香豆素 -4- 羧醛、6,7- 二甲氧基 - 香豆素 -4- 羧醛) ;喹啉、喹啉酮羧醛 (quinolinonecarboxaldehyde) 和它们的衍生醛 (例如,喹啉 -3- 羧醛、7-(二甲基氨基)-2- 喹啉酮 -4 羧醛、喹啉 -4- 羧醛、6- 甲氧基 -2- 喹啉酮 -4- 羧醛) ;菲 -9- 羧醛 ;吲哚 -3- 醛、吲哚 -3- 乙醛 ;5- 甲氧基吲哚 -3- 羧醛 ;3- 吡啶羧醛 (pyridinecarboxaldehyde) ;芴 -2- 羧醛 (参见,例如 Klyosov, (1996)Biochemstry 35 : 4457) ;4- 羟基壬醛 ;丙二醛 ;3,4- 二羟基苯乙醛 ;和 5- 羟基吲哚 -3- 乙醛。还参见,例如 Williams 等 . (2005)Anal. Chem. 77 :3383 ;Marchitti 等 . (2007)Pharmacol. Rev. 59 :125 ; 及 Hoffman 和 Maser(2007)Drug Metab. Rev. 39 :87。

[0108] ALDH 活化剂

[0109] 本发明提供 ALDH 激动剂 (也称为“活化剂”) ;和包含 ALDH 激动剂的药物组合物。本发明的 ALDH 激动剂可用于治疗各种疾病,包括,例如涉及缺血性应激的疾病,慢性自由基相关疾病,急性自由基相关疾病、对硝酸甘油不敏感 (例如心绞痛和心力衰竭)、高血压、糖尿病、癫痫发作、癌症、急性心肌梗塞、中风、皮肤损伤、皮炎、动脉粥样硬化、阿尔茨海默病、帕金森病、白内障、皮肤老化和其它皮肤疾病 (参见,例如 Dreno 等 . (2007)Dermatology 214 :260)、痤疮 (参见,例如 Boisnic 等 . (2005)Int J Tissue React. 27 :91)、毛发异常损失 (参见,例如 Everts 等 . (2004)J Invest Dermatol 123 :258-263 ;和 Everts 等 . (2007) Journal of Investigative Dermatology 127 :1593-1604) 和骨质疏松症。本发明的 ALDH 激动剂也可用于酒精、甲醇中毒、乙二醇一甲醚中毒和其它外源或生源醛化合物所致中毒的解毒。本发明的 ALDH 激动剂还可用于治疗酗酒。本发明的 ALDH 激动剂还可用于调节胚胎发生和干细胞再生、分化和发育 (参见,例如 Mic 和 Duester(2003)Developmental Biology 264 :191-201 ;Douville 等 . (2008)Stem Cells Dev. 6 月 23 日 (印刷前电子版 ; PMID 18573038)。

[0110] 与没有激动剂时 ALDH 多肽的酶活性相比,本发明的 ALDH 激动剂将 ALDH 多肽的酶活性提高至少约 5%、至少约 10%、至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%、至少约 90%、至少约 100% (或两倍)、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍或至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0111] 在一些实施方式中,与没有激动剂时 ALDH 多肽的脱氢酶活性相比,本发明的 ALDH 激动剂将 ALDH 多肽的脱氢酶活性 (例如,将醛 (如外源醛、生源醛或摄入、吸入或吸收化合物产生的醛) 氧化成相应酸的脱氢酶活性) 提高至少约 5%、至少约 10%、至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%、至少约 90%、至少约 100% (或两倍)、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍、或至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0112] 在一些实施方式中,与没有激动剂时 ALDH 多肽的酯酶活性相比,本发明的 ALDH 激动剂将 ALDH 多肽的酯酶活性提高至少约 5%、至少约 10%、至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 30%、至少约 35%、至少约 40%、至少约 45%、至少约 50%、至少约 60%、

至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％、至少约 100％（或两倍）、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍或至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0113] 在一些实施方式中，与没有激动剂时 ALDH 多肽的还原酶活性相比，本发明的 ALDH 激动剂将 ALDH 多肽的还原酶活性提高至少约 5％、至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 35％、至少约 40％、至少约 45％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％、至少约 100％（或两倍）、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍、至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0114] 在一些实施方式中，与没有激动剂时 ALDH2 多肽的酶活性相比，本发明的 ALDH 激动剂将包含 SEQ ID NO :1 所示氨基酸序列（图 5A 所示）或 SEQ ID NO :1 的氨基酸 18-517 所示氨基酸序列的 ALDH2 多肽的酶活性提高至少约 5％、至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 35％、至少约 40％、至少约 45％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％、至少约 100％（或两倍）、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍、至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0115] 在一些实施方式中，与没有激动剂时 ALDH2 多肽的脱氢酶活性相比，本发明的 ALDH 激动剂将包含 SEQ ID NO :1 所示氨基酸序列（图 5A 所示）或 SEQ ID NO :1 的氨基酸 18-517 所示氨基酸序列的 ALDH2 多肽的脱氢酶活性（例如，将醛（如外源醛、生源醛或摄入、吸入或吸收化合物产生的醛）氧化成相应酸的脱氢酶活性）提高至少约 5％、至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 35％、至少约 40％、至少约 45％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％、至少约 100％（或两倍）、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍、至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0116] 在一些实施方式中，与没有激动剂时 ALDH2 多肽的酯酶活性相比，本发明的 ALDH 激动剂将包含 SEQ ID NO :1 所示氨基酸序列（图 5A 所示）或 SEQ ID NO :1 的氨基酸 18-517 所示氨基酸序列的 ALDH2 多肽的酯酶活性提高至少约 5％、至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 35％、至少约 40％、至少约 45％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％、至少约 100％（或两倍）、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍、至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0117] 在一些实施方式中，与没有激动剂时 ALDH2 多肽的还原酶活性相比，本发明的 ALDH 激动剂将包含 SEQ ID NO :1 所示氨基酸序列（图 5A 所示）或 SEQ ID NO :1 的氨基酸 18-517 所示氨基酸序列的 ALDH2 多肽的还原酶活性提高至少约 5％、至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 35％、至少约 40％、至少约 45％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％、至少约 100％（或两倍）、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍、至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0118] 在一些实施方式中，与没有激动剂时 ALDH2 多肽的酶活性相比，本发明的 ALDH 激

动剂将包含 SEQ ID NO :2 所示氨基酸序列（图 5B 所示）或 SEQ ID NO :2 的氨基酸 18-517 所示氨基酸序列的 ALDH2 多肽的酶活性提高至少约 5％、至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 35％、至少约 40％、至少约 45％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％、至少约 100％（或两倍）、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍、至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0119] 在一些实施方式中，与没有激动剂时 ALDH2 多肽的脱氢酶活性相比，本发明的 ALDH 激动剂将包含 SEQ ID NO :2 所示氨基酸序列（图 5B 所示）或 SEQ ID NO :2 的氨基酸 18-517 所示氨基酸序列的 ALDH2 多肽的脱氢酶活性（例如，将醛（如外源醛、生源醛或摄入、吸入或吸收化合物产生的醛）氧化成相应酸的脱氢酶活性）提高至少约 5％、至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 35％、至少约 40％、至少约 45％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％、至少约 100％（或两倍）、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍、至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0120] 在一些实施方式中，与没有激动剂时 ALDH2 多肽的酯酶活性相比，本发明的 ALDH 激动剂将包含 SEQ ID NO :2 所示氨基酸序列（图 5B 所示）或 SEQ ID NO :2 的氨基酸 18-517 所示氨基酸序列的 ALDH2 多肽的酯酶活性提高至少约 5％、至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 35％、至少约 40％、至少约 45％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％、至少约 100％（或两倍）、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍、至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0121] 在一些实施方式中，与没有激动剂时 ALDH2 多肽的还原酶活性相比，本发明的 ALDH 激动剂将包含 SEQ ID NO :2 所示氨基酸序列（图 5B 所示）或 SEQ ID NO :2 的氨基酸 18-517 所示氨基酸序列的 ALDH2 多肽的酯酶活性提高至少约 5％、至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 35％、至少约 40％、至少约 45％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％、至少约 100％（或两倍）、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍、至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0122] 在一些实施方式中，与没有激动剂时 ALDH1 多肽的酶活性相比，本发明的 ALDH 激动剂将包含 SEQ ID NO :3 或 4 所示氨基酸序列（分别如图 6A 和 6B 所示）的 ALDH1 多肽的酶活性（例如，醛脱氢酶活性、还原酶活性或酯酶活性）提高至少约 5％、至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 35％、至少约 40％、至少约 45％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％、至少约 100％（或两倍）、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍、至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0123] 在一些实施方式中，与没有激动剂时 ALDH3 多肽的酶活性相比，本发明的 ALDH 激动剂将包含 SEQ ID NO :5 所示氨基酸序列（如图 7 所示）的 ALDH3 多肽的酶活性（例如，醛脱氢酶活性、还原酶活性或酯酶活性）提高至少约 5％、至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 35％、至少约 40％、至少约 45％、至少约 50％、至少

约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％、至少约 100％（或两倍）、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍、至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0124] 在一些实施方式中，与没有激动剂时 ALDH5 多肽的酶活性相比，本发明的 ALDH 激动剂将包含图 12 所示氨基酸序列（如 SEQ ID NO :6）的 ALDH5 多肽的酶活性（例如，醛脱氢酶活性、还原酶活性或酯酶活性）提高至少约 5％、至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 35％、至少约 40％、至少约 45％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％、至少约 100％（或两倍）、至少约 2.5- 倍、至少约 5- 倍、至少约 10- 倍、至少约 15- 倍、至少约 20- 倍、至少约 25- 倍、至少约 50- 倍或高于 50- 倍。

[0125] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂对 ALDH2 具有特异性（例如选择性），例如本发明的 ALDH2 激动剂提高 ALDH2 酶的酶活性，但不能实质性提高胞质醛脱氢酶 -1(ALDH1) 的同一酶活性，例如，当采用能提高 ALDH2 酶的同一酶活性至少约 5％或更高的浓度时，本发明的 ALDH2 激动剂即使能提高 ALDH1 酶的酶活性，但低于约 15％、低于约 10％、低于约 5％、低于约 2％或低于约 1％。在一些实施方式中，本发明的 ALDH2 激动剂不能显著提高醇脱氢酶 (ADH) 的酶活性，例如，当采用能提高 ALDH2 酶的酶活性至少约 5％或更高的浓度时，本发明的 ALDH2 激动剂即使能提高 ADH 的酶活性，但低于约 5％、低于约 2％或低于约 1％。

[0126] 例如，在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂对 ALDH2 具有特异性（例如选择性），例如本发明的 ALDH2 激动剂可提高 ALDH2 酶的脱氢酶活性，但不能实质性提高胞质醛脱氢酶 -1(ALDH1) 的脱氢酶活性，例如，当采用能提高 ALDH2 酶的脱氢酶活性至少约 5％或更高的浓度时，本发明的 ALDH2 激动剂即使能提高 ALDH1 酶的脱氢酶活性，但低于约 15％、低于约 10％、低于约 5％、低于约 2％或低于约 1％。在一些实施方式中，本发明的 ALDH2 激动剂不能显著提高醇脱氢酶 (ADH) 的脱氢酶活性，例如，当采用能提高 ALDH2 酶的脱氢酶活性至少约 5％或更高的浓度时，本发明的 ALDH2 激动剂即使能提高 ADH 的脱氢酶活性，但低于约 5％、低于约 2％或低于约 1％。

[0127] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂对 ALDH1 具有特异性（例如选择性），例如本发明的 ALDH1 激动剂可提高 ALDH1 酶的酶活性，但不能实质性提高任何其它 ALDH 同工酶的同一酶活性，例如，当采用能提高 ALDH1 酶的同一酶活性至少约 15％或更高的浓度时，本发明的 ALDH 激动剂即使能提高 ALDH1 以外的 ALDH 同工酶的酶活性，但低于约 15％、低于约 10％、低于约 5％、低于约 2％或低于约 1％。

[0128] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂对 ALDH3 具有特异性（例如选择性），例如本发明的 ALDH 激动剂能提高 ALDH3 酶的酶活性，但不能实质性提高任何其它 ALDH 同工酶的同一酶活性，例如，当采用能提高 ALDH3 酶的同一酶活性至少约 15％或更高的浓度时，本发明的 ALDH 激动剂即使能提高 ALDH3 以外的 ALDH 同工酶的酶活性，但低于约 15％、低于约 10％、低于约 5％、低于约 2％或低于约 1％。

[0129] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂对 ALDH5 具有特异性（例如选择性），例如本发明的 ALDH 激动剂可提高 ALDH5 酶的酶活性，但不能实质性提高任何其它 ALDH 同工酶的同一酶活性，例如，当采用能提高 ALDH5 酶的同一酶活性至少约 15％或更高的浓度用

时，本发明的 ALDH 激动剂即使能提高 ALDH5 以外的 ALDH 同工酶的酶活性，但低于约 15%、低于约 10%、低于约 5%、低于约 2%或低于约 1%。

[0130] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂能同时提高 ALDH1 和 ALDH2 的酶活性，但不能实质性提高任何其它 ALDH 同工酶的同一酶活性，例如，当采用能提高 ALDH1 和 ALDH2 酶的同一酶活性至少约 15%或更高的浓度时，本发明的 ALDH 激动剂即使能提高 ALDH1 和 ALDH2 以外的 ALDH 同工酶的酶活性，但低于约 15%、低于约 10%、低于约 5%、低于约 2%或低于约 1%。

[0131] 在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的 EC_{50}（半数最大有效浓度）为约 1nM- 约 1mM，例如约 1nM- 约 10nM、约 10nM- 约 15nM、约 15nM- 约 25nM、约 25nM- 约 50nM、约 50nM- 约 75nM、约 75nM- 约 100nM、约 100nM- 约 150nM、约 150nM- 约 200nM、约 200nM- 约 250nM、约 250nM- 约 300nM、约 300nM- 约 350nM、约 350nM- 约 400nM、约 400nM- 约 450nM、约 450nM- 约 500nM、约 500nM- 约 750nM、约 750nM- 约 1μM、约 1μM- 约 10μM、约 10μM- 约 25μM、约 25μM- 约 50μM、约 50μM- 约 75μM、约 75μM- 约 100μM、约 100μM- 约 250μM、约 250μM- 约 500μM 或约 500μM- 约 1mM。

[0132] 例如，在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂对线粒体 ALDH2 的脱氢酶活性的 EC_{50} 为约 1nM- 约 1mM，例如约 1nM- 约 10nM、约 10nM- 约 15nM、约 15nM- 约 25nM、约 25nM- 约 50nM、约 50nM- 约 75nM、约 75nM- 约 100nM、约 100nM- 约 150nM、约 150nM- 约 200nM、约 200nM- 约 250nM、约 250nM- 约 300nM、约 300nM- 约 350nM、约 350nM- 约 400nM、约 400nM- 约 450nM、约 450nM- 约 500nM、约 500nM- 约 750nM、约 750nM- 约 1μM、约 1μM- 约 10μM、约 10μM- 约 25μM、约 25μM- 约 50μM、约 50μM- 约 75μM、约 75μM- 约 100μM、约 100μM- 约 250μM、约 250μM- 约 500μM 或约 500μM- 约 1mM。

[0133] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH2 激动剂对包含 SEQ ID NO :1 所示氨基酸序列（图 5A 所示）或 SEQ ID NO :1 的氨基酸 18-517 所示氨基酸序列的 ALDH2 多肽的 EC_{50} 为约 1nM- 约 1mM，例如约 1nM- 约 10nM、约 10nM- 约 15nM、约 15nM- 约 25nM、约 25nM- 约 50nM、约 50nM- 约 75nM、约 75nM- 约 100nM、约 100nM- 约 150nM、约 150nM- 约 200nM、约 200nM- 约 250nM、约 250nM- 约 300nM、约 300nM- 约 350nM、约 350nM- 约 400nM、约 400nM- 约 450nM、约 450nM- 约 500nM、约 500nM- 约 750nM、约 750nM- 约 1μM、约 1μM- 约 10μM、约 10μM- 约 25μM、约 25μM- 约 50μM、约 50μM- 约 75μM、约 75μM- 约 100μM、约 100μM- 约 250μM、约 250μM- 约 500μM 或约 500μM- 约 1mM。

[0134] 例如，在一些实施方式中，本发明的 ALDH2 激动剂对包含 SEQ ID NO :1 所示氨基酸序列（图 5A 所示）或 SEQ ID NO :1 的氨基酸 18-517 所示氨基酸序列的 ALDH2 多肽的脱氢酶活性的 EC_{50} 为约 1nM- 约 1mM，例如约 1nM- 约 10nM、约 10nM- 约 15nM、约 15nM- 约 25nM、约 25nM- 约 50nM、约 50nM- 约 75nM、约 75nM- 约 100nM、约 100nM- 约 150nM、约 150nM- 约 200nM、约 200nM- 约 250nM、约 250nM- 约 300nM、约 300nM- 约 350nM、约 350nM- 约 400nM、约 400nM- 约 450nM、约 450nM- 约 500nM、约 500nM- 约 750nM、约 750nM- 约 1μM、约 1μM- 约 10μM、约 10μM- 约 25μM、约 25μM- 约 50μM、约 50μM- 约 75μM、约 75μM- 约 100μM、约 100μM- 约 250μM、约 250μM- 约 500μM 或约 500μM- 约 1mM。

[0135] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH2 激动剂对包含 SEQ ID NO :2 所示氨基酸序列（图 5B 所示）或 SEQ ID NO :2 的氨基酸 18-517 所示氨基酸序列的 ALDH2 多肽的 EC_{50} 为约

1nM-约 1mM，例如约 1nM-约 10nM、约 10nM-约 15nM、约 15nM-约 25nM、约 25nM-约 50nM、约 50nM-约 75nM、约 75nM-约 100nM、约 100nM-约 150nM、约 150nM-约 200nM、约 200nM-约 250nM、约 250nM-约 300nM、约 300nM-约 350nM、约 350nM-约 400nM、约 400nM-约 450nM、约 450nM-约 500nM、约 500nM-约 750nM、约 750nM-约 1μM、约 1μM-约 10μM、约 10μM-约 25μM、约 25μM-约 50μM、约 50μM-约 75μM、约 75μM-约 100μM、约 100μM-约 250μM、约 250μM-约 500μM 或约 500μM-约 1mM。

[0136] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH2 激动剂对包含 SEQ ID NO :2 所示氨基酸序列（图 5B 所示）或 SEQ ID NO :2 的氨基酸 18-517 所示氨基酸序列的 ALDH2 多肽的脱氢酶活性的 EC_{50} 为约 1nM-约 1mM，例如约 1nM-约 10nM、约 10nM-约 15nM、约 15nM-约 25nM、约 25nM-约 50nM、约 50nM-约 75nM、约 75nM-约 100nM、约 100nM-约 150nM、约 150nM-约 200nM、约 200nM-约 250nM、约 250nM-约 300nM、约 300nM-约 350nM、约 350nM-约 400nM、约 400nM-约 450nM、约 450nM-约 500nM、约 500nM-约 750nM、约 750nM-约 1μM、约 1μM-约 10μM、约 10μM-约 25μM、约 25μM-约 50μM、约 50μM-约 75μM、约 75μM-约 100μM、约 100μM-约 250μM、约 250μM-约 500μM 或约 500μM-约 1mM。

[0137] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂对 ALDH1 多肽的酶活性（例如，醛脱氢酶活性、酯酶活性、还原酶活性）的 EC_{50} 为约 1nM-约 1mM，例如约 1nM-约 10nM、约 10nM-约 15nM、约 15nM-约 25nM、约 25nM-约 50nM、约 50nM-约 75nM、约 75nM-约 100nM、约 100nM-约 150nM、约 150nM-约 200nM、约 200nM-约 250nM、约 250nM-约 300nM、约 300

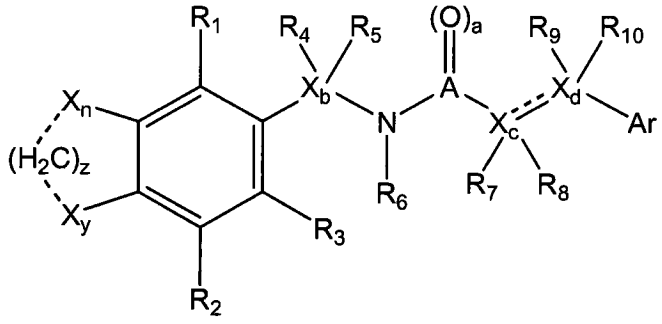
[0138] nM-约 350nM、约 350nM-约 400nM、约 400nM-约 450nM、约 450nM-约 500nM、约 500nM-约 750nM、约 750nM-约 1μM、约 1μM-约 10μM、约 10μM-约 25μM、约 25μM-约 50μM、约 50μM-约 75μM、约 75μM-约 100μM、约 100μM-约 250μM、约 250μM-约 500μM 或约 500μM-约 1mM。

[0139] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂对 ALDH3 多肽的酶活性（例如，醛脱氢酶活性、酯酶活性、还原酶活性）的 EC_{50} 为约 1nM-约 1mM，例如约 1nM-约 10nM、约 10nM-约 15nM、约 15nM-约 25nM、约 25nM-约 50nM、约 50nM-约 75nM、约 75nM-约 100nM、约 100nM-约 150nM、约 150nM-约 200nM、约 200nM-约 250nM、约 250nM-约 300nM、约 300nM-约 350nM、约 350nM-约 400nM、约 400nM-约 450nM、约 450nM-约 500nM、约 500nM-约 750nM、约 750nM-约 1μM、约 1μM-约 10μM、约 10μM-约 25μM、约 25μM-约 50μM、约 50μM-约 75μM、约 75μM-约 100μM、约 100μM-约 250μM、约 250μM-约 500μM 或约 500μM-约 1mM。

[0140] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂对 ALDH5 多肽的酶活性（例如，醛脱氢酶活性、酯酶活性、还原酶活性）的 EC_{50} 为约 1nM-约 1mM，例如约 1nM-约 10nM、约 10nM-约 15nM、约 15nM-约 25nM、约 25nM-约 50nM、约 50nM-约 75nM、约 75nM-约 100nM、约 100nM-约 150nM、约 150nM-约 200nM、约 200nM-约 250nM、约 250nM-约 300nM、约 300nM-约 350nM、约 350nM-约 400nM、约 400nM-约 450nM、约 450nM-约 500nM、约 500nM-约 750nM、约 750nM-约 1μM、约 1μM-约 10μM、约 10μM-约 25μM、约 25μM-约 50μM、约 50μM-约 75μM、约 75μM-约 100μM、约 100μM-约 250μM、约 250μM-约 500μM 或约 500μM-约 1mM。

[0141] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂是以下通式 I 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物：

[0142]



式 I

[0143] 式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素（如 F、Br、Cl 或 I）n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

[0144] …（虚线）是任选的键；z 是整数 0、1 或 2；

[0145] ...是任选的双键；

[0146] R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、R_7、R_8、R_9 和 R_{10} 各自独立选自：H；C；N；O；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；取代或未取代的苯基；脂族基团、烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；和取代或未取代的杂芳基；

[0147] A 是 C 或 S；当 A = C 时，a = 1；当 A = S 时，a = 2；

[0148] X_b 是 C、N、O 或 S；b 是整数 0 或 1；

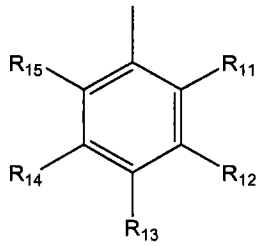
[0149] X_c 是 C、N、O 或 S；c 是整数 0 或 1；

[0150] X_d 是 C、N、O 或 S；d 是整数 0 或 1；和

[0151] Ar 选自：取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基和未取代的杂芳基。

[0152] 例如，在一些实施方式中，式 I 的 Ar 是：

[0153]



[0154] 式中，R_{11}-R_{15} 各自独立选自：H；卤素（如溴、氟、氯、碘）；取代或未取代的苯基；脂族基团，烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；和取代或未取代的杂芳基。在一些实施方式中，式 I 的 Ar 是取代的萘基，例如甲氧基－取代的萘基。

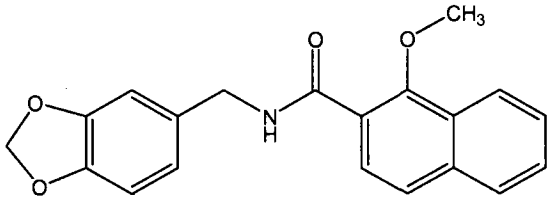
[0155] 在其它实施方式中，式 I 的 Ar 是取代或未取代的杂环基，例如取代或未取代的吡啶、取代或未取代的吡嗪、取代或未取代的嘧啶、取代或未取代的哒嗪、取代或未取代的吡咯、取代或未取代的呋喃、取代或未取代的吡唑、取代或未取代的噁唑、取代或未取代的异噁唑、取代或未取代的噻唑、取代或未取代的咪唑、取代或未取代的噻吩、取代或未取代的喹啉或取代或未取代的异喹啉基。在一些实施方式中，式 I 的 Ar 是取代的噻吩基，例如 2- 羧酸酰胺－取代的噻吩基。

[0156] 在其它实施方式中，式 I 的 Ar 是取代或未取代的杂环基，例如，取代或未取代的吡啶、噻唑、咪唑、噻吩、喹啉、异喹啉或呋喃基团。在一些实施方式中，式 I 的 Ar 是取代的吡啶－氧化物。

[0157] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-52 的结构，如下所示：

[0158] 化合物 Alda-52

[0159]

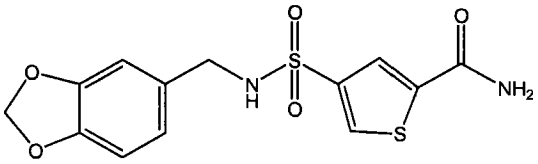


[0160] 化合物 Alda-52：1- 甲氧基 - 萘 -2- 羧酸（苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基甲基）- 酰胺。

[0161] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-59 的结构，如下所示：

[0162] 化合物 Alda-59

[0163]

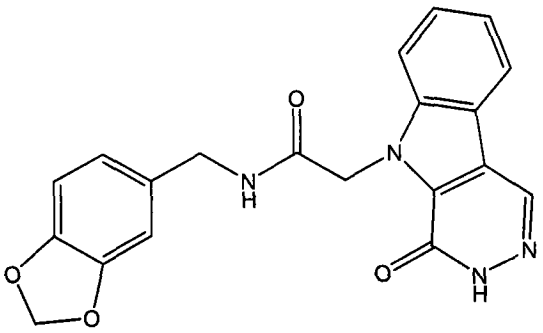


[0164] 化合物 Alda-59：4-[（苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基甲基）- 氨磺酰]- 噻吩 -2- 羧酸酰胺。

[0165] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-72 的结构，如下所示：

[0166] 化合物 Alda-72

[0167]

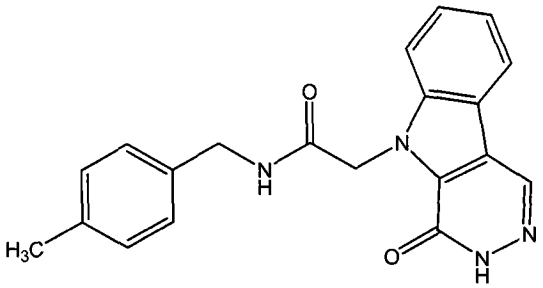


[0168] 化合物 Alda-72：N- 苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基甲基 -2-(1- 氧代 -1,2- 二氢 -2,3,9- 三氮杂 - 芴 -9- 基）- 乙酰胺。

[0169] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-71 的结构，如下所示：

[0170] 化合物 Alda-71

[0171]

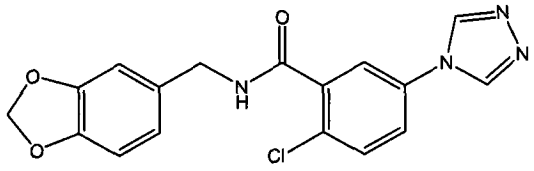


[0172] 化合物 Alda-71 :N-(4- 甲基 - 苄基)-2-(1- 氧代 -1,2- 二氢 -2,3,9- 三氮杂 - 芴 -9- 基)- 乙酰胺。

[0173] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-53 的结构，如下所示 :

[0174] 化合物 Alda-53

[0175]

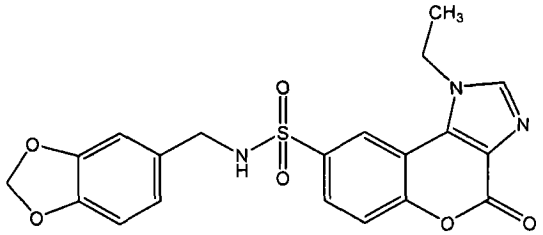


[0176] 化合物 Alda-53 :N- 苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基甲基 -2- 氯 -5-[1,2,4] 三唑 -4- 基 - 苯甲酰胺。

[0177] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-54 的结构，如下所示 :

[0178] 化合物 Alda-54

[0179]

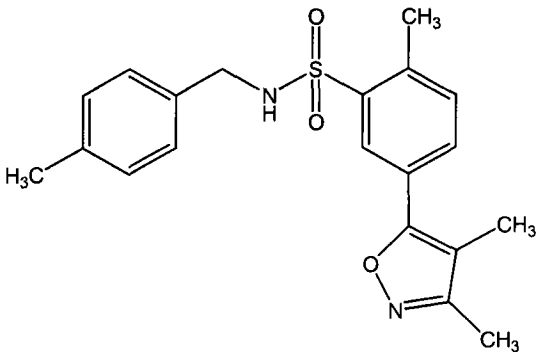


[0180] 化合物 Alda-54 :1- 乙基 -4- 氧代 -1,4- 二氢 - 色原烯 (chromeno)[3,4-d] 咪唑 -8- 磺酸 (苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基甲基)- 酰胺。

[0181] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-61 的结构，如下所示 :

[0182] 化合物 Alda-61

[0183]

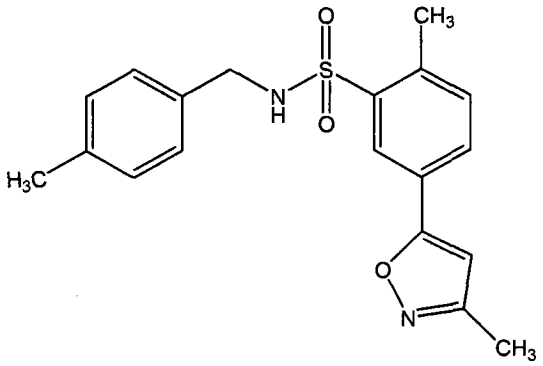


[0184] 化合物 Alda-61 :5-(3,4- 二甲基 - 异噁唑 -5- 基)-2- 甲基 -N-(4- 甲基 - 苄基)- 苯磺酰胺。

[0185] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-60 的结构，如下所示 :

[0186] 化合物 Alda-60

[0187]

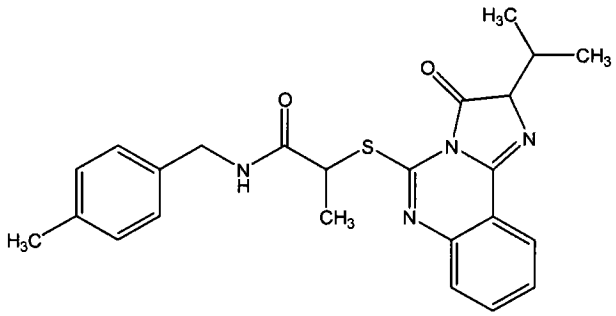


[0188] 化合物 Alda-60 :2- 甲基 -N-(4- 甲基 - 苄基)-5-(3- 甲基 - 异噁唑 -5- 基)- 苯磺酰胺。

[0189] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-66 的结构，如下所示 :

[0190] 化合物 Alda-66

[0191]

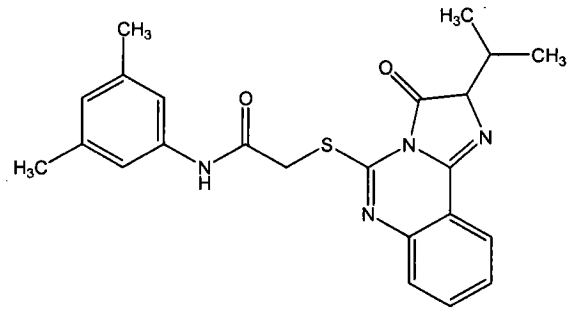


[0192] 化合物Alda-66 :2-(2-异丙基-3-氧代-2,3-二氢-咪唑并[1,2-c]喹唑啉-5-基硫烷基 (sulfanyl))-N-(4- 甲基 - 苄基)- 丙酰胺。

[0193] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-65 的结构，如下所示 :

[0194] 化合物 Alda-65

[0195]

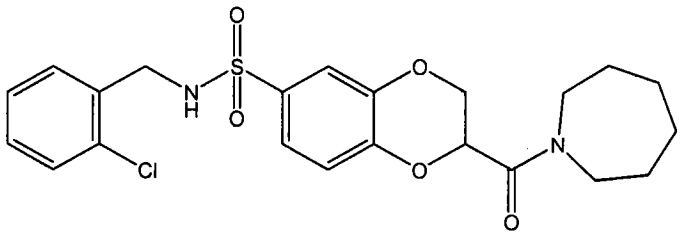


[0196] 化合物 Alda-65 :N-(3,5- 二甲基 - 苯基)-2-(2- 异丙基 -3- 氧代 -2,3- 二氢 - 咪唑并 [1,2-c] 喹唑啉 -5- 基硫烷基)- 乙酰胺。

[0197] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-64 的结构，如下所示 :

[0198] 化合物 Alda-64

[0199]

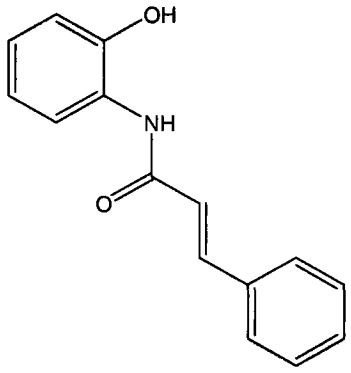


[0200] 化合物 Alda-64 :2-(氮杂环庚烷 -1- 羰基)-N-(2- 氯 - 苄基)-2,3- 二氢 - 苯并 [1,4] 二噁烯 -6- 磺酰胺。

[0201] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-84 的结构，如下所示 :

[0202] 化合物 Alda-84

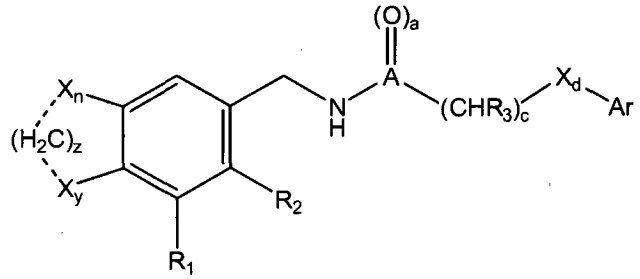
[0203]



[0204] 化合物 Alda-84 :N-(2- 羟基 - 苯基)-3- 苯基 - 丙烯酰胺。

[0205] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂是通式 Ia 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物，如下所示 :

[0206]



式 Ia

[0207] 式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素（如 F、Br、Cl 或 I）；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

[0208] …（虚线）是任选的键；

[0209] z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

[0210] 其中 A = C 或 S，并且当 A = C 时 a = 1；当 A = S 时 a = 2；

[0211] R_1、R_2 和 R_3 各自独立选自：H；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；脂族基团、烷基；取代的烷基；取代或未取代的烯基；和取代或未取代的炔基；

[0212] C 是整数 0 或 1；

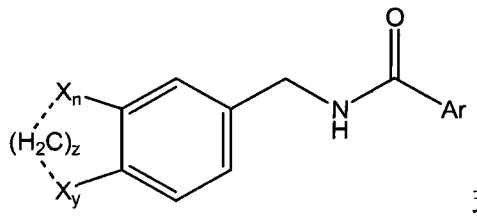
[0213] X_d 是 C、N、O 或 S；d 是整数 0 或 1；和

[0214] Ar 选自：取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基和未取代的杂芳基。

[0215] 在一些实施方式中，以下化合物是示范性的非限制性式 Ia 所示化合物：Alda-52、Alda-59、Alda-72、Alda-71、Alda-53、Alda-54、Alda-61、Alda-60、Alda-66 和 Alda-64。

[0216] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂是子通式 Ib 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物，如下所示：

[0217]



式 Ib

[0218] 式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素（如 F、Br、Cl 或 I）；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

[0219] …（虚线）是任选的键；

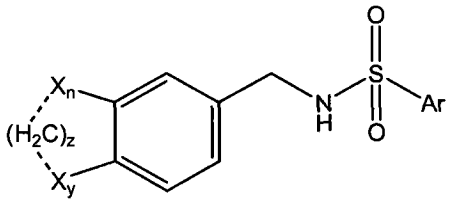
[0220] z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

[0221] Ar 选自：取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基和未取代的杂芳基。

[0222] 在一些实施方式中，以下化合物是示范性的非限制性式 Ib 所示化合物：Alda-52 和 Alda-53。

[0223] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂是子通式 Ic 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物，如下所示：

[0224]



式 Ic

[0225] 式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素（如 F、Br、Cl 或 I）；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

[0226] …（虚线）是任选的键；

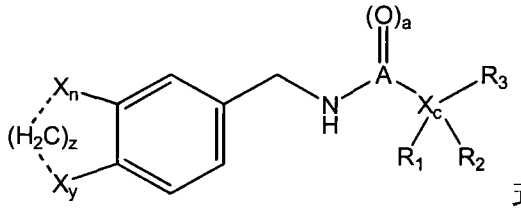
[0227] z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

[0228] Ar 选自：取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基和未取代的杂芳基。

[0229] 在一些实施方式中，以下化合物是示范性的非限制性式 Ic 所示化合物：Alda-59、Alda-60、Alda-61 和 Alda-64。

[0230] 在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂是子通式 Id 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物，如下所示：

[0231]



式 Id

[0232] 式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素（如 F、Br、Cl 或 I）；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

[0233] …（虚线）是任选的键；

[0234] z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

[0235] 其中 A = C 或 S，并且当 A = C 时 a = 1；当 A = S 时 a = 2；

[0236] Xc 是 C、N、O 或 S；c 是整数 0 或 1；和

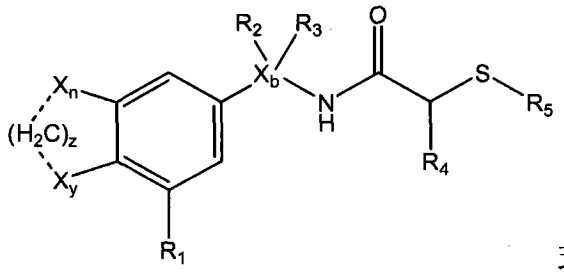
[0237] R_1 和 R_2 各自独立选自：H；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；脂族基团、烷基；取代的烷基；取代或未取代的烯基；和取代或未取代的炔基；

[0238] R_3 选自：取代的多环基团、未取代的多环基团、取代的杂多环基团和未取代的杂多环基团。

[0239] 在一些实施方式中，以下化合物是示范性的非限制性式 Id 所示化合物：Alda-71、Alda-72 和 Alda-54。

[0240] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂是子通式 Ie 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物，如下所示：

[0241]



式 Ie

[0242] 式中 X_n 和 X_y 各自独立地是 H、C、N、O 或卤素（如 F、Br、Cl 或 I）；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

[0243] …（虚线）是任选的键；

[0244] z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

[0245] X_b 是 C、N、O 或 S；c 是整数 0 或 1；和

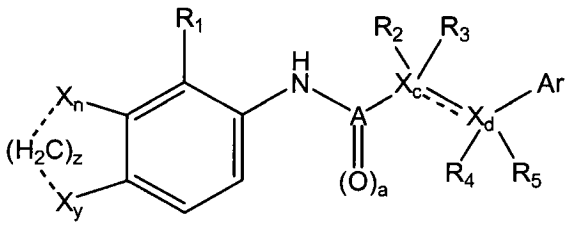
[0246] R_1、R_2、R_3 和 R_4 各自独立选自：H；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；脂族基团、烷基；取代的烷基；取代或未取代的烯基；和取代或未取代的炔基；

[0247] R_5 选自：取代的多环基团、未取代的多环基团、取代的杂多环基团和未取代的杂多环基团。

[0248] 在一些实施方式中，以下化合物是示范性的非限制性式 Ie 所示化合物：Alda-65 和 Alda-66。

[0249] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂是子通式 If 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物，如下所示：

[0250]



式 If

[0251] 式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素（如 F、Br、Cl 或 I）；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

[0252] …（虚线）是任选的键；

[0253] z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

[0254] …是任选的双键；

[0255] 其中 A = C 或 S，并且当 A = C 时 a = 1；当 A = S 时 a = 2；

[0256] R_1、R_2、R_3、R_4 和 R_5 各自独立选自：H；-OH；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；脂族基团、烷基；取代的烷基；取代或未取代的烯基；和取代或未取代的炔基；

[0257] X_c 是 C、N、O 或 S；c 是整数 0 或 1；

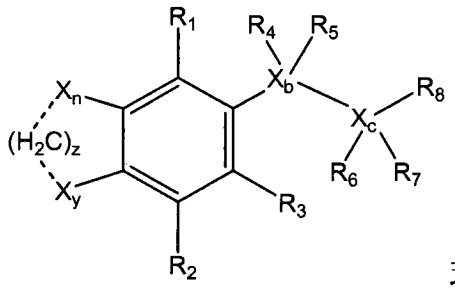
[0258] X_d 是 C、N、O 或 S；c 是整数 0 或 1；和

[0259] Ar 选自：取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基和未取代的杂芳基。

[0260] 示范性的非限制性的式 If 所示化合物是 Alda-84。

[0261] 在一些实施方式中，本发明的ALDH激动剂是通式II所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物，如下所示：

[0262]



式 II

[0263] 式中 X_n 和 X_y 各自独立为H、C、N、O或卤素（如F、Br、Cl或I）；n是整数0或1；y是整数0或1；

[0264] …（虚线）是任选的键；z是整数0、1或2；

[0265] 式中 R_1-R_7 各自独立选自：H；卤素（如溴、氟、氯、碘）；取代或未取代的苯基；脂族基团，烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；和取代或未取代的杂芳基；

[0266] X_b 是C、N、O或S；b是整数0或1；

[0267] X_c 是C、N、O或S；c是整数0或1；和

[0268] R_8 选自：取代或未取代的苯基；脂族基团、烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；取代或未取代的杂芳基；取代或未取代的双环基团；取代或未取代的杂双环基团；取代或未取代的多环基团；和取代或未取代的杂多环基团。

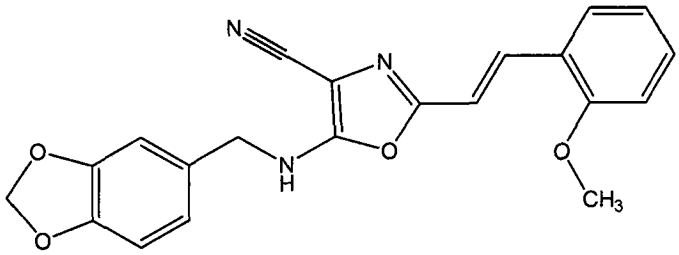
[0269] 例如，在一些实施方式中，式II的 R_8 是取代或未取代的杂环基，例如取代或未取代的吡啶、取代或未取代的吡嗪、取代或未取代的嘧啶、取代或未取代的哒嗪、取代或未取代的吡咯、取代或未取代的呋喃、取代或未取代的吡唑、取代或未取代的**噁**唑、取代或未取代的异**噁**唑、取代或未取代的噻唑、取代或未取代的咪唑、取代或未取代的噻吩、取代或未取代的喹啉、或取代或未取代的异喹啉基团。在一些实施方式中，式II的 R_8 是取代的吡咯烷-2-酮基团、取代的吡咯并[2,3-d]嘧啶基团、取代的吡唑并[3,4-d]嘧啶基团、取代的吡嗪-2-酮基团、或取代的4,5,6,7-四氢-四唑并[1,5-a]嘧啶基团。

[0270] 在其它实施方式中，式II的 R_8 是取代或未取代的杂环基，例如取代或未取代的吡啶、噻唑、咪唑、噻吩、喹啉、异喹啉或呋喃基团。在一些实施方式中，式II的 R_8 是取代的吡啶-氧化物。

[0271] 在一些实施方式中，本发明的ALDH激动剂具有化合物Alda-58的结构，如下所示：

[0272] 化合物Alda-58

[0273]

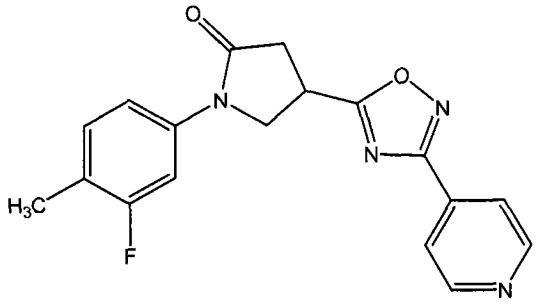


[0274] 化合物 Alda-58 :5-[(苯并[1,3]间二氧杂环戊烯-5-基甲基)-氨基]-2-[2-(2-甲氧基-苯基)-乙烯基]-噁唑-4-腈。

[0275] 在一些实施方式中,本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-70 的结构,如下所示 :

[0276] 化合物 Alda-70

[0277]

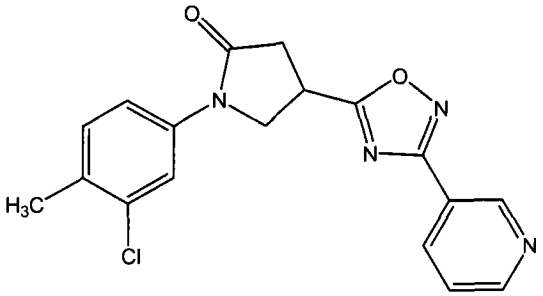


[0278] 化合物 Alda-70 :1-(3-氟-4-甲基-苯基)-4-(3-吡啶-4-基-[1,2,4]噁二唑-5-基)-吡咯烷-2-酮。

[0279] 在一些实施方式中,本发明 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-69 的结构,如下所示 :

[0280] 化合物 Alda-69

[0281]

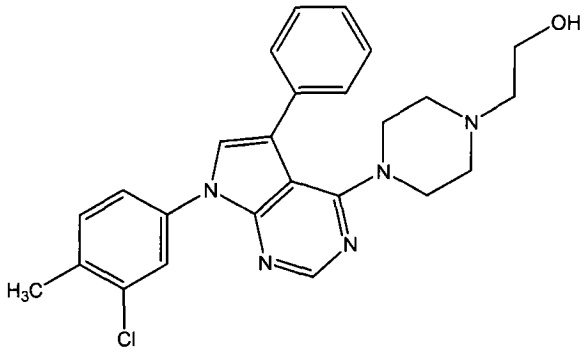


[0282] 化合物 Alda-69 :1-(3-氯-4-甲基-苯基)-4-(3-吡啶-3-基-[1,2,4]噁二唑-5-基)-吡咯烷-2-酮。

[0283] 在一些实施方式中,本发明 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-73 的结构,如下所示 :

[0284] 化合物 Alda-73

[0285]

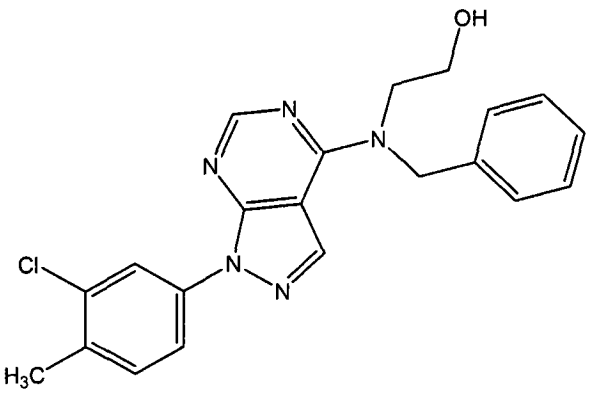


[0286] 化合物 Alda-73 :2-{4-[7-(3- 氯 -4- 甲基 - 苯基)-5- 苯基 -7H- 吡咯并 [2,3-d] 嘧啶 -4- 基]- 哌嗪 -1- 基 }- 乙醇。

[0287] 在一些实施方式中,本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-67 的结构,如下所示 :

[0288] 化合物 Alda-67

[0289]

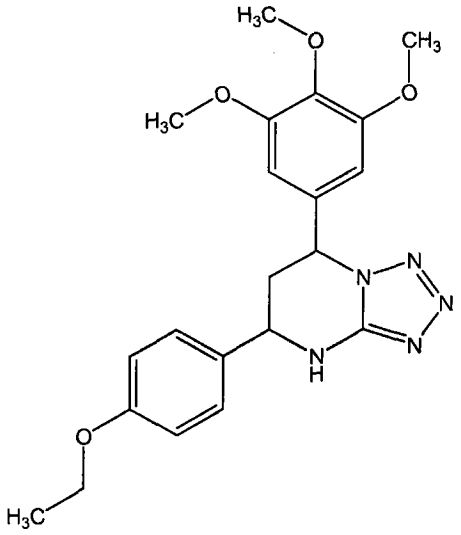


[0290] 化合物 Alda-67 :2-{ 苄基 -[1-(3- 氯 -4- 甲基 - 苯基)-1H- 吡咯并 [3,4-d] 嘧啶 -4- 基]- 氨基 }- 乙醇。

[0291] 在一些实施方式中,本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-68 的结构,如下所示 :

[0292] 化合物 Alda-68

[0293]

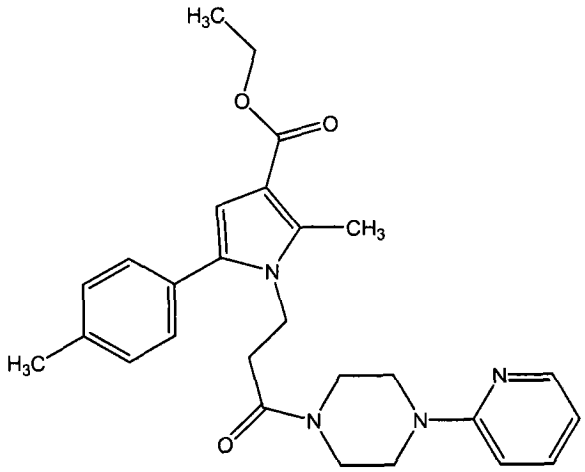


[0294] 化合物 Alda-68 :5-(4- 乙氧基 - 苯基)-7-(3,4,5- 三甲氧基 - 苯基)-4,5,6,7- 四氢 - 四唑并 [1,5-a] 嘧啶。

[0295] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-56 的结构，如下所示 :

[0296] 化合物 Alda-56

[0297]

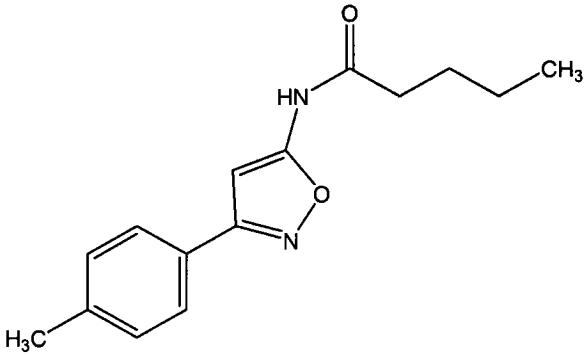


[0298] 化合物 Alda-56 :2- 甲基 -1-[3- 氧代 -3-(4- 吡啶 -2- 基 - 哌嗪 -1- 基)- 丙基]-5- 对 - 甲苯基 -1H- 吡咯 -3- 羧酸乙酯。

[0299] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-57 的结构，如下所示 :

[0300] 化合物 Alda-57

[0301]

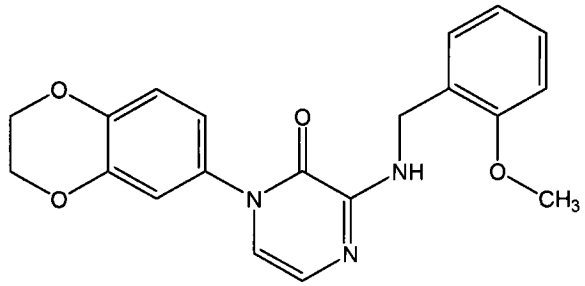


[0302] 化合物 Alda-57 :戊酸 (3- 对 - 甲苯基 - 异噁唑 -5- 基)- 酰胺。

[0303] 在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-63 的结构，如下所示 :

[0304] 化合物 Alda-63

[0305]

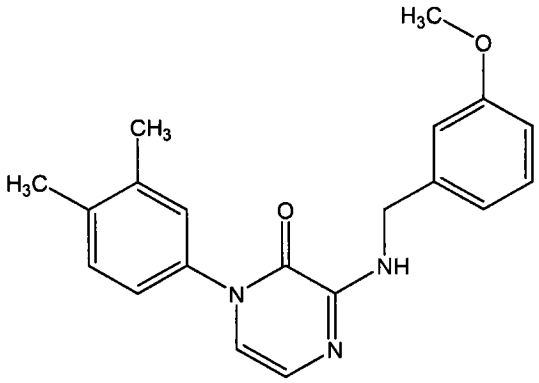


[0306] 化合物 Alda-63 :1-(2,3- 二氢 - 苯并 [1,4] 二噁烯 -6- 基)-3-(2- 甲氧基 - 苄基氨基)-1H- 吡嗪 -2- 酮。

[0307] 在一些实施方式中,本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-62 的结构,如下所示 :

[0308] 化合物 Alda-62

[0309]

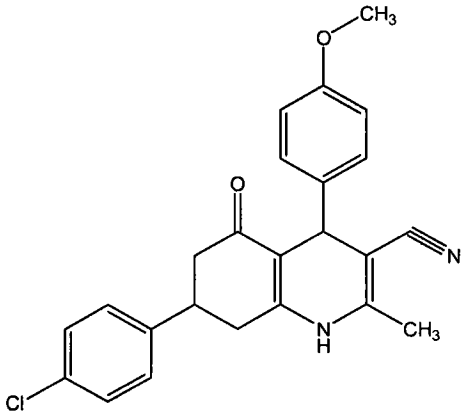


[0310] 化合物 Alda-62 :1-(3,4- 二甲基 - 苯基)-3-(3- 甲氧基 - 苄基氨基)-1H- 吡嗪 -2- 酮。

[0311] 在一些实施方式中,本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-83 的结构,如下所示 :

[0312] 化合物 Alda-83

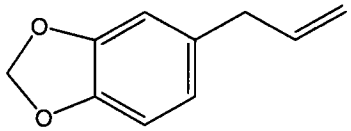
[0313]



[0314] 化合物 Alda-83 :7-(4- 氯 - 苯基)-4-(4- 甲氧基 - 苯基)-2- 甲基 -5- 氧代 -1,4,5,6,7,8- 六氢 - 喹啉 -3- 腈。

[0315] 在一些实施方式中,本发明的 ALDH 激动剂具有黄樟素的结构,如下所示 :

[0316]



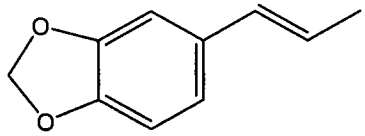
[0317] 黄樟素是 5-(2- 丙烯基)-1,3- 苯并间二氧杂环戊烯。

[0318] 在一些实施方式中,专门排除黄樟素 (5-(2- 丙烯基)-1,3- 苯并间二氧杂环戊烯)。

[0319] 在一些实施方式中,本发明的 ALDH 激动剂具有异黄樟素的结构,如下所示 :

[0320] 异黄樟素

[0321]

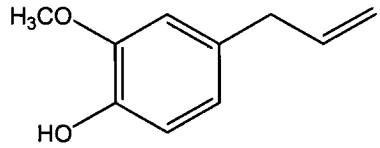


[0322] 异黄樟素是5-丙烯基-苯并[1,3]间二氧杂环戊烯。在一些实施方式中，专门排除异黄樟素。

[0323] 在一些实施方式中，本发明的ALDH激动剂具有丁子香酚的结构，如下所示：

[0324] 丁子香酚

[0325]

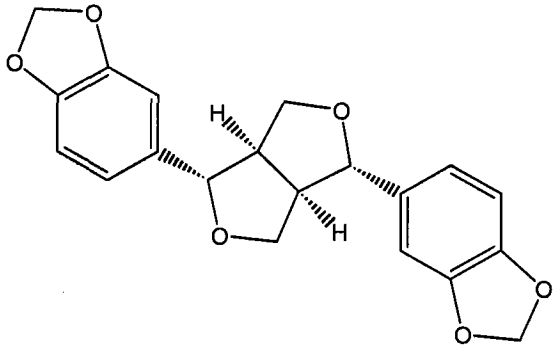


[0326] 丁子香酚是4-烯丙基-2-甲氧基-苯酚。在一些实施方式中，专门排除丁子香酚。

[0327] 在一些实施方式中，本发明ALDH激动剂具有芝麻素的结构，如下所示：

[0328] 芝麻素

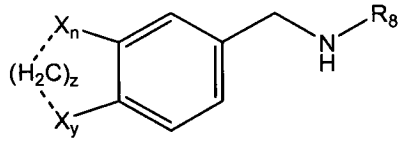
[0329]



[0330] 芝麻素是5,5'-(1S,3aR,4S,6aR)-四氢-1H,3H-呋喃并[3,4-c]呋喃-1,4-二基二(1,3-苯并间二氧杂环戊烯)。在一些实施方式中，专门排除芝麻素。

[0331] 在一些实施方式中，本发明的ALDH激动剂是子通式IIa所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物，如下所示：

[0332]



式IIa

[0333] 式中X_n和X_y各自独立为H、C、N、O或卤素(如F、Br、Cl或I)；n是整数0或1；y是整数0或1；

[0334] …(虚线)是任选的键；

[0335] z是整数0、1或2，限制条件是：1)X＝卤素和…不是键时，z＝0；和2)z＝0、X＝O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子(X)时，氧连接于甲基；

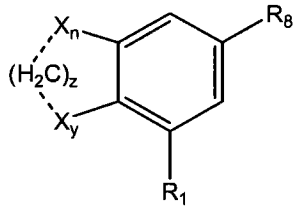
[0336] R_8选自：取代的芳基；未取代的芳基；取代的杂芳基；和未取代的杂芳基。

[0337] 在一些实施方式中，以下化合物是示范性的非限制性式IIa所示化合物：

Alda-58。

[0338] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂是子通式 IIb 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物，如下所示：

[0339]



式 IIb

[0340] 式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素（如 F、Br、Cl 或 I）；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

[0341] …（虚线）是任选的键；

[0342] z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

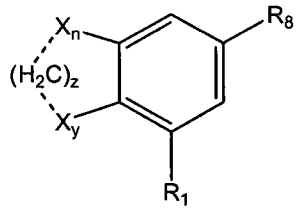
[0343] R_1 选自：H；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；脂族基团、烷基；取代的烷基；取代或未取代的烯基；和取代或未取代的炔基；

[0344] R_8 选自：取代的环状基团、未取代的环状基团、取代的杂环基和未取代的杂环基。

[0345] 在一些实施方式中，以下化合物是示范性的非限制性式 IIb 所示化合物：Alda-69、Alda-70、Alda-62 和 Alda-63。

[0346] 在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂是子通式 IIc 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物，如下所示：

[0347]



式 IIc

[0348] 式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素（如 F、Br、Cl 或 I）；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

[0349] …（虚线）是任选的键；

[0350] z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

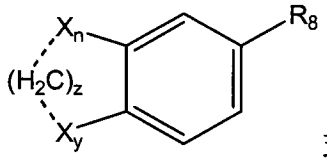
[0351] R_1 选自：H；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；脂族基团、烷基；取代的烷基；取代或未取代的烯基；和取代或未取代的炔基；

[0352] R_8 选自：取代的双环基团、未取代的双环基团、取代的杂双环基团和未取代的杂双环基团。

[0353] 在一些实施方式中，以下化合物是示范性的非限制性式 IIc 所示化合物：Alda-67、Alda-68、Alda-73、Alda-83 和芝麻素。

[0354] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂是子通式 IId 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物，如下所示：

[0355]



式 IId

[0356] 式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素（如 F、Br、Cl 或 I）；n 是整数 0 或 1；y 是整数 0 或 1；

[0357] …（虚线）是任选的键；

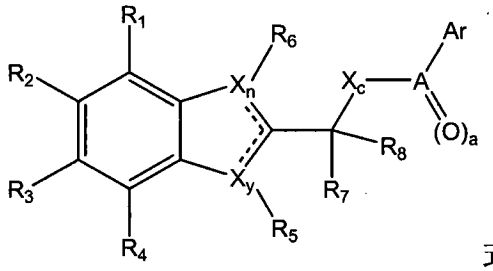
[0358] z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X = 卤素和…不是键时，z = 0；和 2) z = 0、X = O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

[0359] R_8 选自：取代的芳基、未取代的芳基、取代的杂芳基和未取代的杂芳基。

[0360] 在一些实施方式中，以下化合物是示范性的非限制性式 IId 所示化合物：Alda-56 和 Alda-57。

[0361] 在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂是通式 III 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物，如下所示：

[0362]



式 III

[0363] 式中 X_n 和 X_y 各自独立为 C、N、O 或 S；n 是整数 0、1 或 2；y 是整数 0、1 或 2；

[0364] ...是任选的双键；

[0365] R_1、R_2、R_3、R_4、R_5、R_6、R_7 和 R_8 各自独立选自：H；C；N；O；卤素（例如，溴、氟、氯、碘）；取代或未取代的苯基；脂族基团、烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；和取代或未取代的杂芳基；

[0366] 其中 A 是 C 或 S；并且当 A = C 时 a = 1；当 A = S 时 a = 2；

[0367] X_c 是 C、N、O 或 S；c 是整数 0 或 1；

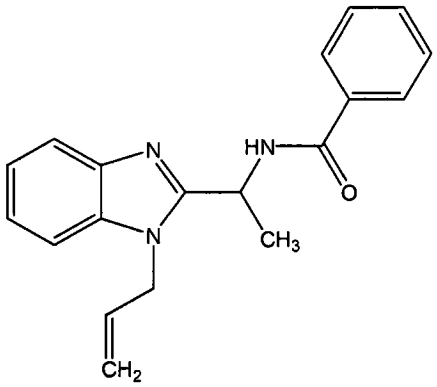
[0368] Ar 选自：取代或未取代的苯基；脂族基团、烷基；取代的烷基；烯基；炔基；取代或未取代的环状基团；取代或未取代的杂环基；取代或未取代的芳基；取代或未取代的杂芳基；取代或未取代的双环基团；取代或未取代的杂双环基团；取代或未取代的多环基团；和取代或未取代的杂多环基团。

[0369] 例如，在一些实施方式中，式 III 的 Ar 是取代或未取代的杂环基，例如取代或未取代的吡啶、取代或未取代的吡嗪、取代或未取代的嘧啶、取代或未取代的哒嗪、取代或未取代的吡咯、取代或未取代的呋喃、取代或未取代的吡唑、取代或未取代的噁唑、取代或未取代的异噁唑、取代或未取代的噻唑、取代或未取代的咪唑、取代或未取代的噻吩、取代或未取代的喹啉或取代或未取代的异喹啉基团。

[0370] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有化合物 Alda-81 的结构，如下所示：

[0371] 化合物 Alda-81

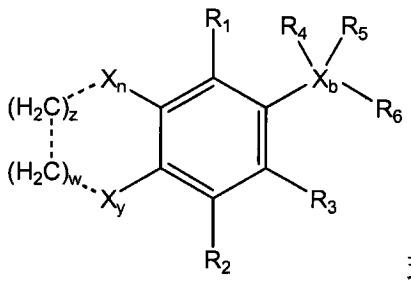
[0372]



[0373] 化合物 Alda-81 :N-[1-(1- 烯丙基 -1H- 苯并咪唑 -2- 基)- 乙基]- 苯甲酰胺。

[0374] 在一些实施方式中,本发明的 ALDH 激动剂是通式 IV 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物,如下所示 :

[0375]



式 IV

[0376] 式中 X_n 和 X_y 各自独立为 C、N、O 或 S ;n 是整数 0、1 或 2 ;y 是整数 0、1 或 2 ;

[0377] …(虚线) 是任选的键 ;

[0378] z 是整数 0 或 1,前提是 :1)X = 卤素和…不是键时,z = 0 ;和 2)z = 0、X = O、…不是键,并且存在一个或多个氧原子 (X) 时,氧连接于甲基 ;

[0379] w 是整数 0 或 1,前提是 :1)X = 卤素和…不是键时,w = 0 ;和 2) 当 w = 0、X = O、…不是键,并且存在一个或多个氧原子 (X) 时,氧连接于甲基 ;

[0380] R_1、R_2、R_3、R_4 和 R_5 各自独立选自 :H ;C ;N ;O ;卤素 (例如,溴、氟、氯、碘) ;取代或未取代的烷氧基、取代或未取代的胺基、取代或未取代的苯基 ;脂族基团、烷基 ;取代的烷基 ;烯基 ;炔基 ;取代或未取代的环状基团 ;取代或未取代的杂环基 ;取代或未取代的芳基 ;和取代或未取代的杂芳基 ;

[0381] X_b 是 C、N、O 或 S ;b 是整数 0 或 1 ;

[0382] R_6 选自 :取代或未取代的苯基 ;脂族基团、烷基 ;取代的烷基 ;烯基 ;炔基 ;取代或未取代的环状基团 ;取代或未取代的杂环基 ;取代或未取代的芳基 ;取代或未取代的杂芳基 ;取代或未取代的双环基团 ;取代或未取代的杂双环基团 ;取代或未取代的多环基团 ;和取代或未取代的杂多环基团。

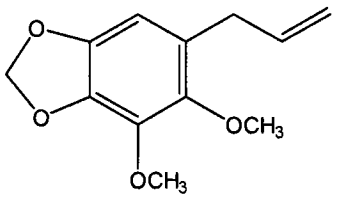
[0383] 例如,在一些实施方式中,式 IV 的 R_6 是取代或未取代的烯基,例如取代或未取代的乙烯基、取代或未取代的丙烯基、取代或未取代的烯丙基等。

[0384] 在一些实施方式中,本发明的 ALDH 激动剂具有莳萝脑 (dillapiol) 的结构,如下

所示：

[0385] 蒔萝脑

[0386]

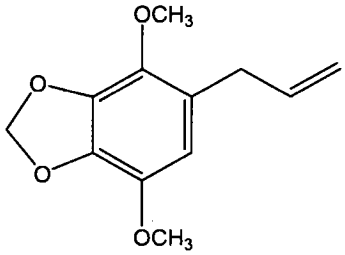


[0387] 蒔萝脑是 6- 烯丙基 -4,5- 二甲氧基 - 苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯。在一些实施方式中，专门排除蒔萝脑。

[0388] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有芹菜脑 (Apiol) 的结构，如下所示：

[0389] 芹菜脑

[0390]

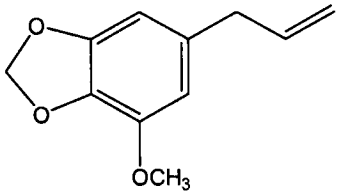


[0391] 芹菜脑是 5- 烯丙基 -4,7- 二甲氧基 - 苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯。在一些实施方式中，专门排除芹菜脑。

[0392] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有肉豆蔻醚 (Myristicin) 的结构，如下所示：

[0393] 肉豆蔻醚

[0394]

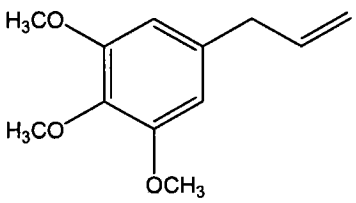


[0395] 肉豆蔻醚是 4- 甲氧基 -6- 丙 -2- 烯基 - 苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯。在一些实施方式中，专门排除肉豆蔻醚。

[0396] 在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂具有榄香素 (Elemicin) 的结构，如下所示：

[0397] 榄香素

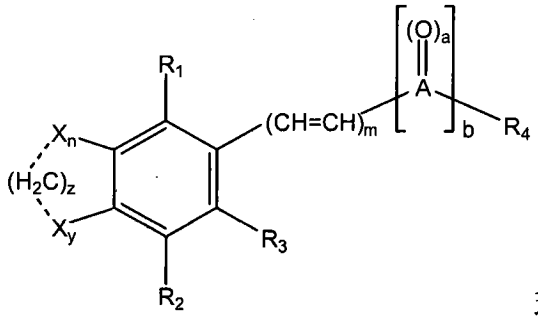
[0398]



[0399] 榄香素是5-烯丙基-1,2,3-三甲氧基-苯。在一些实施方式中,专门排除榄香素。

[0400] 在一些实施方式中,本发明的ALDH激动剂是通式V所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物,如下所示:

[0401]



式V

[0402] 式中X_n和X_y各自独立为C、N、O或S;n是整数0、1或2;y是整数0、1或2;

[0403] …(虚线)是任选的键;

[0404] z是整数0或1,前提是:1)X=卤素和…不是键时,z=0;和2)z=0、X=O、…不是键,并且存在一个或多个氧原子(X)时,氧连接于甲基;

[0405] R_1、R_2和R_3各自独立选自:H;C;N;O;卤素(例如,溴、氟、氯、碘);取代或未取代的烷氧基、取代或未取代的胺基、取代或未取代的苯基;脂族基团、烷基;取代的烷基;烯基;炔基;取代或未取代的环状基团;取代或未取代的杂环基;取代或未取代的芳基;和取代或未取代的杂芳基;

[0406] m是整数1-10;

[0407] 其中A是C或S;并且当A=C时a=1;当A=S时a=2;

[0408] b是整数0或1;

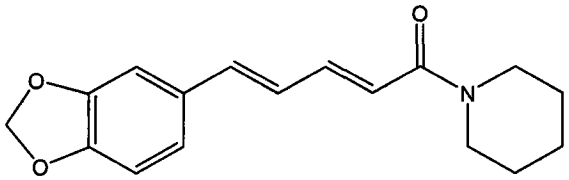
[0409] R_4选自:羟基、胺基、取代或未取代的苯基;脂族基团、烷基;取代的烷基;烯基;炔基;取代或未取代的环状基团;取代或未取代的杂环基;取代或未取代的芳基;取代或未取代的杂芳基;取代或未取代的双环基团;取代或未取代的杂双环基团;取代或未取代的多环基团;和取代或未取代的杂多环基团。

[0410] 例如,在一些实施方式中,式V的R_4是取代或未取代的杂环基,例如取代或未取代的哌啶、取代或未取代的吡喃、取代或未取代的吡喃酮、取代或未取代的吡啶、取代或未取代的吡嗪、取代或未取代的嘧啶、取代或未取代的哒嗪、取代或未取代的吡咯、取代或未取代的呋喃、取代或未取代的吡唑、取代或未取代的**噁**唑、取代或未取代的异**噁**唑、取代或未取代的噻唑、取代或未取代的咪唑、取代或未取代的噻吩、取代或未取代的喹啉、或取代或未取代的异喹啉基团。

[0411] 在一些实施方式中,本发明的ALDH激动剂具有胡椒碱(Piperine)的结构,如下所示:

[0412] 胡椒碱

[0413]

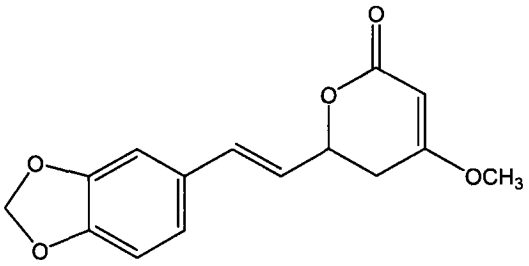


[0414] 胡椒碱是 1-[5-(1,3- 苯并间二氧杂环戊烯 -5- 基)-1- 氧代 -2,4- 戊二烯基] 哌啶。在一些实施方式中，专门排除胡椒碱。

[0415] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有醉人素的结构，如下所示 ：

[0416] 醉人素

[0417]

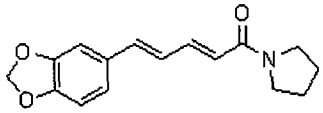


[0418] 醉人素是 6-(2- 苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基 - 乙烯基)-4- 甲氧基 -5,6- 二氢 - 吡喃 -2- 酮。在一些实施方式中，专门排除醉人素。

[0419] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有以下结构 (Alda-101) ：

[0420]

Alda-101



$C_{16}H_{17}NO_3$

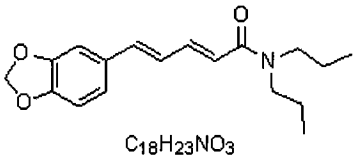
精确质量：271.12

摩尔重量：271.31

[0421] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有以下结构 (Alda-102) ：

[0422] Alda-102

[0423]



$C_{18}H_{23}NO_3$

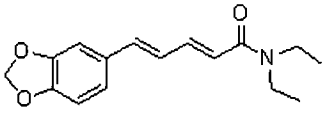
精确质量：301.17

摩尔重量：301.38

[0424] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有以下结构 (Alda-103) ：

[0425]

Alda-103



$C_{16}H_{19}NO_3$

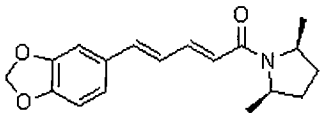
精确质量：273.14

摩尔重量：273.33

[0426] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有以下结构 (Alda-104a) ：

[0427]

Alda-104a



$C_{18}H_{21}NO_3$

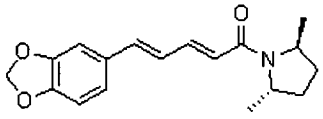
精确质量：299.15

摩尔重量：299.36

[0428] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有以下结构 (Alda-104b)：

[0429]

Alda-104b



$C_{18}H_{21}NO_3$

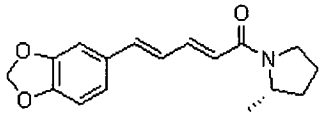
精确质量：299.15

摩尔重量：299.36

[0430] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有以下结构 (Alda-105)：

[0431]

Alda-105



$C_{17}H_{19}NO_3$

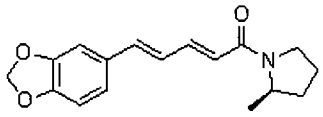
精确质量：285.14

摩尔重量：285.34

[0432] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有以下结构 (Alda-106)：

[0433]

Alda-106



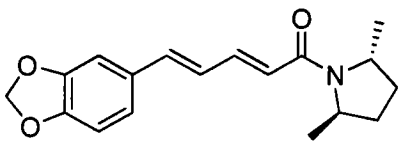
$C_{17}H_{19}NO_3$

[0434] 精确质量 :285.14

[0435] 摩尔重量 :285.34

[0436] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有以下结构 (Alda-108)：

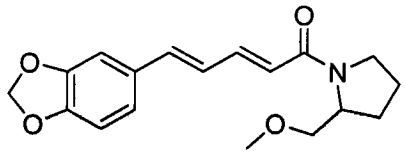
[0437]



(Alda-108)。

[0438] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有以下结构 (Alda-109)：

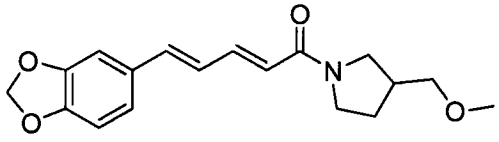
[0439]



(Alda-109)。

[0440] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有以下结构 (Alda-110)：

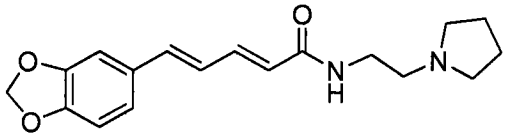
[0441]



(Alda-110)。

[0442] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有以下结构 (Alda-111)：

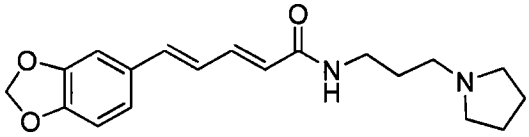
[0443]



(Alda-111)。

[0444] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有以下结构 (Alda-112)：

[0445]

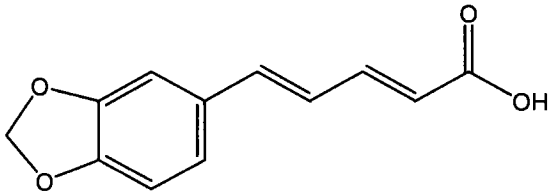


(Alda-112)。

[0446] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂具有 5- 苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基 - 戊 -2,4- 二烯酸的结构，如下所示：

[0447] 5- 苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基 - 戊 -2,4- 二烯酸

[0448]

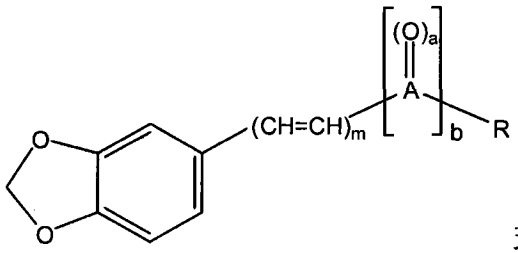


。

[0449] 在一些实施方式中，专门排除 5- 苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基 - 戊 -2,4- 二烯酸。

[0450] 在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂是通式 Va 所示化合物，如下所示：

[0451]



式 Va

[0452] 式中 m 是整数 1-10；

[0453] 其中 A 是 C 或 S；并且当 A = C 时 a = 1；当 A = S 时 a = 2；

[0454] b 是整数 0 或 1 ;

[0455] R 选自 :取代或未取代的苯基 ;脂族基团、烷基 ;取代的烷基 ;烯基 ;炔基 ;取代或未取代的环状基团 ;取代或未取代的杂环基 ;取代或未取代的芳基 ;取代或未取代的杂芳基 ;取代或未取代的双环基 ;取代或未取代的杂双环基 ;取代或未取代的多环基 ;和取代或未取代的杂多环基。

[0456] 在一些实施方式中,以下化合物是示范性的非限制性式 Va 所示化合物 :胡椒碱和醉人素。

[0457] 在某些实施方式中,从式 Va 所示化合物中专门排除 5- 苯并 [1,3] 间二氧杂环戊烯 -5- 基 - 戊 -2,4- 二烯酸。

[0458] 化合物是否是 ALDH 激动剂不难确定。本领域知道 ALDH 脱氢酶活性的试验,可采用任何已知的试验。脱氢酶试验的例子可参见各种出版物,包括,例如 Sheikh 等 .((1997)J.Biol.Chem.272 :18817-18822) ;Vallari 和 Pietruszko(1984)J.Biol.Chem.259 :4922 ;和 Farres 等 .((1994)J.Biol.Chem.269 :13854-13860)。

[0459] 脱氢酶活性试验的一个例子是,25℃,在 50mM 焦磷酸钠 HCl 缓冲液 pH 9.0 ;100mM 磷酸钠缓冲液 pH 7.4 或 50mM 磷酸钠缓冲液 pH 7.4 中,测定 ALDH 的醛脱氢酶活性,所述缓冲液包含 NAD^+(例如,0.8mM NAD^+ 或更高,例如 1mM、2mM 或 5mM NAD^+) 和醛底物,例如 14μM 丙醛。用分光光度计在 340nm 处监测 NAD^+ 的还原,或通过荧光显微光度计测定荧光增量监测 NAD^+ 的还原。可采用标准分光光度法测定酶活性,例如通过在 340nm 处检测烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD^+) 的氧化形式向其还原形式 (NADH) 的还原反应,如 US 2005/0171043 和 WO 2005/057213 所述,图 4 是其示意图。在一示范性试验中,反应如下进行 :25℃,在 0.1 焦磷酸钠 (NaPPi) 缓冲液 pH 9.0 中含 2.4mM NAD^+ 和 10mM 乙醛作为底物。通过 NAD^+ 向 NADH 的还原反应,在 340nm 处检测酶活性,如 US 2005/0171043 和 WO 2005/057213 所述。或者,使产生的 NADH 与消耗 NADH 的另一酶反应偶联,而提供可检测信号。此类酶反应的一个例子是基于黄递酶的反应,该反应可将刃天青 (resazurin) 还原成其被氧化的发荧光化合物试卤灵 (resorufin),如 US 2005/0171043 和 WO 2005/057213 所述,图 4 是其示意图。在 590nm 处检测荧光试卤灵可为 ALDH 醛脱氢酶活性的任何改变提供放大的更灵敏的信号。该试验可用 $NADP^+$ 替代 NAD^+。在一些实施方式中,采用图 4 所述底物以外的底物。合适的底物包括但不限于 :辛醛、苯乙醛、视黄醛和 4- 羟基壬醛。虽然图 4 所述反应显示采用了纯化的 ALDH2,但可采用其它 ALDH 多肽 (例如,ALDH1、ALDH3、ALDH5 等)。可纯化该试验所用的酶 (例如,至少约 75%纯、至少约 80%纯、至少约 85%纯、至少约 90%纯、至少约 95%纯、至少约 98%纯或至少约 99%纯)。该试验也可采用重组 ALDH 酶。

[0460] 另一个例子,可按 Wierzchowski 等 .((1996)Analytica Chimica Acta 319 :209) 所述测定某化合物对 ALDH 多肽的醛脱氢酶活性的影响,采用合成的荧光底物,例如 7- 甲氧基 -1- 萘醛。例如,此反应可包括 7- 甲氧基 -1- 萘醛、NAD^+、ALDH 多肽和待测试的 ALDH 激动剂 ;检测荧光 (激发 330nm ;发射 390nm) 作为酶活性的读数。

[0461] 可采用酯酶活性的任何已知试验测定某化合物是否能提高 ALDH 多肽的酯酶活性。例如,可在室温下,不加或加入 NAD^+,在含 800μM 对 - 硝基苯基乙酯作为底物的 25mM N,N- 二 (2- 羟乙基)-2- 氨基乙磺酸 (BES)(pH 7.5) 中,通过在 400nm 处监测对 - 硝基苯酚形成的速率来测定 ALDH 的酯酶活性。可利用硝基苯酚在 400nm 处的 pH- 依赖性摩尔消

光系数 16mM^{-1}cm^{-1}。参见，例如 Larson 等 .(2007)J.Biol.Chem.282 :12940)。可在含 1mM 对 - 硝基苯基乙酯作为底物的 50mM Pipes(pH 7.4) 中，通过在 400nm 处检测对 - 硝基苯酚形成的速率来测定 ALDH2 的酯酶活性。可利用对 - 硝基苯酚盐在 400nm 处的摩尔消光系数 18.3×10^{3}M^{-1}cm^{-1} 来计算其形成速率。参见，例如 Ho 等 .(2005)Biochemistry 44 :8022)。

[0462] 可采用还原酶活性的任何已知试验测定某化合物是否能提高 ALDH 的还原酶活性。可采用放射标记底物，用薄层层析 (TLC) 或液体闪烁光谱法，通过检测 1,2- 甘油基二硝酸酯和 1,3- 甘油基二硝酸酯的形成速率来测定 ALDH 的还原酶活性。例如，在 ALDH2 存在下，取 0.1mM 或 1mM GTN(甘油基三硝酸酯) 与含有 100mM KPi(pH 7.5)、0.5mM EDTA、1mM NADH、1mM NADPH 的试验混合物 (1ml) 一起温育。37℃温育约 10-30 分钟后，终止反应，用 3x4ml 醚萃取 GTN 及其代谢产物，合并，通过氮气流蒸发溶剂。将最终体积维持在低于 100μl 乙醇以供随后的 TLC 分离和闪烁计数。参见，例如 Zhang 和 Stamler(2002)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 99 :8306。

[0463] 如上所述，在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂是纯的，例如以重量计至少 80％纯、至少约 90％纯、至少约 98％纯或至少约 99％纯。

[0464] 天然提取物

[0465] 本发明还提供天然提取物形式的 ALDH 激动剂，例如天然含有 ALDH 激动剂的植物和其它生物体的提取物。以重量计，天然制剂和提取物中 ALDH 激动剂的含量为约 0.01％ - 约 30％、或约 30％ - 约 80％，例如约 0.01％ - 约 0.05％、约 0.05％ - 约 0.1％、约 0.1％ - 约 0.5％、约 0.5％ - 约 1％、约 1％ - 约 2.5％、约 2.5％ - 约 5％、约 5％ - 约 7.5％、约 7.5％ - 约 10％、约 10％ - 约 12.5％、约 12.5％ - 约 15％、约 15％ - 约 20％、约 20％ - 约 25％或约 25％ - 约 30％。在一些实施方式中，以重量计，本发明的天然制剂或天然提取物中 ALDH 激动剂的含量为约 30％ - 约 35％、约 35％ - 约 40％、约 40％ - 约 45％、约 45％ - 约 50％、约 50％ - 约 60％、约 60％ - 约 70％、或约 70％ - 约 80％。本文所用的“天然制剂”或“天然提取物”可包含植物或其它天然来源的 ALDH 激动剂组分，但也可包含未在 ALDH 激动剂植物来源中正常发现的组分，例如这种“天然制剂”或“天然提取物”可包含未在 ALDH 激动剂植物来源或其它天然来源中正常发现的添加组分。

[0466] 可用水溶液、醇、极性有机溶剂和非极性有机溶剂中的一种或多种单次或顺序提取植物或植物部分。在一些实施方式中，ALDH 激动剂为水溶性 (亲水性)，存在于天然提取物的水相中。例如，在一些实施方式中，用 100％水提取植物或植物部分。在其它实施方式中，ALDH 激动剂为疏水性，存在于天然提取物的有机相中。例如可用有机溶剂，如乙酸乙酯或二氯甲烷提取植物或植物部分。在一些实施方式中，用醇，例如甲醇或丁醇提取植物或植物部分。在一些实施方式中，用甲醇：氯仿 (1 ： 1 体积：体积) 提取植物或植物部分。在一些实施方式中，用 95 ： 5-1 ： 1 的甲醇：水提取植物或植物部分。在一些实施方式中，用醇，然后用醇：氯仿混合物顺序提取植物或植物部分。极性有机溶剂包括，例如四氢呋喃、乙腈、丙酮和异丙醇。在一些实施方式中，用极性有机溶剂提取植物或植物部分。提取方法是本领域已知的，描述可参见，例如美国专利号 7,282,150 和 7,172,772。

[0467] 可在以下温度，通过提取植物或植物部分获得天然提取物 :约 15℃ - 约 20℃、约 20℃ - 约 25℃、约 25℃ - 约 30℃、约 30℃ - 约 35℃、约 35℃ - 约 40℃、约 40℃ - 约 45℃、约 45℃ - 约 50℃、约 50℃ - 约 60℃、约 60℃ - 约 70℃、约 70℃ - 约 80℃、约 80℃ - 约 90℃

或约 90℃ - 约 100℃。

[0468] 天然提取物包括全植物或植物的一个或多个部分的提取物，植物部分包括叶、茎、根茎、根、块茎、鳞茎、花、皮、种子、果实等。因此，ALDH 激动剂的来源包括，例如全植物或植物的一个或多个部分，植物部分包括叶、茎、根茎、根、块茎、鳞茎、花、皮、种子、果实等。可在提取前对植物或植物部分进行一步或多步加工；例如，可在提取前先将植物或植物部分干燥、粉末化、冷冻、蒸汽蒸、研磨、粉碎或发酵。可进行匀浆、磨碎、研磨、斩碎、掺混、切割和撕碎的一种或多种实现粉碎。

[0469] 也考虑可混合两种或多种提取物，例如，同一植物的两种或多种不同植物部分的提取物；同种属的两种或多种植物的提取物，所述植物属于两种或多种不同的物种；两种或多种不同属的两种或多种植物的提取物；混合的水性提取物和醇提取物；混合的水性提取物和极性有机溶剂提取物；混合的水性提取物和非极性有机溶剂提取物；等等。

[0470] 可将本发明的天然提取物配制成便于使用的任何剂型，例如锭剂、胶囊、粉末、液体溶液、凝胶等。可在天然提取物中加入各种组分，例如填充剂、粘合剂、甜味剂、调味剂和其它成分。可采用已知能用于制备口服剂量药物产品或天然补充产品的几乎任何赋形剂。此类赋形剂的例子包括但不限于：卡波姆、羧甲基纤维素钠、纤维素、糊精、右旋糖、乙基纤维素、果糖、明胶、瓜尔胶、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、葡萄糖、麦芽糖糊精、甘露醇、甲基纤维素、微晶纤维素、聚甲基丙烯酸酯、聚乙烯吡咯烷酮、山梨糖醇、淀粉、蔗糖、糖、三氯蔗糖 (sucralose)、甜菊 (stevia) 和调味剂。

[0471] 药物组合物、剂量、给药途径

[0472] 本发明提供包含本发明 ALDH 激动剂的药物组合物。术语“ALDH 激动剂”和“ALDH 激活剂”本文也称为“活性剂”。用药学上可接受的一种或多种赋形剂配制本发明的 ALDH 激动剂。本领域知道各种药学上可接受的赋形剂，本文无需赘述。各种出版物已详细描述了药学上可接受的赋形剂，包括，例如 A.Gennaro(2000) “《雷明顿：药学科学和实践》(Remington：The Science and Practice of Pharmacy)”第二十版，Lippincott，Williams，& Wilkins；《药物剂型和药物递送系统》(Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems)(1999)H.C.Ansel 等编.，第 7 版.，Lippincott，Williams，& Wilkins；和《药物赋形剂手册》(Handbook of Pharmaceutical Excipients)(2000)A.H.Kibbe 等编.，第三版，Amer.Pharmaceutical Assoc。

[0473] 药学上可接受的赋形剂，如运载体、辅佐剂、载体或稀释剂公众不难获得。而且，药学上可接受的辅助物质，如 pH 调节剂和缓冲剂、张力调节剂、稳定剂、湿润剂等公众不难获得。

[0474] 本文所用术语“单位剂型”指适合作为单一剂量用于人或动物对象的物理上不连续的单位，各单位含有预定量的本发明活性剂和药学上可接受的稀释剂、载体或运载体，经计算该预定量足以产生所需效果。本发明活性剂的规格取决于所用的具体化合物和要达到的效果，以及各化合物在宿主中的相关药效学性质。

[0475] 在本发明方法中，可采用能获得理想结果，例如减轻疾病、减轻症状等任何方便的方法将本发明的 ALDH 激动剂给予宿主。因此，可将本发明的 ALDH 激动剂掺入治疗给药的各种制剂中。更具体地说，可通过与合适的药学上可接受的载体或稀释剂混合将本发明的 ALDH 激动剂配制成药物组合物，可配制成固体、半固体、液体或气体形式的制品，例如片剂、

胶囊、粉末、颗粒、软膏、溶液、栓剂、注射剂、吸入剂和气溶胶。

[0476] 合适的赋形剂运载体是，例如，水、盐水、右旋糖、甘油、乙醇等，和它们的组合。此外，该运载体可视需要含有少量辅助物质，如湿润剂或乳化剂或 pH 缓冲剂。本领域技术人员知道或明白制备这类剂型的实际方法。参见，例如《雷明顿药物科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences)，马克出版公司 (Mack Publishing Company)，伊斯顿，宾夕法尼亚州，第 17 版，1985。在任何情况下，给予的组合物或制剂应含有足以在所治疗对象中实现所需状态的药物用量。

[0477] 在药物剂型中，本发明的 ALDH 激动剂（“活性剂”）可采用其药学上可接受的盐形式给予，或者本发明活性剂可单用或与其它药学活性化合物适当结合以及混合使用。以下方法和赋形剂只是示范，不以任何方式进行限制。

[0478] 对于口服制剂，本发明活性剂可单用或与合适的添加剂，例如，常规添加剂，如乳糖、甘露醇、玉米淀粉或马铃薯淀粉；粘合剂，如结晶纤维素、纤维素衍生物、阿拉伯胶、玉米淀粉或明胶；崩解剂，如玉米淀粉、马铃薯淀粉或羧甲基纤维素钠；润滑剂，如滑石粉或硬脂酸镁；如果需要，与稀释剂、缓冲剂、润湿剂、防腐剂和调味剂混合，制成片剂、粉末剂、颗粒剂或胶囊。

[0479] 可以用水溶剂或非水溶剂，如植物油或其它类似的油、合成的脂肪酸甘油酯、高级脂肪酸或丙二醇酯溶解、悬浮或乳化本发明活性剂；如果需要，再加入常规添加剂如增溶剂、等渗剂、助悬剂、乳化剂、稳定剂和防腐剂，配制成注射制品。

[0480] 本发明活性剂可用于气溶胶制剂通过吸入给药。可将本发明活性剂配制到可接受的加压推进剂，如二氯二氟甲烷、丙烷、氮气等中。

[0481] 而且，可通过与各种基质，如乳化基质或水溶性基质混合将本发明活性剂配制成栓剂。通过栓剂经直肠给予活性剂。栓剂可包含运载体如可可油、碳蜡 (carbowax) 和聚乙二醇单甲醚，它们在体温下融化，但在室温下固化。

[0482] 可提供口服或直肠给药的单位剂型，如糖浆剂、酏剂和悬浮剂，其中每个剂量单位，例如一茶匙、一汤匙、一个药片或栓剂可含有预定量的本发明活性剂。类似地，注射或静脉内给药的单位剂型组合物可包含本发明活性剂，用无菌水、生理盐水或另一种药学上可接受的载体将该组合物配制成溶液。

[0483] 可配制本发明活性剂经注射给药。可注射组合物一般配制成溶液或悬液形式，或适合在注射前用液体载体溶解或悬浮的固体形式。也可乳化该制剂，或将活性成分包裹在脂质体运载体中。

[0484] 眼用制剂

[0485] 可将本发明活性剂配制成眼部递送，例如将本发明活性剂配制成液体形式而递送至眼睛（例如，滴眼液）或注射入眼睛或其周围。

[0486] 可将本发明活性剂配制成眼科药物组合物。眼科药物组合物适合于以溶液、悬液、软膏、乳膏或固体插片形式局部给予眼睛。包含本发明活性剂的眼科制剂可含有 0.01-5%，或 0.1-2% 的本发明活性剂。可采用较高剂量，例如约 10%，或较低的剂量，只要该剂量能有效治疗眼睛疾病（例如，白内障）。对于单剂量，可将 0.001-5.0mg，例如 0.005-2.0mg 或 0.005-1.0mg 的本发明活性剂施加于人眼。

[0487] 可将本发明活性剂方便地与无毒性有机药物载体或无毒性无机药物载体混合。

合适的药学上可接受的载体是，例如水、水和水混溶性溶剂，如低级烷醇或芳烷醇的混合物、植物油、聚亚烷基二醇、石油凝胶、乙基纤维素、油酸乙酯、羧甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、肉豆蔻酸异丙酯、环糊精 (Loftsson 和 Sefansson(2002)Acta Ophthalmol. Scand. 80 : 144)，和其它常规使用的可接受载体。药物制品还可包含无毒性辅助物质，例如乳化剂、防腐剂、润湿剂、增稠剂等，例如聚乙二醇 200、300、400 和 600，碳蜡 1,000、1,500、4,000、6,000 和 10,000，抗菌组分，例如季铵化合物、已知具有冷灭菌特性和使用时无害的苯基汞盐、硫柳汞、对羟基苯甲酸甲酯和丙酯、苄醇、苯基乙醇、缓冲成分如硼酸钠、乙酸钠、葡糖酸盐缓冲液和其它常规成分，例如失水山梨糖醇单月桂酸酯、三乙醇胺、油酸酯、聚氧乙烯失水山梨糖醇单棕榈酸酯、琥珀酸二辛酯磺酸钠、硫代甘油 (monothioglycerol)、硫代山梨糖醇、乙二胺四乙酸等。

[0488] 此外，合适的眼科运载体可用作该目的的载体介质，包括常规的磷酸盐缓冲运载体系统、等渗硼酸运载体、等渗氯化钠运载体、等渗硼酸钠运载体等。该药物制品也可以是微粒制剂形式。该药物制品还可以是固体插片形式。例如，可采用水溶性固体聚合物作为药物载体。用于形成插片的聚合物可以是任何水溶性无毒聚合物，例如纤维素衍生物，如甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、(羟基低级烷纤维素)、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素；丙烯酸酯，例如聚丙烯酸盐、丙烯酸乙酯、聚丙烯酰胺；天然产物，如明胶、藻酸盐、果胶、黄蓍胶、刺梧桐树胶、角叉菜、琼脂、阿拉伯胶；淀粉衍生物，例如乙酸淀粉、羟甲基淀粉醚、羟丙基淀粉、以及其它合成的衍生物，如聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯基甲基醚、聚环氧乙烷、中和的聚羧乙烯 (carbopol) 和黄原胶、结冷胶、和所述聚合物的混合物。

[0489] 含有本发明活性剂的药物制品也可包含一种或多种无毒性辅助物质，例如使用时无害的抗菌组分，例如硫柳汞、氯化苯甲烃铵、对羟基苯甲酸甲酯和丙酯、溴化苄基十二烷基锄 (benzyldodecinium bromide)、苄醇、氯己定或苯基乙醇；缓冲成分，例如硼酸钠、乙酸钠、柠檬酸钠或葡糖酸盐缓冲剂；和其它常规成分，例如氯化钠、失水山梨糖醇单月桂酸酯、三乙醇胺、聚氧乙烯失水山梨糖醇单棕榈酸酯、乙二胺四乙酸等。

[0490] 局部用制剂

[0491] 可将本发明活性剂配制成用于局部给药至皮肤。例如，可用一种或多种皮肤可接受的赋形剂配制本发明活性剂。

[0492] 本文所用的“皮肤可接受的”指所述组合物或其组分适合用于接触人的皮肤而没有过度毒性、不相容性、不稳定性、过敏反应等。

[0493] 在一些实施方式中，采用皮肤活性酸配制本发明活性剂。合适的皮肤学活性酸包括羟酸、抗坏血酸、乙醇酸、抗坏血酸基磷酸镁 (magnesium ascorbyl phosphate)、抗坏血酸基磷酸钠、抗坏血酸钠、抗坏血酸基葡糖苷 (ascorbyl glucoside)、水杨酸、硫辛酸、二氢硫辛酸和它们的组合。在一些实施方式中，皮肤学活性酸是 α - 羟酸。A- 羟酸包括苹果酸、酒石酸、乳酸、丙酮酸、柠檬酸和上述任何酸的组合。在一些实施方式中，用皮肤学活性酸和以下一种或多种物质配制本发明活性剂：氢氧化铵、碱性氢氧化物、烷醇胺 (alkanolamone)、氨基酸、氢氧化钠、氢氧化钾、二乙醇胺、三乙醇胺、2- 二甲基氨基乙醇 (二甲基 MEA)、氨基丁醇、精氨酸和赖氨酸。

[0494] 合适的赋形剂包括软化剂；保湿剂；胍；乙醇酸和乙醇酸盐 (例如，铵和季烷基铵)；乳酸和乳酸盐 (例如，铵和季烷基铵)；任何形式的芦荟 (例如，芦荟凝胶)；糖和淀粉

衍生物（例如，烷氧基化葡萄糖）；透明质酸；乳酰胺单乙醇胺；乙酰胺单乙醇胺；等等。

[0495] 可采用各种软化剂以产生本发明的条件化组分。这些软化剂可选自以下一种或多种：甘油三酯，包括但不限于：植物和动物脂肪和油，例如蓖麻油、可可脂、红花油、棉籽油、玉米油、橄榄油、鱼肝油、杏仁油、鳄梨油、棕榈油、芝麻油、角鲨烯、科库油（kikui oil）和大豆油；乙酰甘油酯，例如乙酰化单酸甘油酯；具有 10-20 个碳原子脂肪酸的烷基酯，包括但不限于脂肪酸的甲酯、异丙酯和丁酯，如月桂酸己酯、月桂酸异己酯、棕榈酸异己酯、棕榈酸异丙酯、油酸癸酯、油酸异癸酯、硬脂酸十六烷酯、硬脂酸癸酯、异硬脂酸异丙酯、己二酸二异丙酯、己二酸二异己酯、己二酸二己基癸基酯、癸二酸二异丙酯、乳酸十二烷酯、乳酸十四烷酯和乳酸十六烷酯；具有 10-20 个碳原子脂肪酸的烯基酯，例如肉豆蔻酸油酯、硬脂酸油酯和油酸油酯；具有 10-20 个碳原子的脂肪酸，例如壬酸、月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、异硬脂酸、羟基硬脂酸、油酸、亚油酸、蓖麻油酸、花生酸、二十二烷酸和芥酸；具有 10-20 个碳原子的脂肪醇，例如月桂醇、肉豆蔻醇、鲸蜡醇、十六烷醇、硬脂醇、异硬脂醇、羟基硬脂醇、油醇、蓖麻油醇、二十二烷醇、芥醇和 2- 辛基十二烷醇；脂肪醇醚，例如 10-20 个碳原子的丙氧基化脂肪醇，包括但不限于月桂醇、鲸蜡醇、硬脂醇、异硬脂醇、油醇和胆固醇，连接有 1-50 个环氧丙烷基团；羊毛脂和羊毛脂衍生物，例如羊毛脂、羊毛脂油、羊毛脂蜡、羊毛脂醇、羊毛脂脂肪酸、羊毛脂酸异丙酯（isopropyl lanolate）、乙氧基化羊毛脂、乙氧基化羊毛脂醇、乙氧基化胆固醇、丙氧基化羊毛脂醇、乙酰化羊毛脂醇、羊毛脂醇亚油酸酯、羊毛脂醇蓖麻油酸酯、羊毛脂醇蓖麻油酸酯的乙酸酯、乙氧基化醇 - 酯的乙酸酯、羊毛脂氢解、乙氧基化山梨糖醇羊毛脂及液体和半固体羊毛脂吸收基料；多元醇酯，例如乙二醇单 - 和二 - 脂肪酸酯、二乙二醇单 - 和二 - 脂肪酸酯、聚乙二醇（200-6000）单 - 和二 - 脂肪酸酯、丙二醇单 - 和二 - 脂肪酸酯、聚丙二醇 2000 单油酸酯、聚丙二醇 2000 单硬脂酸酯、甘油基单 - 和二 - 脂肪酸酯、聚甘油聚脂肪酯、乙氧基化甘油基单硬脂酸酯、1,2- 丁二醇单硬脂酸酯、1,2- 丁二醇二硬脂酸酯、聚氧乙烯多元醇脂肪酸酯、山梨糖醇脂肪酸酯和聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯；蜡酯，例如蜂蜡、鲸蜡、肉豆蔻酸肉豆蔻酯、硬脂酸十八烷酯；形成醚酯的混合物；和植物蜡，包括但不限于卡那巴蜡（camauba）和小烛树蜡；及胆固醇脂肪酸酯。

[0496] 宜采用多元醇类型的湿润剂。典型的多元醇包括聚亚烷基二醇，更优选亚烷基多元醇和它们的衍生物，包括丙二醇、二丙二醇、三丙二醇、聚乙二醇和它们的衍生物、山梨糖醇、羟丙基山梨糖醇、赤藓醇、苏糖醇、季戊四醇、木糖醇、葡萄糖醇、甘露醇、己二醇、1,3- 丁二醇、1,2,6- 己三醇、甘油、乙氧基化甘油、丙氧基化甘油、2- 吡咯烷酮 -5- 羧酸钠、可溶性胶原、明胶和它们的混合物。

[0497] 本文还可采用胍；乙醇酸和乙醇酸盐（例如，铵和季烷基铵）；乳酸和乳酸盐（例如，铵和季烷基铵）；任何形式的芦荟（例如，芦荟凝胶）；糖和淀粉衍生物（例如，烷氧基化葡萄糖）；透明质酸；乳酰胺单乙醇胺；乙酰胺单乙醇胺；和它们的混合物。

[0498] 含本发明活性剂的组合物可包含皮肤学可接受的亲水性稀释剂。亲水性稀释剂的非限制性例子是水、有机亲水性稀释剂，例如低级单价醇（如 C_1-C_4 醇）和低分子量甘醇和多元醇，包括丙二醇、聚乙二醇（例如，分子量 200-600 克 / 摩尔）、聚丙二醇（例如，分子量 425-2025 克 / 摩尔）、甘油、丁二醇、1,2,4- 丁三醇、山梨糖醇酯、1,2,6- 己三醇、乙醇、异丙醇、山梨糖醇酯、丁二醇、醚丙醇、乙氧基化醚、丙氧基化醚和它们的组合。含本发明活性剂的组合物可含有约 60％ - 约 99.99％的亲水性稀释剂。

[0499] 含本发明活性剂的组合物可包含皮肤学可接受的载体。合适载体的一个例子是乳液，其包含亲水相和疏水相，亲水相包含亲水性组分，例如水或其它亲水性稀释剂，疏水相包含疏水性组分，例如脂质、油或油性材料。根据组合物的成分，亲水相分散在疏水相中，或反之亦然，分别形成亲水性或疏水性分散相和连续相。在乳化技术中，术语“分散相”是本领域技术人员熟知的术语，表示该相存在悬浮于连续相中和为连续相围绕的小颗粒或液滴。分散相也称为内部相或不连续相。乳液可以是或包含（例如，三相或其它多相乳液中）水包油乳液或油包水乳液，例如硅酮包水乳液。水包油乳液可含约 1％－约 50％疏水分散相和约 1％－约 98％亲水连续相；油包水乳液可含约 1％－约 98％亲水分散相和约 1％－约 50％疏水连续相。

[0500] 可用常用赋形剂、稀释剂或载体配制本发明活性剂，形成洗液、乳膏、溶液、混悬液、粉末、气溶胶、乳液、油膏剂、软膏等。适合此类制剂的赋形剂、稀释剂和载体的例子包括缓冲液以及填充剂和扩充剂，例如淀粉、纤维素、糖、甘露醇和硅衍生物。还可包含粘合剂，例如羧甲基纤维素、羟甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素和其它纤维素衍生物、藻酸盐、明胶和聚乙烯吡咯烷酮。可包含增湿剂，例如甘油，崩解剂，例如碳酸钙和碳酸氢钠。也可包含延缓溶解剂，例如石蜡。还可包含重吸收加速剂，例如季铵化合物。也可包含表面活性剂，例如鲸蜡醇和单硬脂酸甘油酯。可加入吸附载体，例如高岭土和膨润土。也可包含润滑剂，例如滑石、硬脂酸钙和镁及固体聚乙二醇。还可加入防腐剂。含本发明 ALDH 激动剂的组合物可包含增稠剂，例如纤维素和／或纤维素衍生物。含本发明 ALDH 激动剂的组合物可包含树胶，例如黄原胶、瓜尔胶或卡波胶 (carbo gum) 或阿拉伯胶，或者聚（乙二醇）、膨润土和蒙脱石等。

[0501] 含本发明 ALDH 激动剂的组合物也可包含一种或多种其它的制剂，例如抗氧化剂、表面活性剂、防腐剂、成膜剂、角质层分离剂或粉刺消除性 (comedolytic) 试剂、香料、调味剂和着色剂。可加入抗氧化剂，例如叔丁基氢醌、丁羟基茴香醚、丁羟甲苯和 α－生育酚及其衍生物。

[0502] 含本发明 ALDH 激动剂的组合物还可包含，例如视黄醛（例如，0.01％－约 1％，如 0.1％）、乙醇酸（例如，2％－约 10％，如 6％）等。

[0503] 此外，根据，例如所治疗的疾病，含本发明 ALDH 激动剂的组合物还可包含一种或多种额外治疗剂，例如抗微生物剂、镇痛药、抗炎药等。

[0504] 连续递送

[0505] 在一些实施方式中，通过连续递送系统递送本发明活性剂。术语“连续递送系统”在本文中可与“控制递送系统”互换使用，包括与导管、注射装置等相组合的连续（如控释）递送装置（如泵），本领域知道各种这类装置。

[0506] 机械或机电输注泵也适合用于本发明方法。此类装置的例子包括例如美国专利号 4,692,147；4,360,019；4,487,603；4,360,019；4,725,852；5,820,589；5,643,207；6,198,966 等中所述的装置。通常，可利用各种可重新填充的泵系统递送活性制剂。泵可随时间推移提供均恒的受控释放。在一些实施方式中，该药剂是装在药物不可透过容器中的液体制剂，以连续方式递送给个体。

[0507] 在一个实施方式中，药物递送系统是至少可部分植入的装置。可用本领域熟知的方法和装置将这种可植入装置植入到任何合适的植入部位。植入部位是对象体内可引入和

安置药物递送装置的部位。植入部位包括但不限于：真皮下、皮下、肌肉内或对象体内的其它合适部位。一些实施方式采用皮下植入部位，因为方便植入和取出该药物递送装置。

[0508] 适合用于本发明的药物释放装置可基于各种操作方式。例如，药物释放装置的基础是扩散系统、对流系统或易腐蚀系统（如腐蚀系统）。例如，药物释放装置可以是电化学泵、渗透泵、电渗泵、汽压泵或渗透破裂基质，例如，可将药物掺入聚合物中，伴随浸渍药物聚合材料（如可生物降解的、浸渍药物的聚合材料）的降解，聚合物释放出药物制剂。在其它实施方式中，药物释放装置的基础是电扩散系统、电解泵、泡腾泵 (effervescent pump)、压电泵、水解系统等。

[0509] 基于机械或机电灌注泵的药物释放装置也适合用于本发明方法。这类装置的例子包括如美国专利号 4,692,147 ;4,360,019 ;4,487,603 ;4,360,019 ;4,725,852 等中所述的装置。通常，可采用各种可重新填充的不可交换的泵系统实施本发明治疗方法。一般优选采用泵和其他对流系统，因为它们随时间推移的控释通常更均恒。一些实施方式采用渗透泵，因为它们组合了更均恒控释和体积较小的优点（参见，例如 PCT 公布申请号 WO 97/27840 及美国专利号 5,985,305 和 5,728,396)。适合与本发明治疗方法联用的示范性渗透驱动装置包括但不限于美国专利号 3,760,984 ;3,845,770 ;3,916,899 ;3,923,426 ;3,987,790 ;3,995,631 ;3,916,899 ;4,016,880 ;4,036,228 ;4,111,202 ;4,111,203 ;4,203,440 ;4,203,442 ;4,210,139 ;4,327,725 ;4,627,850 ;4,865,845 ;5,057,318 ;5,059,423 ;5,112,614 ;5,137,727 ;5,234,692 ;5,234,693 ;5,728,396 等中所述的装置。

[0510] 在一些实施方式中，药物递送装置是可植入装置。可采用本领域熟知的方法和装置，将药物递送装置植入任何合适的植入部位。如上所述，植入部位是对象体内可引入和安置药物递送装置的部位。植入部位包括但不限于：真皮下、皮下、肌肉内或对象体内的其它合适部位。

[0511] 在一些实施方式中，采用可植入药物递送系统，例如可编程给予本发明活性剂的系统来递送活性剂。可编程的可植入系统的例子包括可植入性灌注泵。可植入灌注泵或与这类泵联用的装置的例子参见例如，美国专利号 4,350,155 ;5,443,450 ;5,814,019 ;5,976,109 ;6,017,328 ;6,171,276 ;6,241,704 ;6,464,687 ;6,475,180 ; 和 6,512,954。适合用于本发明方法的其它示范性装置是麦德托尼克公司的自动定时给药输注泵 (Synchromed infusion pump，Medtronic)。

[0512] 合适的赋形剂运载体是，例如水、盐水、右旋糖、甘油、乙醇等，和它们的组合。此外，该运载体可视需要含有少量辅助物质，如湿润剂或乳化剂或 pH 缓冲剂。本领域技术人员了解或明白制备这类剂型的实际方法。参见例如，《雷明顿药物科学》，宾夕法尼亚州伊斯顿的马克出版公司，第 17 版，1985。在任何情况下，给予的组合物或制剂应含有足以在所治疗对象中实现所需状态的药物用量。

[0513] 口服制剂

[0514] 在一些实施方式中，将本发明活性剂配制成可口服递送给需要此类药剂的个体。

[0515] 在一些实施方式中，对于口服递送，含本发明活性剂的本发明制剂包含肠溶包衣材料。合适的肠溶包衣材料包括乙酸琥珀酸羟丙基甲基纤维素 (HPMCAS)、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素 (HPMCP)、乙酸邻苯二甲酸纤维素 (CAP)、聚乙烯基邻苯二甲酸乙酸酯 (polyvinyl phthalic acetate)(PVPA)、Eudragit™ 和虫胶。

[0516] 作为合适的口服制剂的非限制性例子，可用一种或多种药物赋形剂配制本发明活性剂并用肠衣包裹，如美国专利号 6,346,269 所述。例如，将包含本发明活性剂和稳定剂的溶液包衣在含药学上可接受的赋形剂的核心上，而形成活性剂包衣的核；再将包衣底层 (sub-coating layer) 涂布于该活性剂包衣的核心，然后用肠包衣层包衣。该核心通常含无药学活性的组分，例如乳糖、淀粉、甘露醇、羧甲基纤维素钠、羧甲基淀粉钠、氯化钠、氯化钾、色素、藻酸盐、滑石、二氧化钛、硬脂酸、硬脂酸盐或酯、微晶纤维素、甘油、聚乙二醇、柠檬酸三乙酯、柠檬酸三丁酯、丙烷基三乙酸酯 (propanyl triacetate)、磷酸氢钙、磷酸钠、硫酸钙、环糊精和蓖麻油。本发明活性剂的合适溶剂包括水性溶剂。合适的稳定剂包括碱金属和碱土金属、碱性磷酸盐和有机酸盐以及有机胺。包衣底层含有粘合剂、增塑剂和抗粘剂之一种或多种。合适的抗粘剂包括滑石、硬脂酸、硬脂酸盐或酯、硬脂酸延胡索酸钠、甘油基二十二烷酸酯、高岭土和氧相二氧化硅 (aerosil)。合适的粘合剂包括聚乙烯吡咯烷酮 (PVP)、明胶、羟乙基纤维素 (HEC)、羟丙基纤维素 (HPC)、羟丙基甲基纤维素 (HPMC)、乙酸乙烯酯 (VA)、聚乙烯醇 (PVA)、甲基纤维素 (MC)、乙基纤维素 (EC)、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素 (HPMCP)、乙酸邻苯二甲酸纤维素 (CAP)、黄原胶、藻酸、藻酸盐、Eudragit™、甲基丙烯酸 / 甲基丙烯酸甲酯与聚乙烯基邻苯二甲酸乙酸酯的共聚物 (PVAP)。合适的增塑剂包括甘油、聚乙二醇、柠檬酸三乙酯、柠檬酸三丁酯、丙烷基三乙酸酯和蓖麻油。合适的肠溶性包衣材料包括乙酸琥珀酸羟丙基甲基纤维素 (HPMCAS)、邻苯二甲酸羟丙基甲基纤维素 (HPMCP)、乙酸邻苯二甲酸纤维素 (CAP)、聚乙烯基邻苯二甲酸乙酸酯 (PVPA)、Eudragit™和虫胶。

[0517] 合适的口服制剂还包括配制的以下任何一种本发明活性剂：微粒（参见，例如美国专利号 6,458,398）；生物可降解大聚体 (macromer)（参见，例如美国专利号 6,703,037）；生物可降解水凝胶（参见，例如 Graham 和 McNeill(1989)Biomaterials 5 :27-36）；生物可降解颗粒运载体（参见，例如美国专利号 5,736,371）；生物可吸收内酯聚合物（参见，例如美国专利号 5,631,015）；缓释蛋白质聚合物（参见，例如美国专利号 6,699,504；佩氏技术公司 (Pelias Technologies, Inc.)）；丙交酯 - 乙交酯 / 聚乙二醇嵌段共聚物（参见，例如美国专利号 6,630,155；阿特里克斯实验室公司 (Atrix Laboratories, Inc.)）；含有生物相容聚合物和分散在该聚合物内的金属阳离子稳定剂颗粒的组合物（参见，例如美国专利号 6,379,701；阿克迈斯控制治疗公司 (Alkermes Controlled Therapeutics, Inc.)）；和微球（参见，例如美国专利号 6,303,148；Octoplus, B.V.）。

[0518] 合适的口服制剂还包含本发明活性剂和以下物质之一：载体，例如 Emisphere ®（埃米斯非技术公司 (Emisphere Technologies, Inc.)）；TIMERx，一种组合了黄原胶和豆角胶的亲水性基质，在右旋糖存在时能在水中形成强效粘合凝胶（彭氏公司 (Penwest)）；Geminex™（彭氏公司）；Procise™（葛兰素史克公司 (GlaxoSmithKline)）；SAVIT™(MP 公司 (Mistral Pharma Inc.)）；RingCap™（阿扎公司 (Alza Corp.)）；Smartrix ®（斯迈克斯技术公司 (Smartrix Technologies, Inc.)）；SQZgel™(MM 公司 (MacroMed, Inc.)）；Geomatrix™(SP 公司 (Skye Pharma, Inc.)）；Oros ®三 - 层（阿扎公司）；等等。

[0519] 适合采用的制剂还有，例如美国专利号 6,296,842（阿克迈斯控制治疗公司）；美国专利号 6,187,330（斯氏公司 (Scios, Inc.)）中所述的制剂，等等。

[0520] 含肠道吸收增强剂的制剂也适合用于此。合适的肠道吸收增强剂包括但不限于：

钙螯合剂（例如，柠檬酸盐、乙二胺四乙酸）；表面活性剂（例如，十二烷基硫酸钠、胆盐、棕榈酰肉毒碱和脂肪酸的钠盐）；毒素（例如，密闭小带毒素(zonula occludens toxin)）；等等。

[0521] 口服制剂

[0522] 口服制剂还包括口腔清洗剂、咀嚼胶、糖锭等，所述口服制剂含 ALDH 激动剂，此种制剂意味可在口腔中停留约 15 秒－约 2 小时，或超过 2 小时。例如，在一些实施方式中，本发明口服制剂适合在口腔中保留约 15 秒－约 30 秒、约 30 秒－约 60 秒、约 1 分钟－约 5 分钟、约 5 分钟－约 15 分钟、约 15 分钟－约 30 分钟、约 30 分钟－约 1 小时、约 1 小时－约 2 小时、或超过 2 小时。示范性的口服制剂包括，例如漱口水、口腔清洗剂、咀嚼胶、糖锭、口服条 (mouth strip)、口腔喷雾、牙膏、牙凝胶、牙粉等。

[0523] 可根据待引入口腔的组合物来选择所用的载体。如果采用牙膏（包括牙凝胶等），可选择如美国专利第 3,988,433 号公开的“牙膏载体”（包含，例如磨料、起泡剂 (sudsing agent)、粘合剂、湿润剂、调味剂和甜味剂等）。如果采用口腔清洗剂，可选择如美国专利第 3,988,433 号公开的“口腔清洗剂载体”（包含，例如水、调味剂和甜味剂等）。类似地，如果采用口腔喷雾剂，可选择“口腔喷雾载体”或者如果采用糖锭，可选择“糖锭载体”（例如糖果基质 (candy base)），糖果基质已公开于，例如美国专利第 4,083,955 号；如果采用咀嚼胶，可选择如美国专利第 4,083,955 号公开的“咀嚼胶载体”（包含，例如胶基质、调味剂和甜味剂）。如果采用药囊，可选择“药囊载体”（例如，药囊袋、调味剂和甜味剂）。本领域熟知适合制备本发明口服制剂的载体。它们的选择可依据次等考虑，例如口味、成本和储存稳定性。

[0524] 除 ALDH 激动剂和一种或多种载体外，本发明口腔制剂可包含一种或多种其它试剂，例如抗龋齿剂（约 0.05％－约 0.3％的氟离子）；抗牙垢剂（约 0.1％－约 13％）；牙齿增白剂；抗微生物剂；酶；等等。

[0525] 在一些实施方式中，用于口腔的本发明口服组合物是牙膏、牙凝胶或牙粉。此类牙膏和牙凝胶中的组分通常包括以下一种或多种：牙齿研磨剂（约 5％－约 50％）、表面活性剂（约 0.5％－约 10％）、增稠剂（约 0.1％－约 5％）、湿润剂（约 10％－约 55％）、调味剂（约 0.04％－约 2％）、甜味剂（约 0.1％－约 3％）、着色剂（约 0.01％－约 0.5％）和水（约 2％－约 45％）。此类牙膏或牙凝胶还可包含一种或多种抗龋齿剂（约 0.05％－约 0.3％的氟离子）和抗牙垢剂（约 0.1％－约 13％）。牙粉所含当然基本上完全是非液体组分。

[0526] 除 ALDH 激动剂外，咀嚼胶组合物可包含一种或多种胶基（约 50％－约 99％）、调味剂（约 0.4％－约 2％）和甜味剂（约 0.01％－约 20％）。

[0527] 除 ALDH 激动剂外，包括口腔喷雾剂在内的合适漱口水可包含以下一种或多种：水（约 45％－约 95％）、乙醇（约 0％－约 25％）、湿润剂（约 0％－约 50％）、表面活性剂（约 0.01％－约 7％）、调味剂（约 0.04％－约 2％）、甜味剂（约 0.1％－约 3％）和着色剂（约 0.001％－约 0.5％）。此类漱口水和口腔喷雾剂还可包含一种或多种抗龋齿剂（约 0.05％－约 0.3％的氟离子）和抗牙垢剂（约 0.1％－约 13％）。

[0528] 除 ALDH 激动剂外，本发明的糖锭包含一种或多种合适的组分。本文所用的“糖锭”包括：口气薄荷糖 (breath mints)；含片；软锭剂；微胶囊；和速溶固体形式，包括冷冻干燥

形式（薄饼、晶片、薄膜、片剂）；和压缩片剂。本文所用的术语“速溶固体形式”指将固体剂型置于口腔中后，该固体剂型可在不到约 60 秒、不到约 15 秒或不到约 5 秒内溶解。速溶固体形式已公开于，例如 WO 95/33446 和 WO 95/11671。锭剂包括在调味基料中含有治疗剂的圆盘状固体。该基料可以是硬糖果、含甘油的明胶或糖与充足胶浆剂的组合以使其成形。这些剂型通常描述于《雷明顿：药学科学和实践》(Remington：The Science and Practice of Pharmacy)，第 19 版，第 II 卷，第 92 章，1995。锭剂组合物（压缩片剂类型）可包含一种或多种的填充剂（可压缩糖）、调味剂和润滑剂。合适的微胶囊公开于，例如美国专利第 5,370,864 号。

[0529] 如果本发明口服制剂包含研磨剂，合适的研磨剂包括，例如含二氧化硅的凝胶和沉淀物、不可溶的聚偏磷酸钠、水合氧化铝、碳酸钙、正磷酸二钙二水合物、焦磷酸钙、磷酸三钙、聚偏磷酸钙和树脂研磨材料，例如脲和甲醛的颗粒状缩合产物。

[0530] 如果本发明口服制剂包含表面活性剂，合适的表面活性剂包括，例如肌氨酸酯表面活性剂、羟乙基磺酸酯表面活性剂和牛磺酸酯 (taurate) 表面活性剂。合适的表面活性剂包括肌氨酸酯表面活性剂、羟乙基磺酸酯表面活性剂和牛磺酸酯表面活性剂的碱金属盐或铵盐。例如，合适的表面活性剂包括以下的钠盐和钾盐：月桂酰基肌氨酸酯、肉豆蔻酰基肌氨酸酯、棕榈酰基肌氨酸酯、硬脂酰基肌氨酸酯和油酰基肌氨酸酯。合适的阴离子表面活性剂包括烷基中具有 10-18 个碳原子的硫酸烷酯的水溶性盐和具有 10-18 个碳原子的脂肪酸的磺化单酸甘油酯的水溶性盐；月桂基硫酸钠和椰油基单酸甘油酯磺酸钠 (sodium coconut monoglyceride sulfonates) 是此类阴离子表面活性剂的例子。合适的阳离子表面活性剂包括具有一条含约 8-18 个碳原子的长烷基链的脂族季铵化合物的衍生物，例如月桂基三甲基氯化铵；鲸蜡基氯化吡啶**鎓**；鲸蜡基三甲基溴化铵；二异丁基苯氧基乙基二甲基苄基氯化铵；椰油基烷基三甲基硝酸铵 (coconut alkyltrimethylammonium nitrite)；鲸蜡基氟化吡啶**鎓**；等。合适的非离子型表面活性剂包括普流罗尼类、烷基酚的聚环氧乙烷缩合物、衍生自环氧乙烷与环氧丙烷和乙二胺的反应产物缩合的产物、脂族醇的环氧乙烷缩合物、长链叔胺氧化物、长链叔膦氧化物、长链二烷基亚砜和此类物质的混合物。合适的合成两性离子表面活性剂包括脂族季铵、膦和锍化合物的衍生物，其中脂族基团可以是直链或支链，脂族取代基之一含有约 8-18 个碳原子，一个取代基含阴离子水溶性基团，例如羧基、磺酸根、硫酸根、磷酸根或膦酸根。合适的甜菜碱表面活性剂包括烷基二甲基甜菜碱和酰氨基甜菜碱。烷基二甲基甜菜碱包括癸基甜菜碱或 2-(N- 癸基 -N,N- 二甲基铵基 (ammonio)) 乙酸盐、椰基甜菜碱或 2-(N- 椰基 -N，N- 二甲基铵基）乙酸盐、肉豆蔻酰基甜菜碱、棕榈酰基甜菜碱、月桂基甜菜碱、鲸蜡基甜菜碱、鲸蜡基甜菜碱、硬脂酰基甜菜碱，等等。酰氨基甜菜碱的例子有椰基酰氨基乙基甜菜碱 (cocoamidoethyl betaine)、椰基酰氨基丙基甜菜碱、月桂基酰氨基丙基甜菜碱 (lauramidopropyl betaine) 等。

[0531] 如上所述，本发明口服制剂可包含抗牙垢剂。合适的抗牙垢剂包括合成的阴离子聚合物，包括聚丙烯酸酯和马来酸酐或酸与甲基乙烯基醚的共聚物（例如，Gantrez）以及，例如聚氨基丙烷磺酸 (AMPS)、柠檬酸锌三水合物、多肽（例如，聚天冬氨酸和聚谷氨酸）和它们的混合物。

[0532] 如上所述，本发明的口服制剂可包含抗龋剂，例如氟化物。合适的氟离子源包括氟化亚锡、氟化钠、氟化钾、单氟磷酸钠等。

[0533] 如上所述，本发明口服制剂可包含牙齿增白剂，合适的牙齿增白剂包括，例如云母、碳酸镁、碳酸钙、硅酸镁、硅酸镁铝、二氧化硅、二氧化钛、氧化锌、红色氧化铁、棕色氧化铁、黄色氧化铁、黑色氧化铁、亚铁氰化铁铵 (ferric ammonium ferrocyanide)、锰紫 (manganese violet)、群青 (ultramarine)、尼龙粉末、聚乙烯粉末、甲基丙烯酸酯粉末、聚苯乙烯粉末、丝粉末、结晶纤维素、淀粉、钛酸云母 (titanated mica)、氧化铁钛酸云母 (iron oxide titanated mica)、氯化氧铋和它们的混合物。

[0534] 合适湿润剂包括，例如可食用的多元醇，如甘油、山梨糖醇、木糖醇、丁二醇、聚乙二醇和丙二醇，特别是山梨糖醇和甘油。

[0535] 合适的增稠剂包括，例如聚合物、角叉菜胶、羟乙基纤维素、硅酸镁锂 (laponite) 和纤维素醚的水溶性盐，例如羧甲基纤维素钠和羧甲基羟乙基纤维素钠。也可采用天然树胶，例如刺梧桐树胶、黄原胶、阿拉伯胶和黄蓍胶。胶态硅酸镁铝或细粉二氧化硅可用作增稠剂的一部分以进一步改善其质地。示范性的一类增稠剂或胶凝剂包括与季戊四醇烷基醚或蔗糖烷基醚交联的一类丙烯酸均聚物，或卡波姆 (carbomer)。还可采用丙交酯与乙交酯单体的共聚物，分子量范围约 1,000- 约 120,000(平数均) 的共聚物。

[0536] 合适的增稠剂包括，例如冬青油、薄荷油、留兰香油、丁香油、薄荷醇、茴香脑 (anethole)、水杨酸甲酯、桉树脑、肉桂 (cassia)、1- 薄荷基乙酸酯、鼠尾草、丁香油酚、欧芹油、氧杂壬酮 (oxanone)、α - 紫罗兰酮、墨角兰、柠檬、橙子、丙烯基乙基愈创木酚、桂皮 (cinnamon)、香草醛、百里酚 (thymol)、芳樟醇、称为 CGA 的肉桂醛甘油基缩醛和它们的混合物。

[0537] 合适的甜味剂包括，例如蔗糖、葡萄糖、糖精、右旋糖、果糖 (levulose)、乳糖、甘露醇、山梨糖醇、左旋糖 (fructose)、麦芽糖、木糖醇、糖精盐、索马汀 (thaumatin)、阿斯巴甜 (aspartame)、D- 色氨酸、二氢查耳酮 (dihydrochalcone)、乙酰舒泛 (acesulfame) 和环己氨磺酸盐 (cyclamate)，特别是环己氨磺酸钠和糖精钠，及它们的混合物。

[0538] 本发明的口服制剂可包含抗微生物剂。此类制剂包括水不溶性非阳离子抗微生物剂，例如卤化二苯基醚；苯酚化合物，包括苯酚及其同系物，单烷基和多烷基和芳族卤代酚、间苯二酚及其衍生物、双酚化合物和卤化水杨苯胺、苯甲酸酯和卤化二苯脲。水溶性抗微生物剂包括季铵盐和 bis-biquamide 盐等。三氯生单磷酸酯是一种可添加的水溶性抗微生物剂。季铵试剂包括季氮上取代基中的一个或两个的碳链长度 (一般是烷基) 为约 8- 约 20，通常是约 10- 约 18 个碳原子，而其余取代基 (例如，烷基或苄基) 的碳原子数较低，例如约 1- 约 7 个碳原子，如甲基或乙基的那些。典型的季铵抗微生物制剂的例子是十二烷基三甲基溴化铵、十四烷基氯化吡啶鎓、溴化度灭芬、N- 十四烷基 -4- 乙基氯化吡啶鎓、十二烷基二甲基 (2- 苯氧基乙基) 溴化铵、苄基二甲基硬脂酰基氯化铵、鲸蜡基氯化吡啶鎓、季铵化 5- 氨基 -1,3- 双 (2- 乙基 - 己基)-5- 甲基 - 六氢嘧啶、氯化苯甲烃铵、氯化苄乙铵 (benzethonium chloride) 和甲基氯化苄乙铵。其它合适的化合物包括双 [4-(R- 氨基)-1- 吡啶鎓] 烷烃。也可包含其它合适的抗微生物剂，例如双甘氨酸铜 (copper bisglycinate)、甘氨酸铜、柠檬酸锌和乳酸锌。其它抗微生物剂包括氯己定、三氯生、三氯生单磷酸酯和调味油，如百里酚。

[0539] 本发明的口服制剂还可包含一种或多种酶。有用的酶包括分类属于蛋白酶、裂解酶、菌斑基质抑制剂和氧化酶的那些酶：蛋白酶包括木瓜蛋白酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶、无

花果蛋白酶、菠萝蛋白酶；细胞壁裂解酶，包括溶菌酶；菌斑基质抑制剂，包括葡聚糖酶、木塔内斯 (mutanases)；和氧化酶，包括葡萄糖氧化酶、乳酸氧化酶、半乳糖氧化酶、尿酸氧化酶；过氧化物酶，包括辣根过氧化物酶、髓过氧化物酶、乳过氧化物酶、氯过氧化物酶。除抗微生物特性外，氧化酶还具有增白 / 清洁活性。

[0540] 牙科器具

[0541] 牙科器具包括与牙齿和口腔内的其它组织接触的器具，牙科器具可用含 ALDH 激动剂的组合物包被和 / 或浸渍。牙科器具可以是浸渍（药物）的纤维，包括牙线或牙带，芯片，条带，薄膜和聚合物纤维。

[0542] 吸入制剂

[0543] 在一些实施方式中，借助吸入途径药物递送系统将本发明的 ALDH 激动剂给予患者。可将本发明的 ALDH 激动剂配制成适合通过吸入给药的剂型。给药的吸入途径可提供使吸入药物绕过血脑屏障的优点。此药物递送系统是适合于将本发明的 ALDH 激动剂递送给支气管粘膜衬里而进行呼吸道治疗。本发明可采用的此系统依赖于压缩气体的功率能否将本发明的 ALDH 激动剂从容器中喷出。为此目的可采用气溶胶或加压包。

[0544] 本文所用的术语“气溶胶”以其常规含意使用，指由加压的推进剂气体将非常细的粉末或固体颗粒携带至治疗应用部位。当本发明利用药物气溶胶时，该气溶胶在液体载体和推进剂的混合物中含有溶解的、悬浮的或乳化的本发明 ALDH 激动剂。气溶胶可以是溶液、悬液、乳液、粉末或半固体制品形式。气溶胶可作为细小的固体颗粒或液体薄雾而通过患者的呼吸道给药。可采用本领域技术人员已知的各种类型的推进剂。合适的推进剂包括但不限于：烃类或其它合适的气体。在加压气溶胶的情况中，可提供递送计量量的数值来确定剂量单位。

[0545] 也可将本发明的 ALDH 激动剂配制成用雾化器递送，雾化器是能在气体中产生大小基本上均匀的非常细的液体颗粒的仪器。例如，将含有本发明 ALDH 激动剂的液体分散成液滴。小液滴可由通过雾化器出口管的空气气流携带。产生的薄雾能渗入患者的呼吸道中。

[0546] 可将含本发明 ALDH 激动剂的粉末组合物（含或不含润滑剂、载体或推进剂）给予需要治疗的哺乳动物。可利用常规装置实施本发明的该实施方式以便通过吸入给予粉末药物组合物。例如，可将化合物与合适的粉末基质，如乳糖或淀粉的粉末混合物放在单位剂型，例如胶囊或药筒中，例如明胶或泡罩包装中，借助吸入器给予其中的粉末。

[0547] 通过吸入递送 ALDH 激动剂的本发明方法可采用的吸入方法有数种不同类型。本发明 ALDH 激动剂基本上可配制成三种不同类型的吸入制剂。首先，用低沸点推进剂配制本发明 ALDH 激动剂。一般采用常规计量剂量吸入器 (MDI) 给予此类制剂。然而，可采用检测患者吸入气体的体积和流速的技术改进常规的 MDI，以提高获得可重复剂量的能力，例如参见美国专利 5,404,871 和 5,542,410 所述。

[0548] 或者，可将本发明的 ALDH 激动剂配制成水溶液或醇溶液，通过常规雾化器递送。在一些实施方式中，利用装置和系统雾化此类溶液制剂，如美国专利 5,497,763；5,544,646；5,718,222 和 5,660,166 所述。

[0549] 可将本发明的 ALDH 激动剂配制成干粉制剂。产生气溶胶粉末薄雾后，可通过简单地吸入干粉制剂而给予此类制剂。实施此类方法的技术描述参见美国专利 5,775,320 和美国专利 5,740,794。

[0550] 剂量和给药

[0551] 根据所治疗对象和疾病以及给药途径，本发明化合物的给药剂量可以是，例如每天 0.1 微克 -500 毫克 / 公斤体重，例如每天约 0.1μg/ 公斤体重 - 约 1 微克 / 公斤体重、每天约 1 微克 / 公斤体重 - 约 25 微克 / 公斤体重、每天约 25 微克 / 公斤体重 - 约 50 微克 / 公斤体重、每天约 50 微克 / 公斤体重 - 约 100 微克 / 公斤体重、每天约 100 微克 / 公斤体重 - 约 500 微克 / 公斤体重、每天约 500 微克 / 公斤体重 - 约 1 毫克 / 公斤体重、每天约 1 毫克 / 公斤体重 - 约 25 毫克 / 公斤体重、每天约 25 毫克 / 公斤体重 - 约 50 毫克 / 公斤体重、每天约 50 毫克 / 公斤体重 - 约 100 毫克 / 公斤体重、每天约 100 毫克 / 公斤体重 - 约 250 毫克 / 公斤体重、或每天约 250 毫克 / 公斤体重 - 约 500 毫克 / 公斤体重。该范围可以很宽，因为不同哺乳动物的疗效差别很大，人的剂量通常比大鼠低 20、30、甚至 40 倍（每单位体重）。类似地，给药方式对剂量影响很大。因此，例如口服剂量可以是注射剂量的约 10 倍。更高的剂量可用于局部递送途径。

[0552] 例如，本发明的 ALDH2 活性调节剂的给药量可以是每剂约 1mg- 约 1000mg，例如每剂约 1mg- 约 5mg、约 5mg- 约 10mg、约 10mg- 约 20mg、约 20mg- 约 25mg、约 25mg- 约 50mg、约 50mg- 约 75mg、约 75mg- 约 100mg、约 100mg- 约 125mg、约 125mg- 约 150mg、约 150mg- 约 175mg、约 175mg- 约 200mg、约 200mg- 约 225mg、约 225mg- 约 250mg、约 250mg- 约 300mg、约 300mg- 约 350mg、约 350mg- 约 400mg、约 400mg- 约 450mg、约 450mg- 约 500mg、约 500mg- 约 750mg 或约 750mg- 约 1000mg。

[0553] 示范性剂型可以是适合于静脉内给药的溶液；每日服用 2-6 次的片；或每日服用一次、含较高比例活性成分的一次性释放胶囊或药片等等。可采用在不同 pH 值下溶解的胶囊材料、通过渗透压使胶囊缓慢释放，或任何其它已知的控释方法实现时间 - 释放效应。

[0554] 本领域技术人员不难明白剂量水平可随具体化合物、症状的严重程度和对象对副作用的敏感程度而有所不同。本领域技术人员通过各种方式不难确定某给定化合物的优选剂量。

[0555] 虽然所用剂量根据要实现的临床目标而有所不同，但在一些实施方式中，合适的剂量范围是将本发明化合物给予个体 24 小时后，取自该治疗个体的血液样品中提供最高约 1μg- 约 1,000μg 或约 10,000μg 本发明化合物时的用量。

[0556] 可提供口服或直肠给药的单位剂型，例如糖浆剂、酏剂和混悬液，其中各单位剂量，例如一茶匙、一汤匙、一片药物或栓剂含有预定量的含一种或多种本发明化合物的组合物。类似地，注射或静脉内给药的单位剂型可在组合物，例如无菌水、生理盐水或另一药学上可接受的载体配制的溶液中包含一种或多种化合物。

[0557] 在一些实施方式中，给予多个剂量的本发明化合物。本发明化合物（“活性剂”）的给药频率根据各种因素，例如症状的严重程度等而有所不同。例如，在一些实施方式中，本发明化合物每月给予一次、每月两次、每月三次、每隔一周一次 (qow)、每周一次 (qw)、每周两次 (biw)、每周三次 (tiw)、每周四次、每周五次、每周六次、每隔一日一次 (qod)、每日一次 (qd)、每日两次 (bid) 或每日三次 (tid)。如上所述，在一些实施方式中，连续给予本发明化合物。

[0558] 本发明化合物的给药持续时间，例如本发明化合物的给药时间依据各种因素，例如患者的反应等而有所不同。例如，可在以下时间范围内给予本发明化合物：约 1 天到约 1

周、约 2 周到约 4 周、约 1 个月到约 2 个月、约 2 个月到约 4 个月、约 4 个月到约 6 个月、约 6 个月到约 8 个月、约 8 个月到约 1 年、约 1 年到约 2 年或约 2 年到约 4 年，或更长时间。在一些实施方式中，终身给予个体本发明化合物。

[0559] 给药途径

[0560] 可采用适合药物递送的任何可用的方法和途径，包括体内和离体方法，以及全身和局部给药途径将本发明的 ALDH 激动剂给予个体。给药可以是急性给药（如短期，如一次给药、给药一天至一周），或慢性给药（如长期，如给药一周以上，给药约 2 周至 1 个月、约 1 个月至 3 个月、约 3 个月至 6 个月、约 6 个月至 1 年、或 1 年以上）。

[0561] 常规和药学上可接受的给药途径包括鼻内、肌肉内、气管内、皮下、真皮内、透皮、舌下、局部应用、静脉内、眼部（例如，局部应用于眼、玻璃体内等）、直肠、鼻部、口服和其它肠道和胃肠外给药途径。如果需要，可联合诸给药途径，或者根据药物和 / 或所需效果进行调节。可给予一个剂量或多个剂量的该化合物。

[0562] 可采用任何可获得的常规方法以及包括全身途径或局部途径在内的适合递送常规药物的途径给予本发明活性制剂。通常，本发明考虑的给药途径包括但不限于肠道、胃肠外或吸入途径。

[0563] 除吸入给药外的胃肠外给药途径包括但不限于：局部、透皮、皮下、肌肉内、眶内、囊内、脊柱内、胸骨内、眼部和静脉内途径，即除消化道以外的任何给药途径。可进行胃肠道外给药以实现药物的全身或局部递送。需要全身递送时，给药一般包括药物制剂的侵入性或全身吸收的局部或粘膜给药。

[0564] 该药剂也可通过肠道给药递送给对象。肠道给药途径包括但不限于：口服和直肠（如采用栓剂）递送。

[0565] 通过皮肤或粘膜给予本发明 ALDH 激动剂的方法包括但不限于：局部应用合适的药物制品、透皮传送、注射和表皮给药。就透皮传送而言，吸收促进剂或离子电渗法是合适的方法。可利用商品化购得的“贴片”通过电脉冲透过未破损皮肤在数天或更长时间内连续递送其产品而实施离子电渗传送。

[0566] 治疗方法

[0567] 本发明提供各种治疗方法，通常包括给予有需要的个体有效量的本发明激动剂。本发明的 ALDH 激动剂适合治疗各种疾病，包括，例如涉及缺血性应激的疾病、氧化应激、慢性自由基相关疾病、急性自由基相关疾病、对硝酸甘油不敏感（例如，心绞痛和心力衰竭）、高血压、外周动脉疾病、糖尿病、白内障、年龄相关的黄斑退行性改变、吸烟导致的肺病、癌症、神经变性疾病和骨质疏松症。本发明的 ALDH 激动剂适合使癌细胞对癌症化疗剂或其它标准癌症治疗敏感；可治疗酒精（例如，乙醇；乙基醇）不耐受；治疗酒精（例如，乙醇；乙基醇）成瘾；和治疗麻醉品成瘾。

[0568] 治疗涉及缺血性应激疾病的方法

[0569] 本发明提供治疗个体的涉及缺血性应激疾病的方法，包括预防方法，所述方法通常包括给予有此需要的个体有效量的本发明 ALDH 激动剂。涉及缺血性应激的疾病包括缺血疾病、缺血事件、可导致缺血的疾病和缺血引起的疾病。可用本发明方法治疗的涉及缺血性应激的疾病包括任何疾病或事件引起的缺血，包括但不限于：心肌梗塞（如急性心肌梗塞）、心脏手术、脑外伤、脑血管疾病、中风、脊髓损伤、蛛网膜下腔出血、导致多器官缺血的

大手术、器官移植、四肢缺血（如 1 型或 2 型糖尿病所致）、外周动脉疾病等。

[0570] 在一些实施方式中，在预计或预期的缺血事件之前，例如，在缺血事件之前约 1 小时至 1 周，如在预计或预期的缺血事件之前约 1 小时至 2 小时、约 2 小时至 4 小时、约 4 小时至 8 小时、约 8 小时至 12 小时、约 12 小时至 16 小时、约 16 小时至 24 小时、约 24 小时至 36 小时、约 36 小时至 48 小时、约 48 小时至 72 小时或约 72 小时至 1 周，给予该药剂。

[0571] 在某些情况下，例如当对象已发生中风时、当对象正准备接受心脏手术时等等，需要用活性制剂预先治疗。例如，已发生中风的患者发生二次中风的概率增加。易出现短暂性缺血发作的对象发生中风的危险也上升。患有蛛网膜下腔出血的对象可因血管痉挛而血管收缩引起进一步缺血。器官如脑创伤对象也易出现缺血事件。接受长时间手术的对象也易出现缺血事件。上述情况是对象能够从本发明 ALDH 激动剂预先治疗中获益的示范性情况。

[0572] 在一些实施方式中，在缺血事件后给予本发明的 ALDH 激动剂。例如，本发明的 ALDH 激动剂能有效降低缺血事件如心脏缺血、再灌注损伤、脑血管疾病、急性心肌梗塞、蛛网膜下腔出血和创伤的不良影响。在一些实施方式中，在缺血事件之后 1 分钟内至 15 小时内，如约 1 分钟至 5 分钟、约 5 分钟至 10 分钟、约 10 分钟至 15 分钟、约 15 分钟至 30 分钟、约 30 分钟至 60 分钟、约 60 分钟至 2 小时、约 2 小时至 4 小时、约 4 小时至 8 小时、约 8 小时至 12 小时或约 12 小时至 15 小时，给予本发明的 ALDH 激动剂。在一些实施方式中，在缺血事件后至少数小时至数天中维持血浆高浓度的本发明 ALDH2 激动剂。

[0573] 例如，在一些实施方式中，在急性心肌梗塞 (AMI) 之后 1 分钟至 15 小时内，如约 1 分钟至 5 分钟、约 5 分钟至 10 分钟、约 10 分钟至 15 分钟、约 15 分钟至 30 分钟、约 30 分钟至 60 分钟、约 60 分钟至 2 小时、约 2 小时至 4 小时、约 4 小时至 8 小时、约 8 小时至 12 小时或约 12 小时至 15 小时，将本发明 ALDH 激动剂给予发生 AMI 的个体。

[0574] 治疗眼睛疾病的方法

[0575] 本发明提供治疗眼睛疾病，例如白内障的方法，该方法通常包括给予有此需要的个体有效量的本发明 ALDH 激动剂。在一些实施方式中，ALDH 激动剂是 ALDH3 激动剂。可将 ALDH 激动剂配制成用于眼睛给药，例如局部给予眼睛，注射入眼睛（例如，玻璃体内注射）或经某些其它给药途径给予眼睛。可用本发明 ALDH 激动剂治疗的眼睛疾病包括，例如年龄相关的白内障、继发性白内障、创伤性白内障、先天性白内障、年龄相关的黄斑退行性改变、放射性白内障 (radiation cataracts) 等。

[0576] 白内障的风险因素有接触紫外光（可产生毒性醛，例如 4- 羟基 -2- 壬醛）、接触香烟烟雾（香烟烟雾含有大量反应活性醛，例如丙烯醛）。参见，例如 Jia 等 .，Invest Ophthalmol Vis Sci. 2007 年 1 月 ;48(1) :339-48. PMID :17197552 ;J Dong 等 .，Neurochem. 2007 年 11 月 ;103(3) :1041-52. PMID :17935603 ;Papa 等 .，Free Radic Biol Med. 2003 年 5 月 1 ;34(9) :1178-89. PMID :12706498 ;King 等 . J Exp Zool. 1998 年 9-10 月 1 ;282(1-2) :12-7. PMID :9723161)。本发明提供治疗白内障的方法，该方法通常包括给予有此需要的个体有效量的本发明 ALDH 激动剂，例如本发明的 ALDH3 激动剂。

[0577] 可将本发明 ALDH 激动剂给予有此需要的个体以治疗眼睛疾病（例如，白内障、年龄相关的黄斑退行性改变等），其中所述 ALDH 激动剂以（例如）滴眼液形式局部给予眼睛。或者，可通过其它眼睛给药途径，例如玻璃体内给予本发明的 ALDH 激动剂。

[0578] 本发明的ALDH激动剂可每月给予一次、每月两次、每月三次、每隔一周一次(qow)、每周一次(qw)、每周两次(biw)、每周三次(tiw)、每周四次、每周五次、每周六次、每隔一日一次(qod)、每日一次(qd)、每日两次(bid)或每日三次(tid),以治疗眼睛疾病。可在约3个月到约1年、1年到10年或超过10年期间给予本发明ALDH激动剂。

[0579] 在一些实施方式中,当给予本发明ALDH激动剂治疗白内障时,在白内障手术之前或之后给予ALDH激动剂。

[0580] 治疗皮肤疾病的方法

[0581] 本发明提供治疗皮肤疾病的方法,该方法通常包括给予有此需要的个体有效量的本发明ALDH激动剂。

[0582] 可用本发明ALDH激动剂治疗的皮肤疾病包括但不限于:放射性皮炎(radiation dermatitis)、特应性皮炎、晒伤、皮肤的紫外线辐射损伤、皮肤老化和过早脱发。

[0583] 在一些实施方式中,为治疗皮肤疾病,将本发明ALDH激动剂局部给予皮肤,例如给予受皮肤疾病影响的皮肤区域。

[0584] 本发明还提供至少减轻外观细纹、皱纹、皮肤粗糙和毛孔大小的方法。该方法通常包括将有效量的本发明ALDH激动剂局部给予至个体的皮肤。在一些实施方式中,本发明的ALDH激动剂能提高ALDH酶的活性将视黄醛转变成视黄酸。在一些实施方式中,如上所述,将本发明ALDH激动剂配制成局部给予皮肤。在一些实施方式中,将本发明的ALDH激动剂与视黄醛一起配制。参见,例如美国专利第6,544,531号。在一些实施方式中,将本发明的ALDH激动剂与视黄醛和乙醇酸一起配制。

[0585] 本发明也提供治疗痤疮的方法。该方法通常包括将有效量的本发明ALDH激动剂局部给予至个体的皮肤。在一些实施方式中,本发明的ALDH激动剂能提高ALDH酶的活性将视黄醛转变成视黄酸。

[0586] 治疗辐射导致的上皮细胞损伤的方法

[0587] 本发明还提供治疗辐射和化疗导致上皮细胞损伤的方法。癌症治疗所用的辐射可损伤上皮细胞,导致诸如放射性粘膜炎(radiation mucositis)和放射性皮炎等疾病。癌症化疗也可导致粘膜炎。本发明提供治疗粘膜炎的方法,该方法通常包括将有效量的本发明ALDH激动剂给予有此需要的个体(例如,经历头颈癌放疗和因癌症治疗而患有放射性粘膜炎的个体;经历骨盆或腹部辐射以治疗癌症和因辐射而患有粘膜炎的个体;经历癌症化疗和因化疗而患有粘膜炎的个体)。

[0588] 本发明提供治疗放射性皮炎的方法,该方法通常包括将有效量的ALDH激动剂给予有此需要的个体。在一些实施方式中,所述ALDH激动剂是本发明的ALDH激动剂。在其它实施方式中,所述ALDH激动剂是,例如WO 2008/122164中公开的ALDH激动剂。癌症放疗、心导管插入(参见,例如Schecter等.(2003)J.Drugs Dermatol.2:425)和荧光透视程序可导致放射性皮炎。本发明方法适合治疗接触以下一种或多种导致的放射性皮炎:质子射线、荧光射线、紫外线、α射线、β射线和γ射线。在一些实施方式中,本发明方法提供癌症放疗所致放射性皮炎的治疗方法。本发明方法还可用于治疗接触辐射的人,例如接触放射性攻击、核事故或其它辐射的人。

[0589] 用本发明方法治疗放射性皮炎可缓解放射性皮炎的一种或多种症状。因此,在一些实施方式中,“有效量”的ALDH激动剂是能缓解放射性皮炎的一种或多种症状,例如减轻

放射性皮炎的一种或多种不利症状严重程度的用量，此类症状包括，例如脱毛、水肿、干性脱皮、湿性脱皮、溃疡、出血和皮肤细胞坏死。在一些实施方式中，ALDH 激动剂的“有效量”是与不用 ALDH 激动剂治疗时的严重程度和 / 或持续时间相比，使放射性皮炎的严重程度和 / 或持续时间减轻至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 40％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％或超过 70％时的用量。

[0590] 可将 ALDH 激动剂或含 ALDH 激动剂的制剂施加于皮肤、头皮、口腔、鼻食道系统 (nasoesophageal system)、胃肠道和泌尿生殖系统之一或多个。

[0591] 用本发明方法治疗放射性皮炎包括在皮肤区域接触辐射之前、期间或之后将包含 ALDH 激动剂的本发明组合物局部施加于皮肤区域的步骤。

[0592] 在一些实施方式中，视需要将含有效量的 ALDH 激动剂的组合物每日一次到六次施加于皮肤（例如，受影响的区域或要受影响的区域）。

[0593] 在一些实施方式中，在个体接触电离辐射之前，将含有效量的 ALDH 激动剂的组合物施加于个体的皮肤。例如，在一些实施方式中，在个体接触电离辐射（例如，癌症放疗）之前约 5 分钟到约 15 分钟、约 15 分钟到约 30 分钟、约 30 分钟到约 1 小时、约 1 小时到约 4 小时、约 4 小时到约 8 小时、约 8 小时到约 12 小时、约 12 小时到约 18 小时、约 18 小时到约 24 小时、约 1 天到约 2 天、约 2 天到约 3 天、约 3 天到约 4 天或约 4 天到约 5 天，将含有效量的 ALDH 激动剂的组合物施加于个体的皮肤。在一些实施方式中，在个体接触电离辐射之前约 12 小时到约 24 小时、约 1 天到约 2 天、约 2 天到约 3 天、约 3 天到约 4 天或约 4 天到约 5 天的时期内多次施加 ALDH 激动剂。

[0594] 在其它实施方式中，在个体接触电离辐射后将含有效量 ALDH 激动剂的组合物施加于个体的皮肤，例如在个体接触电离辐射后约 5 分钟到约 10 分钟、约 10 分钟到约 15 分钟、约 15 分钟到约 30 分钟、约 30 分钟到约 1 小时、约 1 小时到约 4 小时、约 4 小时到约 8 小时、约 8 小时到约 12 小时、约 12 小时到约 18 小时或约 18 小时到约 24 小时，将有效量的 ALDH 激动剂施加于个体的皮肤。

[0595] 在其它实施方式中，在个体接触电离辐射之前和个体接触电离辐射之后，将含有效量 ALDH 激动剂的组合物施加于个体的皮肤。

[0596] 可多次施加 ALDH 激动剂，例如多次局部施加于将经历癌症放疗或已经历癌症放疗的个体的皮肤。例如，可视需要每日一次、每日两次、每日三次、每日四次、每隔一日一次、每周两次或每周一次将 ALDH 激动剂施加于皮肤，其中 ALDH 激动剂给予至个体皮肤的频率取决于各种因素，包括，例如放射性皮炎的严重程度、放射性皮炎的预计严重程度、个体的年龄等。

[0597] 放疗可包括，例如每日 1.8Gy 到每日 2Gy，或每日 1.5Gy 到每日 1.8Gy。例如，放疗可包括 20Gy 到 40Gy、45Gy 到 60Gy，或 60Gy 到 80Gy，可分级（例如，个体接受每日 1.5Gy 到每日 1.8Gy，或每日 1.8Gy 到每日 2Gy）。

[0598] 在一些实施方式中，本发明方法可提高对电离辐射的耐受剂量。因此，在一些实施方式中，本发明治疗方法包括 :a) 给予有此需要的个体（例如，患癌症可用癌症放疗治疗的的个体）一定剂量的电离辐射 ;和 b) 局部给予该个体有效量的 ALDH 激动剂，其中所述激动剂能有效减轻放射性皮炎的程度或严重性，所述电离辐射的剂量比不用 ALDH 激动剂治疗时该个体能够耐受的剂量高至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约

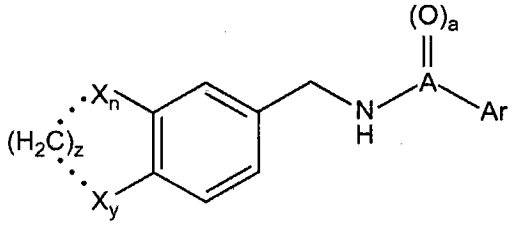
30％或 30％以上。

[0599] ALDH 激动剂

[0600] 如上所述，在一些实施方式中，与本发明方法联用以治疗辐射诱导上皮细胞损伤的 ALDH 激动剂是本发明的 ALDH 激动剂。在其它实施方式中，所述 ALDH 激动剂是，例如 WO 2008/122164 所述的 ALDH 激动剂。

[0601] WO 2008/122164 所述适合与本发明方法联用治疗辐射导致的上皮细胞损伤的 ALDH 激动剂包括通式 VI 所示化合物或其前药、药学上可接受的盐、类似物或衍生物，如下所示：

[0602]



式 VI

[0603] 式中 X_n 和 X_y 各自独立为 H、C、N、O 或卤素（如 F、Br、Cl 或 I）

[0604] …（虚线）是任选的键；

[0605] z 是整数 0、1 或 2，限制条件是：1) X ＝卤素和…不是键时，z ＝ 0；和 2) z ＝ 0、X ＝ O、…不是键，并且存在一个或多个氧原子 (X) 时，氧连接于甲基；

[0606] n 是整数 0 或 1；

[0607] y 是整数 0 或 1；

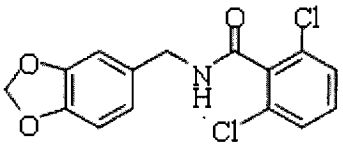
[0608] 其中 A ＝ C 或 S，并且当 A ＝ C 时 a ＝ 1；当 A ＝ S 时 a ＝ 2；

[0609] Ar 是苯基或噻吩环；其中 Ar 的羰基或磺酰基的邻位被一个或多个取代基任选取代，所述取代基独立选自甲基、卤素、三氟甲基或苯基；其中 Ar 在羰基或磺酰基的间位或对位上任选被卤素取代；当 Ar 是噻吩环时，羰基或磺酰基连接于噻吩环的 2 位或 3 位。

[0610] 合适的 ALDH 激动剂的例子包括如下所示的化合物 1-4 或 WO 2008/122164 中公开的任何化合物

[0611]

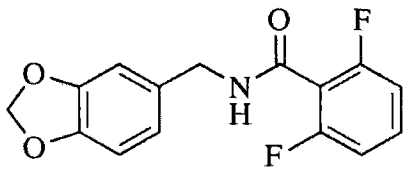
化合物 1



[0612] 化合物 1：(N-(1,3- 苯并间二氧杂环戊烯 -5- 基甲基)-2,6- 二氯苯甲酰胺)。化合物 1 也称为 Alda-1。

[0613] 化合物 2 具有以下结构

[0614]



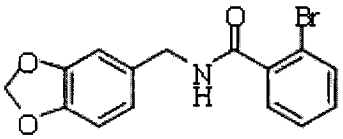
化合物 2

[0615] 化合物 2 :(N-(1,3- 苯并间二氧杂环戊烯 -5- 基甲基)-2,6- 二氟苯甲酰胺)

[0616] 化合物 3 具有以下结构

[0617]

化合物 3



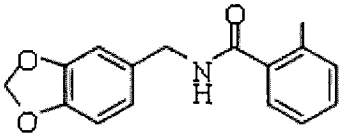
[0618] 化合物 3 :(N-(1,3- 苯并间二氧杂环戊烯 -5- 基甲基)-2- 溴苯甲酰胺)

[0619] 在一些实施方式中,专门排除化合物 1、化合物 2 和化合物 3 中的一种或多种。

[0620] 化合物 4 具有以下结构

[0621]

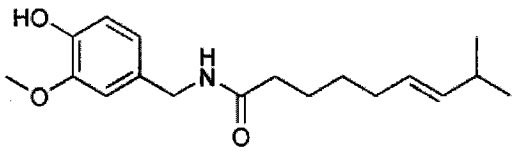
化合物 4



[0622] 化合物 4 :(N-(1,3- 苯并间二氧杂环戊烯 -5- 基甲基)-2- 碘苯甲酰胺)

[0623] ALDH 激动剂的其它例子是辣椒辣素。辣椒辣素具有以下结构 :

[0624]



。

[0625] 治疗慢性和急性自由基相关疾病的方法

[0626] 本发明提供治疗个体的慢性和急性自由基相关疾病的方法,该方法通常包括给予有此需要的对象有效量的本发明 ALDH 激动剂。

[0627] 急性自由基相关疾病

[0628] 本发明提供治疗个体的急性自由基相关疾病的方法,该方法通常包括给予有此需要的对象有效量的本发明 ALDH 激动剂。适合本发明方法治疗的急性自由基相关疾病包括癫痫发作 (Patel 等 .(2001)Journal of Neurochemistry 79 :1065-1069) ;接触紫外线导致的皮肤损伤和皮肤光损伤 (例如,“晒伤”)(Aldini 等 .(2007)Chem Res Toxicol.20(3) :416-23) ;急性皮肤热烧伤 (Pintaudi 等 .(2000)Free Radical Res.33(2) :139-46) ;和组织高氧症 (hyperoxia)(例如,高氧症诱导的慢性肺病 ;和支气管肺发育异常)(Xu 等 .(2006)Am J.Phsiol.Lung Cell.Mol.Physiol.291(5) :L966-75)。

[0629] 本发明提供治疗个体晒伤的方法,该方法通常包括给予有此需要的对象有效量的本发明 ALDH 激动剂。在一些实施方式中,治疗晒伤的本发明方法包括将含本发明 ALDH 激动剂的制剂局部应用于受晒伤影响的皮肤区域。

[0630] 本发明提供治疗个体癫痫发作的方法,该方法通常包括给予有此需要的对象有效量的本发明 ALDH 激动剂。在一些实施方式中,在癫痫发作发生后,例如,癫痫发作后约 1 分钟至 5 分钟内、约 5 分钟至 15 分钟内、约 15 分钟至 30 分钟内、约 30 分钟至 1 小时内或约 1 小时至 4 小时内给予本发明的 ALDH 激动剂。在其它实施方式中,预防性给予本发明的 ALDH

激动剂，例如，将本发明 ALDH 激动剂给予过去曾经发生过癫痫发作的个体，以降低再次发生癫痫发作的概率。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的有效量是能有效降低癫痫发作严重性、发作频率和发作持续时间中至少一种的用量。

[0631] 慢性自由基相关疾病

[0632] 本发明提供治疗个体慢性自由基相关疾病的方法，该方法通常包括给予有此需要的对象有效量的本发明 ALDH 激动剂。适合本发明方法治疗的慢性自由基相关疾病包括神经退变性疾病，例如帕金森病和阿尔茨海默病 (Burke 等 . (2003)Neurol.Dis.2(2) :143 ; Ohta 和 Ohsawa(2006)J.Alzheimer's Disease 9(2) :155) ；肌萎缩性侧索硬化 (ALS) ；癌症，例如食道癌 (Chen 等 . (2006)Int J Cancer 2119(12) :2827-31) ；上呼吸消化道 (upper aerodigestive tract) 癌症 (Hashibe 等 . (2006)Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.15(4) :696-703) ；头颈鳞状细胞癌 (Hashimoto 等 . (2006)Tumour Biol.27(6) : 334-8 ;Yokoyama 等 . (2005)Alcohol.35(3) :175-85) ；外周动脉疾病 (参见，例如 Wenzel 等 . (2008)Cardiovasc.Res.80 :280 ；和 Pipinos 等 . (2006)Free Radical Biol.Med.41 : 262) ；心血管疾病，如动脉粥样硬化 (Narita 等 . (2003)Ultrasound in Medicine and Biology 29(10) :1415-1419) ；等等。在一些实施方式中，用本发明 ALDH 激动剂长期 (如每天) 疗法治疗慢性自由基相关疾病。

[0633] 本发明提供治疗患有阿耳茨海默病 (AD) 个体 AD 的方法，该方法通常包括给予所述该对象有效量的本发明 ALDH 激动剂。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的“有效量”是至少能有效减慢该个体认知功能下降的用量。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的“有效量”是能有效改善所治疗个体记忆力的用量。在一些实施方式中，在约 3 个月至 6 个月、约 6 个月至 1 年或 1 年以上的时期将本发明 ALDH 激动剂全身性给予个体。

[0634] 本发明提供治疗个体帕金森病的方法，该方法通常包括给予该个体有效量的本发明 ALDH 激动剂。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的“有效量”是能有效改善帕金森病之一种或多种症状的用量。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的“有效量”是能有效减慢该疾病进程的用量。在一些实施方式中，在约 3 个月至 6 个月、约 6 个月至 1 年或 1 年以上的时期将本发明 ALDH 激动剂全身性给予个体。

[0635] 治疗心脏病的方法

[0636] 本发明提供治疗例如心绞痛、心力衰竭、对硝酸甘油不敏感的心绞痛和心力衰竭 (Li 等 . (2006)J.Clin.Invest.116 :506-511) 、高血压 (Asselin 等 . (2006)Free Radical Biol.and Med.41 :97) 和心脏病等疾病的方法。该方法通常包括给予有此需要的个体有效量的本发明 ALDH 激动剂。

[0637] 在一些实施方式中，将本发明 ALDH 激动剂与硝酸甘油治疗联合给予个体。本发明的 ALDH 激动剂和硝酸甘油可通过相同给药途径 (如口服、舌下、透皮、经舌等) 给药。或者，本发明 ALDH 激动剂和硝酸甘油可通过不同途径给药。例如，在一些实施方的式中，舌下、经舌、透皮或口服给予硝酸甘油 ；通过不同给药途径 (如静脉内、肌肉内等) 给予本发明 ALDH 激动剂。可以在给予硝酸甘油之前、期间或之后给予 ALDH 激动剂。

[0638] 本发明 ALDH 激动剂的有效量是与硝酸甘油联合治疗时，在给予 ALDH 激动剂后约 1 分钟至 2 分钟、约 2 分钟至 3 分钟、约 3 分钟至 4 分钟、约 4 分钟至 5 分钟或约 5 分钟至 10 分钟的时期内，使心绞痛有效减轻至少约 10％、至少约 20％、至少约 30％、至少约 40％、至

少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％或至少约 90％或更多的用量。在一些实施方式中，本发明的 ALDH 激动剂和硝酸甘油基本上同时，例如彼此在约 2 分钟内、约 1 分钟内或约 30 秒内给药。术语“与硝酸甘油联合治疗”包括本发明 ALDH 激动剂与硝酸甘油基本上同时给予；在给予硝酸甘油之前给予本发明 ALDH 激动剂；在给予硝酸甘油之后给予本发明 ALDH 激动剂；等等。

[0639] 在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的有效量是能有效治疗高血压，例如减轻个体高血压之一种或多种症状或指标的用量。例如，在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的有效量是能有效地使个体血压降低至少约 5％、至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％或至少约 25％或更多或者使个体血压恢复到正常范围内的用量。

[0640] 在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的有效量是能有效治疗心脏病，例如减轻个体心脏病之一种或多种症状或指标的用量。可采用评估心脏功能的标准方法，例如心电图、血管造影等确定给定的 ALDH 激动剂能否有效治疗心脏病。

[0641] 解毒方法

[0642] 本发明提供降低个体中毒性化合物水平的方法，该方法通常包括给予有此需要的个体有效量的本发明 ALDH 激动剂。本发明提供治疗与化合物（例如外源醛、生源醛、或者摄入、吸入或吸收而产生 ALDH 的底物醛的化合物）的毒性水平相关或所致疾病的方法，该方法通常包括给予有此需要的个体有效量的本发明 ALDH 激动剂，将个体中该化合物的水平降低至无毒水平。

[0643] 可用本发明方法降低个体中水平的有毒化合物包括但不限于：乙醇，甲醇，乙二醇单甲醚，外源醛，生源醛和摄入、吸收或吸入化合物经体内代谢产生的醛。本发明 ALDH 激动剂的给药量是以一个或多个剂量给药时，能有效降低化合物如乙醇，甲醇，乙二醇单甲醚，外源醛，生源醛或者摄入、吸收或吸入化合物经体内代谢产生的醛的毒性水平的用量。在一些实施方式中，所述醛是乙醛。

[0644] 例如，将本发明 ALDH 激动剂给予过量消耗酒精（如乙醇）后的个体；与 ALDH 激动剂治疗前个体的醇或醛的水平相比，使个体中醇或醛（如，作为乙醇代谢产物的醛）的水平降低至少约 10％、至少约 20％、至少约 30％、至少约 40％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％或至少约 90％或更多。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的给药量是在给予 ALDH 激动剂后约 5 分钟至 15 分钟、约 15 分钟至 30 分钟、约 30 分钟至 1 小时、约 1 小时至 2 小时、约 2 小时至 4 小时、约 4 小时至 6 小时、约 6 小时至 8 小时或更长时期内，使毒性醇或醛水平有效降低至少约 10％、至少约 20％、至少约 30％、至少约 40％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％或更多的用量。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的给药量是在给予 ALDH 激动剂后约 5 分钟至 15 分钟、约 15 分钟至 30 分钟、约 30 分钟至 1 小时、约 1 小时至 2 小时、约 2 小时至 4 小时、约 4 小时至 6 小时、约 6 小时至 8 小时或更长时期内，使毒性醇或醛水平有效降低至无毒水平的用量。

[0645] 例如，将本发明的 ALDH 激动剂给予消耗过量酒精（如乙醇）后的个体；与 ALDH 激动剂治疗前个体的醇或醛的水平相比，使个体中乙醛水平降低至少约 10％、至少约 20％、至少约 30％、至少约 40％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％或至少约 90％或更多。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的给药量是在给予 ALDH 激动剂后约 5 分钟至 15 分钟、约 15 分钟至 30 分钟、约 30 分钟至 1 小时、约 1 小时至 2 小时、约 2 小时

至 4 小时、约 4 小时至 6 小时、约 6 小时至 8 小时或更长时期内，使乙醛水平有效降低至少约 10％、至少约 20％、至少约 30％、至少约 40％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％或更多的用量。

[0646] 本发明提供降低醛毒性的方法，该方法通常包括给予有效量的本发明 ALDH 激动剂。在一些实施方式中，ALDH 激动剂的有效量是能有效减轻醛毒性之一种或多种症状的用量。例如，在一些实施方式中，ALDH 激动剂的有效量是能有效减轻消耗过量乙醇产生的一种或多种症状的用量，此类症状包括例如，头痛、脱水、疲劳、恶心、呕吐、腹泻、虚弱、焦虑、易激惹、畏光、声音恐怖等。

[0647] 例如，将本发明 ALDH 激动剂给予患有毒性水平醛（例如，摄入过量乙醇后）的个体；使得与 ALDH 激动剂治疗前个体中的醛水平相比，个体中醛的毒性水平降低至少约 10％、至少约 20％、至少约 30％、至少约 40％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％或更多。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的给药量是在给予 ALDH 激动剂后约 5 分钟至 15 分钟、约 15 分钟至 30 分钟、约 30 分钟至 1 小时、约 1 小时至 2 小时、约 2 小时至 4 小时、约 4 小时至 6 小时、约 6 小时至 8 小时或更长时期内，使毒性醛水平有效降低至少约 10％、至少约 20％、至少约 30％、至少约 40％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％或更多的用量。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的给药量是在给予 ALDH 激动剂后约 5 分钟至 15 分钟、约 15 分钟至 30 分钟、约 30 分钟至 1 小时、约 1 小时至 2 小时、约 2 小时至 4 小时、约 4 小时至 6 小时、约 6 小时至 8 小时或更长时期内，使毒性醛水平有效降低至无毒水平的用量。

[0648] 在一些实施方式中，例如，如上所述消耗过量乙醇后，本发明 ALDH 激动剂能降低乙醇和醛的水平。

[0649] 例如，将本发明 ALDH 激动剂给予患有毒性水平甲醇或乙二醇单甲醚的个体；与 ALDH 激动剂治疗前个体中的甲醇或乙二醇单甲醚水平相比，甲醇或乙二醇单甲醚的毒性水平降低至少约 10％、至少约 20％、至少约 30％、至少约 40％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％或更多。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的给药量是在给予 ALDH 激动剂后约 5 分钟至 15 分钟、约 15 分钟至 30 分钟、约 30 分钟至 1 小时、约 1 小时至 2 小时、约 2 小时至 4 小时、约 4 小时至 6 小时、约 6 小时至 8 小时或更长时期内，使毒性甲醇或乙二醇单甲醚水平有效降低至少约 10％、至少约 20％、至少约 30％、至少约 40％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％或更多的用量。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的给药量是在给予 ALDH 激动剂后约 5 分钟至 15 分钟、约 15 分钟至 30 分钟、约 30 分钟至 1 小时、约 1 小时至 2 小时、约 2 小时至 4 小时、约 4 小时至 6 小时、约 6 小时至 8 小时或更长时期内，使毒性甲醇或乙二醇单甲醚水平有效降低至无毒水平的用量。

[0650] 再例如，将本发明 ALDH 激动剂给予出现药物毒性的个体，例如给予摄入、吸收或吸入药物（如药物化合物、违禁药品等）后毒性水平醛的个体。在一些实施方式中，摄入、吸收或吸入药物后通过药物体内代谢产生醛。与 ALDH 激动剂治疗前个体中醛的水平相比，醛的毒性水平降低至少约 10％、至少约 20％、至少约 30％、至少约 40％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％或更多。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的给药量是在给予 ALDH 激动剂后约 5 分钟至 15 分钟、约 15 分钟至 30 分钟、约 30 分钟

至 1 小时、约 1 小时至 2 小时、约 2 小时至 4 小时、约 4 小时至 6 小时、约 6 小时至 8 小时或更长时期内，使毒性醛水平有效降低至少约 10％、至少约 20％、至少约 30％、至少约 40％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％或更多的用量。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的给药量是在给予 ALDH 激动剂后约 5 分钟至 15 分钟、约 15 分钟至 30 分钟、约 30 分钟至 1 小时、约 1 小时至 2 小时、约 2 小时至 4 小时、约 4 小时至 6 小时、约 6 小时至 8 小时或更长时期内，使毒性醛水平有效降低至无毒水平的用量。

[0651] 降低猪毛菜酚水平的方法

[0652] 本发明提供降低个体中猪毛菜酚 (salsolinol) 水平的方法，该方法通常包括给予该个体有效量的本发明 ALDH 激动剂。猪毛菜酚 (1- 甲基 -6,7- 二羟基 -1,2,3,4- 四氢异喹啉）是多巴胺与乙醛的缩合产物。乙醛是乙醇的代谢产物。与非酗酒者相比，酗酒者的血浆猪毛菜酚水平较高。降低猪毛菜酚水平可用于减轻酒精成瘾。

[0653] 在一些实施方式中，将有效量的本发明 ALDH 激动剂给予有此需要的消耗过量酒精（如乙醇）后的个体；与 ALDH 激动剂治疗前个体的猪毛菜酚水平相比，该有效量使个体中猪毛菜酚水平降低至少约 10％、至少约 20％、至少约 30％、至少约 40％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％或至少约 90％或更多。在一些实施方式中，可在任何时间（例如不一定在消耗过量乙醇后），将有效量的本发明 ALDH 激动剂给予有此需要的个体。在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的给药量是在给予 ALDH 激动剂后约 5 分钟至 15 分钟、约 15 分钟至 30 分钟、约 30 分钟至 1 小时、约 1 小时至 2 小时、约 2 小时至 4 小时、约 4 小时至 6 小时、约 6 小时至 8 小时或更长时间内，使猪毛菜酚水平有效降低至少约 10％、至少约 20％、至少约 30％、至少约 40％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％或更多的用量。在一些这样的实施方式中，所述个体是诊断为酒精中毒的个体。酒精中毒的症状和诊断可参见例如，Enoch 和 Goldman(2002)American Family Physician 65 :441。

[0654] 治疗糖尿病的方法

[0655] 本发明提供治疗糖尿病的方法，该方法通常包括给予有此需要的个体有效量的本发明 ALDH 激动剂。在一些实施方式中，治疗糖尿病的本发明方法提供对糖尿病所引起疾病，如糖尿病性肾病、糖尿病性神经病等的治疗。

[0656] 在一些实施方式中，本发明 ALDH 激动剂的给药量能有效降低个体的血糖水平，例如，与不用该激动剂治疗时的血糖水平相比，个体的血糖水平降低至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 40％或至少约 50％。在一些实施方式中，ALDH 激动剂的有效量是使血糖水平有效降低至正常范围的用量。餐前，正常禁食的血糖水平范围一般约 70mg/dL 至 110mg/dL。餐后 2 小时的正常血糖水平通常低于约 120mg/dL。口服葡萄糖耐受试验（包括饮用含有约 75g 葡萄糖的糖溶液；然后测定饮用糖液后不同时间的血糖水平）期间的正常血糖水平包括：饮用糖液后 2 小时低于 140mg/dL；饮用糖液后 0-2 小时的所有读数均小于 200mg/dL。血糖水平有时也以 mmol/L 表示。正常血糖水平通常在约 4mmol/L-8mmol/L 之间。餐后 90 分钟正常血糖水平通常低于约 10mmol/L；餐前为约 4mmol/L- 约 7mmol/L。

[0657] 在一些实施方式中，本发明治疗方法包括给予本发明 ALDH 激动剂同时给予至少一种第二治疗剂（如胰岛素），以治疗糖尿病。适合用于本发明的胰岛素包括但不限

于：常规胰岛素、速效胰岛素锌悬液（semilente）、NPH、纯化猪胰岛素锌悬液（lente）、鱼精蛋白胰岛素锌（PZI）、长效胰岛素锌悬液（ultralente）、甘精胰岛素、速效胰岛素制剂（insulin aspart）、酰化胰岛素、单体胰岛素、超活性胰岛素、肝选择性胰岛素和任何其它胰岛素类似物或衍生物，以及上述任何物质的混合物。适合用于本发明的胰岛素包括但不限于以下专利文件公开的胰岛素形式：美国专利号 4,992,417；4,992,418；5,474,978；5,514,646；5,504,188；5,547,929；5,650,486；5,693,609；5,700,662；5,747,642；5,922,675；5,952,297；和 6,034,054；和公布的 PCT 申请 WO 00/121197；WO 09/010645；和 WO 90/12814。胰岛素类似物包括但不限于：超活性胰岛素类似物、单体胰岛素和肝特异性胰岛素类似物。

[0658] 治疗骨质疏松的方法

[0659] 本发明提供治疗骨质疏松的方法，该方法通常包括给予有此需要的个体有效量的本发明 ALDH 激动剂。在一些实施方式中，ALDH 激动剂的“有效量”是能有效提高个体骨密度的用量。在其它实施方式中，ALDH 激动剂的“有效量”是能有效降低骨密度流失速率的用量。

[0660] 治疗头颈癌的方法

[0661] 本发明提供治疗头颈癌的方法，例如在头或颈区域发生或产生的癌症（例如，毒性醛累积或 ALDH 活性降低所致），如在鼻腔、鼻窦、唇、口腔、唾液腺、咽、喉中发生的癌症。这些方法通常包括给予有此需要的个体有效量的 ALDH 激动剂，例如 ALDH1 激动剂、ALDH2 激动剂或 ALDH3 激动剂；或 ALDH1 激动剂、ALDH2 激动剂和 ALDH3 激动剂中的两种或多种组合。在一些实施方式中，ALDH 激动剂是本发明的 ALDH 激动剂。在其它实施方式中，ALDH 激动剂是 WO 2008/122164 中公开的 ALDH 激动剂。

[0662] 在一些实施方式中，本发明方法包括给予有产生头颈癌风险的个体有效量的 ALDH 激动剂，ALDH 激动剂的有效量是能有效降低个体发生头颈癌风险的用量。例如，个体是习惯使用蒌叶咀嚼物（betel quid）的人（例如，习惯咀嚼蒌叶咀嚼物的人）。蒌叶咀嚼物是蒌叶和槟榔子（areca nut）的混合物。有时将烟草与蒌叶咀嚼物混合。咀嚼蒌叶咀嚼物（有时与烟草混合）；习惯性地长期使用蒌叶咀嚼物与口腔和食道鳞状细胞癌高风险相关。

[0663] 在一些实施方式中，本发明方法包括给予由于习惯性使用蒌叶咀嚼物而发生口腔或食道鳞状细胞癌（头颈癌）风险高于普通人群的个体有效量的 ALDH 激动剂，其中所述 ALDH 激动剂全身性或局部给予。可通过给予口腔制剂形式，例如口腔清洗剂、牙膏、糖锭、咀嚼胶、牙齿凝胶、牙粉等的 ALDH 激动剂来实现局部给予至口腔，如上所述。在一些实施方式中，ALDH 的有效量是与未用 ALDH 激动剂治疗的个体相比，给予一个或多个剂量时能有效降低个体发生头颈癌风险的用量，例如能有效降低该风险至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 40％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％或超过 80％。

[0664] 在一些实施方式中，将 ALDH 激动剂给予患头颈癌的个体。在一些实施方式中，单独给予 ALDH 激动剂，例如在不共同给予任何其它抗癌药的单一疗法中。在其它实施方式中，联合给予 ALDH 激动剂与标准癌症治疗（例如，化疗、放疗、外科手术或它们的组合）。例如，可联合给予 ALDH 激动剂与以下来治疗喉癌：1）放疗；2）外科手术（例如，激光切除手术）；3）顺铂 /5-FU 联合治疗，然后进行放疗；或 4）放疗和顺铂治疗。另一非限制性例子是

联合给予 ALDH 激动剂与以下来治疗口腔癌症 :1) 外科手术 ;2) 放疗 (例如,外部放射线束治疗或组织间植入放疗) ;或 3) 外科手术联合放疗的组合。

[0665] 与合适的对照相比,本发明方法能有效减少肿瘤负荷至少约 5%、至少约 10%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 50%、至少约 75%、至少约 85%或至少约 90%,直至完全根除肿瘤。因此,在这些实施方式中,本发明 ALDH 拮抗剂的有效量是与标准癌症疗法联用时,与合适的对照相比,能有效减少肿瘤负荷至少约 5%,至少约 10%,至少约 20%,至少约 25%,至少约 50%,至少约 75%,至少约 85%,至少约 90%,直至完全根除肿瘤的用量。在实验动物系统中,合适的对照可以是遗传上相同而未用该药物治疗的动物。在非实验系统中,合适的对照可以是给予该药物前就存在的肿瘤负荷。其他合适的对照可以是安慰剂对照。

[0666] 可用任何已知方法测定肿瘤负荷是否降低,包括但不限于 :测定实体瘤的质量 ;用细胞学试验计数肿瘤细胞 ;荧光活化细胞分选 (例如,用肿瘤相关抗原的特异性抗体) ;肿瘤的计算机断层扫描、磁共振成像和 / 或 x- 射线成像以估计和 / 或监测肿瘤大小 ;测定生物样品 (例如,血液、血清、血浆等) 中肿瘤相关抗原的含量 ;等等。

[0667] 癌症治疗的联合疗法

[0668] 本发明提供治疗癌症的方法,例如 ALDH 激动剂适合使癌细胞对癌症化疗剂或其它标准癌症疗法,例如放疗敏感。在一些实施方式中,所述 ALDH 激动剂是本发明的 ALDH 激动剂。在其它实施方式中,所述 ALDH 激动剂是 WO 2008/122164 中公开的 ALDH 激动剂。

[0669] 在一些实施方式中,本发明方法能降低导致减少个体癌细胞数和 / 或减小肿瘤质量所需的化疗剂用量或电离辐射剂量。因此,例如在一些实施方式中,本发明提供治疗患癌症个体的癌症的方法,该方法通常包括给予 :a)ALDH 激动剂 ;和 b) 癌症化疗剂,所述 ALDH 激动剂和癌症化疗剂以组合有效量给予,所述组合有效量将个体中的肿瘤细胞数量和 / 或肿瘤质量有效减少至少约 10%、至少约 20%、至少约 30%、至少约 40%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%、至少约 90%或多于 90%,其中癌症化疗剂的剂量比单一疗法 (不共同给予 ALDH 激动剂) 减少同样数量癌细胞或肿瘤质量所需给予的化疗剂剂量低至少约 5%、至少约 10%、至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%或 25%以上。

[0670] 在一些实施方式中,本发明提供治疗患癌症个体的癌症的方法,该方法通常包括给予 :a)ALDH 激动剂 ;和 b) 电离辐射,其中所述 ALDH 激动剂和所述电离辐射以组合有效量给予,所述组合有效量将个体中的肿瘤细胞数量和 / 或肿瘤质量有效减少至少约 10%、至少约 20%、至少约 30%、至少约 40%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%、至少约 90%或多于 90%,其中电离辐射的剂量比单一疗法 (不共同给予 ALDH 激动剂) 减少同样数量的癌细胞或肿瘤质量所需给予的电离辐射剂量低至少约 5%、至少约 10%、至少约 15%、至少约 20%、至少约 25%或 25%以上。

[0671] 放疗包括但不限于,外部来源施加的例如射线束,或植入的小放射源递送的 x- 射线或 γ 射线。例如,放疗包括外部放射线束治疗和近程放疗。

[0672] 化疗剂是能降低癌细胞增殖的非肽 (即非蛋白性) 类化合物,包括细胞毒制剂和细胞生长抑制剂。化疗剂的非限制性例子包括烷化剂、亚硝基脲、抗代谢药物、抗肿瘤抗生素、植物 (长春花) 生物碱和类固醇激素。

[0673] 该领域已知并广泛使用降低细胞增殖的药剂。此类药剂包括烷化剂,如氮芥、

亚硝基脲、氮丙啶衍生物、烷基磺酸盐和三氮烯，包括但不限于：双氯乙基甲胺、环磷酰胺（环磷酰胺™）、美法仑（L-沙可来新）、卡莫司汀（BCNU）、洛莫司汀（CCNU）、司莫司汀（甲基-CCNU）、链佐星、吡葡亚硝脲、乌拉莫司汀、氮芥、异环磷酰胺、苯丁酸氮芥、哌泊溴烷、三乙烯三聚氰胺（triethylenemelamine）、曲他胺（triethylenethiophosphoramine）、白消安、达卡巴嗪和替莫唑胺。

[0674] 抗代谢剂包括叶酸类似物，嘧啶类似物，嘌呤类似物和腺苷脱氨酶抑制剂，包括但不限于：阿糖胞苷（CYTOSAR-U）、胞嘧啶阿糖胞苷、氟尿嘧啶（5-FU）、氟尿苷（FudR）、6-硫鸟嘌呤、6-巯基嘌呤（6-MP）、喷司他丁、5-氟尿嘧啶（5-FU）、甲氨蝶呤、10-炔丙基-5,8-二脱氮叶酸（PDDF、CB3717）、5,8-二脱氮四氢叶酸（DDATHF）、甲酰四氢叶酸、磷酸氟达拉滨、喷司他丁和吉西他滨。

[0675] 合适的天然产物和其衍生物（如，长春花生物碱、抗肿瘤抗生素、酶、淋巴因子和表鬼臼毒素），包括但不限于：Ara-C、紫杉醇（泰素®）、多西他赛（泰索帝®）、脱氧考福霉素、丝裂霉素-C、L-天冬酰胺酶、硫唑嘌呤；布喹那；生物碱，如长春新碱、长春碱、长春瑞滨、长春地辛等；鬼臼毒素，如依托泊甙、替尼泊苷等；抗生素，如蒽环类抗生素、盐酸道诺霉素（道诺霉素、柔红霉素、红比霉素）、黄胆素、多柔比星、表柔比星和吗啉代衍生物等；吩噁嗪酮（phenoxizone）双环肽，如放线菌素d；碱性糖肽，如博来霉素；蒽醌苷，如普卡霉素（光神霉素）；蒽二酮，如米托蒽醌；氮丙啶吡咯并吲哚二酮（azirinopyrroloindoledione），如丝裂霉素；大环类免疫抑制剂、如环孢菌素、FK-506（他克莫司、普乐可复）、雷帕霉素等等。

[0676] 其它抗增殖细胞毒剂有长春瑞滨、CPT-11、阿那曲唑（anastrazole）、来曲唑（letrazole）、卡培他滨、来罗噻吩（reloxafine）、环磷酰胺、异环磷酰胺（ifosamide）和多罗噻吩（droloxafine）。

[0677] 也适合采用的具有抗增殖活性的微管影响剂包括但不限于：异秋水仙素（NSC406042）、软海绵素B（NSC609395）、秋水仙素（NSC757）、秋水仙素衍生物（如NSC33410）、海兔毒素（dolstatin）10（NSC376128）、美登素（NSC153858）、根霉素（NSC332598）、紫杉醇（泰素®）、泰素®衍生物、多西他赛（泰素帝®）、硫代秋水仙素（NSC361792）、三苯甲基半胱氨酸（cysterin）、硫酸长春碱、硫酸长春新碱，天然和合成的大环内酯，包括但不限于：大环内酯A、大环内酯B、淅皮海绵内酯（discodermolide）；雌莫司汀、诺考达唑等。

[0678] 适合采用的激素调节剂和类固醇（包括合成类似物）包括但不限于：肾上腺皮质类固醇，如氯泼尼松、地塞米松等；雌激素和黄体酮，如己酸羟基孕酮、乙酸甲羟孕酮、乙酸甲地孕酮、雌二醇、氯米芬、他莫昔芬；等等；和肾上腺皮质抑制剂，如氨鲁米特；17α-炔雌醇；己烯雌酚、睾酮、氟甲睾酮、丙酸屈他雄酮、睾内酯、甲泼尼龙、甲基-睾酮、泼尼松龙、曲安西龙、氯烯雌醚、羟基孕酮、氨鲁米特、雌莫司汀、乙酸甲羟孕酮、亮丙瑞林、氟他胺（氟他米特）、托瑞米芬（法乐通）和诺雷德®。雌激素能刺激增殖和分化；因此，可用能结合雌激素受体的化合物阻断这种活性。皮质类固醇可抑制T细胞增殖。

[0679] 其它化疗剂包括金属络合物，如顺铂（顺-DDP）、卡铂等；脲，如羟基脲；和肼，如N-甲基肼；表叶毒素；拓扑异构酶抑制剂；丙卡巴肼；米托蒽醌；甲酰四氢叶酸；替加氟；等。其它感兴趣的抗增殖药包括免疫抑制剂，如霉酚酸、沙利度胺、脱氧精胍菌素、氮杂斯坡任（azasporine）、来氟米特、咪唑立宾、氮杂螺烷（azaspirane）（SKF 105685）；易瑞沙

(Iressa)®(ZD 1839,4-(3-氯-4-氟苯基氨基)-7-甲氧基-6-(3-(4-吗啉基)丙氧基)喹唑啉);等。

[0680] "紫杉烷"包括紫杉醇,以及任何有活性的紫杉烷衍生物或前药。采用本领域技术人员已知的技术(也参见WO 94/07882、WO 94/07881、WO 94/07880、WO 94/07876、WO 93/23555、WO 93/10076;美国专利号5,294,637;5,283,253;5,279,949;5,274,137;5,202,448;5,200,534;5,229,529和EP 590,267)不难制备"紫杉醇"(在本文应理解成包括其类似物、制剂和衍生物,例如多西他赛、TAXOL™、TAXOTERE™(多西他赛制剂)、紫杉醇的10-去乙酰基类似物和紫杉醇的3′ N-去苯甲酰基-3′ N-叔丁氧基羰基类似物),或可从各种商业来源获得,包括,例如密苏里州圣路易斯的西格玛化学品公司(Sigma Chemical Co.,St.Louis,MO)(短叶紫杉(Taxus brevifolia)的T7402;或云南紫杉(Taxus yannanensis)的T-1912)。

[0681] 应理解紫杉醇不仅指紫杉醇的普通化学形式,而且指其类似物和衍生物(如泰素帝多西他赛,如上所述)和紫杉醇偶联物(如紫杉醇-PEG、紫杉醇-右旋糖苷或紫杉醇-木糖)。

[0682] 术语"紫杉烷"还包括各种已知的衍生物,包括亲水性衍生物和疏水性衍生物。紫杉烷衍生物包括但不限于:国际专利申请号WO 99/18113描述的半乳糖和甘露糖衍生物;WO 99/14209描述的哌嗪子基(piperazino)和其它衍生物;WO 99/09021、WO 98/22451和美国专利号5,869,680描述的紫杉烷衍生物;WO 98/28288描述的6-硫醇衍生物;美国专利第5,821,263号描述的亚磺酰胺衍生物;和美国专利第5,415,869号描述的紫杉醇衍生物。还包括紫杉醇的前药,包括但不限于WO 98/58927;WO 98/13059;和美国专利第5,824,701号描述的那些。

[0683] 适合与本发明方法联用的生物反应修饰剂包括但不限于:(1)酪氨酸激酶(RTK)活性抑制剂;(2)丝氨酸/苏氨酸激酶活性抑制剂;(3)肿瘤相关抗原拮抗剂,如特异性结合肿瘤抗原的抗体;(4)凋亡受体激动剂;(5)白介素-2;(6)IFN-α;(7)IFN-γ;(8)集落刺激因子;(9)血管新生抑制剂;和(10)肿瘤坏死因子拮抗剂。

[0684] 治疗香烟烟雾导致肺癌的方法

[0685] 本发明提供治疗香烟烟雾导致肺癌的方法,例如长期接触(直接或二手的)香烟烟雾导致的肺癌。

[0686] 香烟烟雾中存在的至少六种毒性物质尤其有健康风险:丙烯醛、乙醛、丙烯腈、苯、1,3-丁二烯和甲醛。丙烯醛的危害指数很高,通过与巯基反应导致氧化应激。丙烯醛的毒性高于甲醛、乙醛和4-羟基壬醛(10-100倍),吸烟者的呼吸道液中丙烯醛可达到80mM。(参见,例如1.Liu等.Journal of Neurochemistry,2007,103,2690-2700.2.Esterbauer H,Schaur RJ,Zollner H."4-羟基壬醛、丙醛和相关醛的化学和生物化学特性"(Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal,malonaldehyde and related aldehydes).Free Radic Biol Med.1991;11:81-128.3.Nguyen E,Picklo MJ Sr."脂质过氧化的链烯产物能抑制琥珀酸半醛脱氢酶活性"(Inhibition of succinic semialdehyde dehydrogenase activity by alkenal products of lipid peroxidation).Biochim Biophys Acta.2003;1637:107-112.4.Eiserich JP,van der Vliet A,Handelman GJ,Halliwell B,Cross CE."饮食抗氧化剂和香烟烟雾诱导生物分子损伤:复杂的反应"Dietary antioxidants

and cigarette smoke-induced biomolecular damage:a complex interaction. Am J Clin Nutr. 1995;62(增刊 6):1490S-1500S)。

[0687] 治疗香烟烟雾导致肺癌的本发明方法通常包括给予有此需要的个体有效量的 ALDH 激动剂。在一些实施方式中,所述 ALDH 激动剂是本发明的 ALDH 激动剂。在其它实施方式中,所述 ALDH 激动剂是 WO 2008/122164 中描述的 ALDH 激动剂。

[0688] 与合适的对照相比,治疗香烟烟雾诱导肺癌的本发明方法能有效降低肺癌肿瘤负荷至少约 5%、至少约 10%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 50%、至少约 75%、至少约 85%或至少约 90%,直至完全根除肿瘤。因此,在一些实施方式中,本发明 ALDH 激动剂的“有效量”是与合适对照相比,将肿瘤负荷有效降低至少约 5%、至少约 10%、至少约 20%、至少约 25%、至少约 50%、至少约 75%、至少约 85%或至少约 90%,直至完全根除肿瘤的用量。在实验动物系统中,合适的对照可以是遗传上相同而未用该药剂治疗的动物。在非实验系统中,合适的对照可以是给予该药剂前就存在的肿瘤负荷。其他合适的对照可以是安慰剂对照。

[0689] 可用任何已知方法测定肿瘤负荷是否降低,包括但不限于:测定实体瘤的质量;用细胞学实验对肿瘤细胞计数;荧光活化细胞分选(例如,用肿瘤相关抗原的特异性抗体);肿瘤的计算机断层扫描、磁共振成像和/或 x-射线成像以估计和/或监测肿瘤大小;测定生物样品中(如血液、血清、血浆等)肿瘤相关抗原的含量;等等。

[0690] 在一些实施方式中,将 ALDH 激动剂作为单一疗法给予。在其它实施方式中,组合给予 ALDH 激动剂与以下一种或多种:1) 标准癌症化疗;2) 肺癌放疗;和 3) 癌症外科手术治疗(例如,外科手术除去肺癌组织)。

[0691] 适合治疗的对象

[0692] 适合用本发明 ALDH 激动剂治疗的对象包括患有上述疾病的个体;有发生上述疾病风险的个体;已用本发明 ALDH 激动剂以外的药剂治疗上述疾病但对此类治疗没有反应,或最初对此类治疗有反应但随后复发的个体;用本发明 ALDH 激动剂以外的药剂难以治疗的患上述疾病个体;和不能耐受用本发明 ALDH 激动剂以外的药剂治疗患上述疾病的个体。适合用本发明 ALDH 激动剂治疗的对象包括已诊断患下述疾病的个体。

[0693] 包括给予 ALDH 激动剂的方法

[0694] 包括给予本发明 ALDH 激动剂的本发明治疗方法适合治疗上述的各种疾病,包括与氧化应激相关或由其导致的疾病或病症;与对硝酸甘油不敏感有关的疾病或病症;与乙醇、醛、甲醇、乙二醇单甲醚、生源醛或外源醛等毒性水平有关的疾病或病症;以及心脏疾病和诸如冠心病、心绞痛等疾病。在一些实施方式中,所述个体是编码具有图 5A 所示氨基酸序列的 ALDH2 的 ALDH2 等位基因纯合的人。在其它实施方式中,所述个体是携带一个或两个 ALDH2*2 等位基因的人,其中 ALDH2*2 等位基因编码具有图 5B 所示 E487K 变体的 ALDH2。

[0695] 约 40%的东亚人群携带半显性 ALDH2*2 等位基因。此类个体的特征是对乙醇摄入有反应,包括以下一种或多种:脸红、恶心和心动过速。此外,ALDH2*2 个体对硝酸甘油治疗例如心绞痛和冠心病等疾病的反应较差。ALDH2*2 等位基因杂合或纯合个体适合用本发明方法治疗,包括给予本发明的 ALDH 激动剂。

[0696] 治疗缺血性应激相关疾病的方法

[0697] 适合用本发明 ALDH 激动剂治疗的对象包括预定进行心脏外科手术或已经历心脏

外科手术的个体；已经历中风的个体；患有脑外伤的个体；进行了长时间外科手术的个体；患心肌梗塞（例如，急性心肌梗塞）的个体，将要进行预定的心脏旁路手术的个体；患脑血管疾病的个体；脊髓损伤的个体；蛛网膜下腔出血的个体；和要进行器官移植的个体。适合用本发明 ALDH 激动剂治疗的对象还包括患有肢体缺血疾病，例如 1 型或 2 型糖尿病导致的肢体缺血疾病的个体。

[0698] 治疗眼睛疾病的方法

[0699] 适合用 ALDH 激动剂（例如，本发明 ALDH 激动剂）治疗的对象包括患有眼睛疾病的对象。眼睛疾病包括，例如年龄相关的白内障、继发性白内障、创伤性白内障、先天性白内障、年龄相关的黄斑退行性改变、放射性白内障等。

[0700] 治疗皮肤疾病的方法

[0701] 适合用 ALDH 激动剂（例如，本发明的 ALDH 激动剂）治疗的对象包括患有皮肤疾病的对象。皮肤疾病包括，例如放射性皮炎、特应性皮炎、晒伤、皮肤的紫外线辐射损伤、皮肤老化和过早脱发。

[0702] 治疗辐射诱导上皮细胞损伤的方法

[0703] 适合用 ALDH 激动剂治疗的对象包括因意外或医学治疗，例如癌症放疗而遭受电离辐射的个体。

[0704] 治疗急性自由基相关疾病的方法

[0705] 适合用本发明 ALDH 激动剂治疗的对象包括正经历或已经历癫痫发作的个体；具有紫外暴露所致皮肤损伤的个体；皮肤光损伤个体；急性皮肤热烧伤个体；和患有组织高氧症的个体。

[0706] 治疗慢性自由基相关疾病的方法

[0707] 适合用本发明 ALDH 激动剂治疗的对象包括诊断为阿尔茨海默病、帕金森病、肌萎缩侧索硬化或其他神经退变性疾病的个体；患动脉粥样硬化个体；患食道癌个体；患头颈鳞状细胞癌个体；和患上呼吸消化道癌症个体。

[0708] 治疗心脏病的方法

[0709] 适合用本发明 ALDH 激动剂治疗的对象包括患心绞痛个体；心力衰竭个体；在心绞痛或心力衰竭治疗中对硝酸甘油不敏感的个体；患高血压个体；和患心脏病个体。

[0710] 解毒方法

[0711] 适合用本发明 ALDH 激动剂治疗的对象包括具有毒性水平醛的个体，这些醛是由于，例如，摄入有毒化合物、吸入有毒化合物、摄入或吸入毒性水平的化合物，或正常代谢产生的醛。此类个体包括但不限于：摄入或吸入乙醇、甲醇、乙二醇单甲醚或其它生源醛或外源醛化合物或能产生生源醛的化合物的个体。例如，此类个体包括摄入或吸入杀虫剂、杀真菌剂或其他此类化合物的个体；消耗过量乙醇的个体；等等。

[0712] 治疗糖尿病的方法

[0713] 适合用本发明 ALDH 激动剂治疗的对象包括患有 1 型或 2 型糖尿病的个体。适合治疗的对象包括已诊断为 1 型糖尿病的个体，此类个体包括禁食血糖水平高于约 126mg/dL 的个体。此类个体包括两小时葡萄糖耐受试验（口服 75g 无水葡萄糖）后血糖水平高于约 200mg/dL 的个体。适合治疗的对象包括诊断患有 2 型糖尿病的个体；尚未诊断患 2 型糖尿病但有发生 2 型糖尿病风险的个体，例如，体重指数（体重千克数除以身高（米）的平方）

大于 25 的个体，如体重指数约 25-27、约 27-30 或大于 30 的个体。

[0714] 治疗癌症的方法

[0715] 适合联用 ALDH 激动剂与癌症化疗剂和 / 或电离辐射治疗的对象包括患有癌症的个体。这些方法可用于治疗各种癌症，包括癌、肉瘤、白血病和淋巴瘤。因此，所述个体患有癌症，例如癌、肉瘤、白血病或淋巴瘤。在一些实施方式中，所述个体因长期接触香烟烟雾患有肺癌。

[0716] 可用本发明方法治疗的癌症包括但不限于 :食道癌、肝细胞癌、基底细胞癌 (皮肤癌的形式)、鳞状细胞癌 (各种组织)、膀胱癌，包括移行细胞癌 (膀胱恶性肿瘤)、支气管源癌、结肠癌、结肠直肠癌、胃癌、肺癌，包括小细胞肺癌和非小细胞肺癌，肾上腺皮质癌、甲状腺癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、肾细胞癌、原位导管癌或胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、肾母细胞瘤、宫颈癌、子宫癌、睾丸癌、骨源癌、上皮癌 (epithelieal carcinoma) 和鼻咽癌等。

[0717] 可用本发明方法治疗的肉瘤包括但不限于 :纤维肉瘤、粘液肉瘤、脂肉瘤、软骨肉瘤、脊索瘤、骨源肉瘤、骨肉瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤、滑膜瘤、间皮瘤、尤因肉瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤和其它软组织肉瘤。

[0718] 可用本发明方法治疗的其它实体瘤包括但不限于 :神经胶质瘤、星形细胞瘤、髓母细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、成血管细胞瘤、听神经瘤、少突神经胶质瘤、脑膜瘤 (menangioma)、黑色素瘤、成神经细胞瘤和成视网膜细胞瘤。

[0719] 可用本发明方法治疗的白血病包括但不限于 :a) 慢性骨髓增生综合征 (多能造血干细胞的肿瘤疾病) ;b) 急性骨髓白血病 (多能造血干细胞或限制谱系造血细胞转化的肿瘤) ;c) 慢性淋巴细胞性白血病 (CLL ;免疫学不成熟和机能不全小淋巴细胞的克隆样增生)，包括 B- 细胞 CLL、T- 细胞 CLL 前淋巴细胞性白血病和毛细胞性白血病 ;和 d) 急性成淋巴细胞性白血病 (特征是成淋巴细胞累积)。可用本发明方法治疗的淋巴瘤包括但不限于 :B- 细胞性淋巴瘤 (例如，伯基特淋巴瘤) ;霍奇金淋巴瘤 ;等等。

[0720] 变体 ALDH

[0721] 本发明提供变体 ALDH 多肽。本发明的变体 ALDH 多肽在与 ALDH2 的 E487K 相等位置含有谷氨酸 - 赖氨酸 (E → K) 改变 (例如，图 5A 所示 ALDH2 氨基酸序列的 E501，其是成熟 ALDH2 的 E487(不含图 5A 中黑体字显示的 MLRAAARFGPRLGRRLL 肽)。E → K 取代降低了 ALDH 多肽的酶活性。本发明的变体 ALDH 多肽可用于鉴定能提高 ALDH 多肽酶活性的试剂。因此，本发明还提供用所述多肽鉴定能提高 ALDH 酶活性的试剂的筛选方法。

[0722] 可重组产生本发明的变体 ALDH 多肽，例如合成包含编码本发明变体 ALDH 多肽的核苷酸序列的核酸并在合适宿主细胞中表达该核酸。因此，在一些实施方式中，本发明的变体 ALDH 多肽是重组多肽。可使本发明的变体 ALDH 多肽与其它非 ALDH 多肽或其它大分子相分离，在一些实施方式中，纯化该多肽，例如至少约 70％、至少约 75％、至少约 80％、至少约 85％、至少约 90％、至少约 95％、至少约 98％、至少约 99％或超过 99％纯。

[0723] 与野生型 ALDH 多肽相比，本发明的变体 ALDH 多肽显示酶活性降低。例如，本发明的变体 ALDH 多肽显示的酶活性比相应的野生型 ALDH 多肽的酶活性低约 80％、低约 70％、低约 60％、低约 50％、低约 40％、低约 30％或低约 25％。

[0724] 例如，在一些实施方式中，与图 6A 或图 6B 所示氨基酸序列相比，本发明的变体

ALDH 多肽含有至少一个 E488K 取代，所显示的酶活性比含图 6A 或图 6B 所示氨基酸序列的 ALDH1 多肽的酶活性低约 80％、低约 70％、低约 60％、低约 50％、低约 40％、低约 30％或低约 25％。

[0725] 再例如，在一些实施方式中，与图 7 所示氨基酸序列相比，本发明的变体 ALDH 多肽含有至少一个 E447K 取代，所显示的酶活性比含图 7 所示氨基酸序列的 ALDH3 多肽的酶活性低约 80％、低约 70％、低约 60％、低约 50％、低约 40％、低约 30％或低约 25％。

[0726] 再例如，在一些实施方式中，与图 12 所示氨基酸序列相比，本发明的变体 ALDH 多肽含有至少一个 E523K 取代，所显示的酶活性比含图 12 所示氨基酸序列的 ALDH5 多肽的酶活性低约 80％、低约 70％、低约 60％、低约 50％、低约 40％、低约 30％或低约 25％。

[0727] 在一些实施方式中，与图 6A 或图 6B 所示氨基酸序列相比，本发明的变体 ALDH 多肽含有至少一个 E488K 取代，所包含的氨基酸序列与图 6A 或 6B 所示氨基酸序列的约 400aa- 约 450aa、或约 450aa- 约 501aa 的毗连延伸段具有至少约 75％、至少约 80％、至少约 85％、至少约 90％、至少约 95％、至少约 98％或至少约 99％的氨基酸序列相同性。在一些实施方式中，本发明的变体 ALDH 多肽包含图 6A 或图 6B 所示氨基酸序列，与图 6A 或图 6B 所示氨基酸序列相比，其包含 E488K 取代。

[0728] 在一些实施方式中，与图 7 所示氨基酸序列相比，本发明的变体 ALDH 多肽含有至少一个 E447K 取代，所包含的氨基酸序列与图 7 所示氨基酸序列的约 350aa- 约 400aa，或约 400aa- 约 453aa 的毗连延伸段具有至少约 75％、至少约 80％、至少约 85％、至少约 90％、至少约 95％、至少约 98％或至少约 99％的氨基酸序列相同性。在一些实施方式中，本发明的变体 ALDH 多肽包含图 7 所示氨基酸序列，与图 7 所示氨基酸序列相比，其包含 E447K 取代。

[0729] 在一些实施方式中，与图 12 所示氨基酸序列相比，本发明的变体 ALDH 多肽含有至少一个 E5237K 取代，所包含的氨基酸序列与图 12 所示氨基酸序列的约 400aa- 约 450aa、约 450aa- 约 500aa，或约 500aa- 约 535aa 的毗连延伸段具有至少约 75％、至少约 80％、至少约 85％、至少约 90％、至少约 95％、至少约 98％或至少约 99％的氨基酸序列相同性。在一些实施方式中，本发明的变体 ALDH 多肽包含图 12 所示氨基酸序列，与图 12 所示氨基酸序列相比，其包含 E523K 取代。

[0730] 在一些实施方式中，本发明的变体 ALDH 是融合蛋白，例如包含与融合伴侣同框融合的本发明变体 ALDH 的多肽，其中融合伴侣是 ALDH 以外的多肽。在一些实施方式中，融合伴侣连接于本发明变体 ALDH 多肽的氨基末端。在其它实施方式中，融合伴侣连接于本发明变体 ALDH 多肽的羧基末端。在其它实施方式中，融合伴侣与本发明变体 ALDH 多肽在该变体 ALDH 多肽内部位置同框融合。合适的融合伴侣包括免疫学标签如表位标签，包括但不限于：血凝素、FLAG 等；能提供可检测信号的蛋白质，包括但不限于：荧光蛋白、酶（如 β- 半乳糖苷酶、荧光素酶、辣根过氧化物酶等）等；能促进融合蛋白纯化或分离的多肽，如金属离子结合多肽，如 6His 标签（如变体 ALDH/6His）、谷胱甘肽 -S- 转移酶等；能提供亚细胞定位的多肽；和提供细胞分泌的多肽。

[0731] 在一些实施方式中，该融合伙伴是表位标签。在一些实施方式中，该融合伙伴是金属螯合肽。在一些实施方式中，所述金属螯合肽是组氨酸多聚体，如 $(His)_6$。在一些实施方式中，$(His)_6$ 多聚体融合于变体 ALDH 的氨基末端；在其它实施方式中，$(His)_6$ 多聚体融合于变体 ALDH 的羧基末端。可用各种可购得的镍亲和柱（例如 His- 结合树脂，诺瓦基公司

(Novagen)) 纯化 $(His)_6$- 变体 ALDH 融合蛋白。

[0732] 组合物

[0733] 本发明提供包含本发明变体 ALDH 多肽的组合物。包含本发明变体 ALDH 多肽的组合物可包含以下一种或多种物质 :盐,如 NaCl、MgCl、KCl、$MgSO_4$ 等 ;缓冲剂,如 Tris 缓冲剂、N-(2- 羟乙基) 哌嗪 -N′ -(2- 乙磺酸)(HEPES)、2-(N- 吗啉代) 乙磺酸 (MES)、2-(N- 吗啉代) 乙磺酸钠盐 (MES)、3-(N- 吗啉代) 丙磺酸 (MOPS)、N- 三 [羟甲基] 甲基 -3- 氨基丙磺酸 (TAPS) 等 ;增溶剂 ;去污剂,如非离子型去污剂,如吐温 -20 等 ;蛋白酶抑制剂等。

[0734] 核酸

[0735] 本发明还提供包含编码本发明变体 ALDH 多肽的核苷酸序列的核酸。本文将包含编码本发明变体 ALDH 多肽的核苷酸序列的核酸称为“变体 ALDH 核酸”。

[0736] 在一些实施方式中,本发明的变体 ALDH 核酸是表达载体。在一些实施方式中,所述表达载体适合在原核宿主细胞中表达。在其它实施方式中,所述表达载体适合在真核宿主细胞中表达。

[0737] 该表达载体将提供转录和翻译起始区,它们可以是诱导型或组成型,其中在转录起始区以及转录和翻译终止区的转录控制下操作性连接编码区。因此,例如,本发明的变体 ALDH 多核苷酸可包含编码本发明变体 ALDH 多肽的核苷酸序列,其中编码变体 ALDH 多肽的核苷酸序列操作性连接于转录控制元件 (如启动子),而转录控制元件可以是诱导型或组成型。

[0738] 表达载体通常在启动子序列附近含有方便的限制性位点,以便插入编码异源蛋白质的核酸序列 (如,插入编码本发明变体 ALDH 多肽的核苷酸序列)。可存在在表达宿主中可操作的选择性标记。合适的表达载体包括但不限于 :病毒载体 (例如,以牛痘病毒 ;脊髓灰质炎病毒 ;腺病毒为基础的病毒载体 (参见,例如 Li 等 ., Invest Opthalmol Vis Sci 35 :25432549,1994 ;Borras 等 ., Gene Ther 6 :515524,1999 ;Li 和 Davidson, PNAS 92 :77007704,1995 ;Sakamoto 等 ., H Gene Ther 5 :1088 1097,1999 ;WO 94/12649、WO 93/03769 ;WO 93/19191 ;WO 94/28938 ;WO 95/11984 和 WO 95/00655) ;腺伴随病毒 (参见,例如 Ali 等 ., Hum Gene Ther 9 :81 86,1998 ;Flannery 等 ., PNAS 94 :6916 6921,1997 ;Bennett 等 .,Invest Opthalmol Vis Sci 38 :2857 2863,1997 ;Jomary 等 .,Gene Ther 4 :683 690,1997 ;Rolling 等 ., Hum Gene Ther 10 :641 648,1999 ;Ali 等 ., Hum Mol Genet 5 :591 594,1996 ;Srivastava WO 93/09239, Samulski 等 ., J.Vir.(1989)63 :3822-3828 ;Mendelson 等 .,Virol.(1988)166 :154-165 ;和 Flotte 等 .,PNAS(1993)90 :10613-10617) ;SV40 ;单纯疱疹病毒 ;人免疫缺陷病毒 (参见,例如 Miyoshi 等 ., PNAS 94 :10319 23, 1997 ;Takahashi 等 .,J Virol 73 :7812 7816,1999) ;逆转录病毒载体 (例如,鼠白血病病毒、脾坏死病毒和衍生自逆转录病毒,例如劳斯肉瘤病毒、哈维肉瘤病毒 (Harvey Sarcoma Virus)、禽类白细胞增生病毒、人免疫缺陷病毒、骨髓增生性肉瘤病毒和乳腺肿瘤病毒的载体) ;等。

[0739] 本领域技术人员知道有许多合适的表达载体,许多可购得。以举例方式提供以下载体 ;真核宿主细胞有 :pXT1、pSG5(斯特拉塔基因公司 (Stratagene))、pSVK3、pBPV、pMSG 和 pSVLSV40(法玛西亚公司 (Pharmacia))。然而,可采用任何其它载体,只要与宿主细胞相容。

[0740] 合适的病毒载体包括但不限于：杆状病毒载体、噬菌体载体、质粒、噬菌粒、粘粒、F粘粒（fosmids）、人造细菌染色体、病毒载体（例如，以牛痘病毒、脊髓灰质炎病毒、腺伴随病毒、SV40、单纯疱疹病毒等为基础的病毒载体）、基于P1的人造染色体、酵母菌质粒、酵母菌人造染色体和感兴趣的特定宿主（例如，大肠杆菌和酵母菌）的任何其它特异性载体。以举例方式提供以下载体；细菌宿主细胞有：pQE载体（恰根公司（Qiagen））、pBluescript质粒、pNH载体、λ-ZAP载体（斯特拉塔基因公司）；pTrc99a、pKK223-3、pDR540和pRIT2T（法玛西亚公司）；真核宿主细胞有：pXT1、pSG5（斯特拉塔基因公司）、pSVK3、pBPV、pMSG和pSVLSV40（法玛西亚公司）。然而，可采用任何其它质粒或其它载体，只要与宿主细胞相容。

[0741] 根据所用的宿主/载体系统，病毒载体中可采用多种合适的转录和翻译控制元件中的任何一种，包括组成型和诱导型启动子、转录增强子元件、转录终止子等（参见，例如Bitter等.，(1987)Methods in Enzymology，153：516-544）。

[0742] 用于原核宿主细胞的合适启动子包括但不限于：噬菌体T7 RNA聚合酶启动子；trp启动子；lac操纵子的启动子；杂交启动子，例如lac/tac杂交启动子、tac/trc杂交启动子、trp/lac启动子、T7/lac启动子；trc启动子；tac启动子等；araBAD启动子；体内调节的启动子，例如ssaG启动子或相关启动子（参见，例如美国专利公布号20040131637）、pagC启动子（Pulkkinen和Miller，J.Bacteriol.，1991：173(1)：86-93；Alpuche-Aranda等.，PNAS，1992；89(21)：10079-83）、nirB启动子（Harborne等.(1992)Mol.Micro.6：2805-2813），等等（参见，例如Dunstan等.(1999)Infect.Immun.67：5133-5141；McKelvie等.(2004)Vaccine 22：3243-3255；和Chatfield等.(1992)Biotechnol.10：888-892）；sigma70启动子，例如共同sigma70启动子（参见，例如GenBank登录号AX798980、AX798961和AX798183）；稳定相启动子，例如dps启动子、spv启动子等；衍生自致病岛SPI-2的启动子（参见，例如WO96/17951）；actA启动子（参见，例如Shetron-Rama等.(2002)Infect.Immun.70：1087-1096）；rpsM启动子（参见，例如Valdivia和Falkow(1996).Mol.Microbiol.22：367-378）；tet启动子（参见，例如Hillen，W.和Wissmann，A.(1989)刊于Saenger，W.和Heinemann，U.（编），《分子和结构生物学话题，蛋白质-核酸相互作用》(Topics in Molecular and Structural Biology，Protein-Nucleic Acid Interaction).Macmillan，伦敦，英国，第10卷，第143-162页）；SP6启动子（参见，例如Melton等.(1984)Nucl.Acids Res.12：7035-7056）；等等。

[0743] 在酵母菌中，可采用含有组成型或诱导型启动子的许多载体。综述可参见《分子生物学最新方法》(Current Protocols in Molecular Biology)，第2卷，1988，Ausubel等编.，格林出版协会和韦利科间公司(Greene Publish.Assoc.& Wiley Interscience)，第13章；Grant等.，1987，“酵母菌的表达和分泌载体”(Expression and Secretion Vectors for Yeast)，刊于《酶学方法》(Methods in Enzymology)，Wu和Grossman编，31987，学术出版社(Acad.Press)，纽约，第153卷，第516-544页；Glover，1986，《DNA克隆》(DNA Cloning)，第II卷，IRL出版社(IRL Press)，华盛顿.，哥伦比亚特区.，第3章；和Bitter，1987，“酵母菌中的异源基因表达”(Heterologous Gene Expression in Yeast)，《酶学方法》(Methods in Enzymology)，Berger和Kimmel编，学术出版社，纽约.，第152卷，第673-684页；和《酵母菌的分子生物学》(The Molecular Biology of the Yeast Saccharomyces)，1982，Strathern等编.，冷泉港出版社(Cold Spring Harbor Press)，第

I 和 II 卷。可采用组成型酵母菌启动子，例如 ADH 或 LEU2 或诱导型启动子，例如 GAL（“酵母菌克隆”(Cloning in Yeast)，第 3 章，R. Rothstein 刊于：《DNA 克隆》(DNA Cloning) 第 11 卷，《实用方法》(A Practical Approach)，DM Glover 编，1986，IRL 出版社，华盛顿 .，哥伦比亚特区）。

[0744] 合适的真核启动子（在真核细胞中起作用的启动子）的非限制性例子包括 CMV 立即早期、HSV 胸苷激酶、早期和晚期 SV40、逆转录病毒的 LTR 和小鼠金属硫蛋白 -I 的启动子。本领域普通技术人员熟知选择合适的载体和启动子。表达载体也可含有启动翻译的核糖体结合位点和转录终止子。该表达载体也可包含放大表达所需的合适序列。

[0745] 在一些实施方式中，本发明的重组载体包含一种或多种可选择性标记。此外，在许多实施方式中，表达载体含有一种或多种可选择标记基因以提供对被转化宿主细胞进行选择的表型特点，例如对真核细胞培养物提供二氢叶酸还原酶或新霉素抗性，或例如对原核宿主细胞，如大肠杆菌提供四环素或氨苄西林抗性。

[0746] 宿主细胞

[0747] 本发明提供包含本发明变体 ALDH 核酸，例如本发明变体 ALDH 表达载体的遗传修饰宿主细胞。合适的宿主细胞包括能在体外培养中生长成单细胞实体的单细胞微生物以及多细胞生物的细胞。合适的宿主细胞包括细菌细胞如大肠杆菌 (Escherichia coli)；酵母细胞如酿酒酵母 (Saccharomyces cerevisiae)、巴斯德毕赤酵母 (Pichia pastoris)、多形汉逊酵母 (Hansenula polymorpha)、乳酸克鲁维酵母 (Kluyveromyces lactis)、解脂耶氏酵母 (Yarrowia lipolytica)、产朊念珠菌 (Candida utilis)、粟酒裂殖酵母 (Schizosaccharomyces pombe) 等；昆虫细胞如黑腹果蝇 (Drosophila melanogaster) 细胞；两栖动物细胞如爪蟾细胞；哺乳动物细胞，如 CHO 细胞、3T3 细胞等。

[0748] 筛选方法

[0749] 本发明提供鉴定 ALDH 激动剂的方法。该方法通常包括在变体 ALDH 酶的底物存在下，使酶活性降低的本发明变体 ALDH 酶与测试化合物相接触；和测定测试化合物对变体 ALDH 酶的酶活性的影响（如果有）。能提高本发明变体 ALDH 多肽酶活性的试剂就是能提高野生型 ALDH 多肽活性的候选试剂。

[0750] 本文所用的术语“测定”指定量和定性测定，因此，术语“测定”在本文中与“测试”、“测量”等可互换使用。

[0751] 术语“候选试剂”、“测试试剂”、“试剂”、“物质”和“化合物”在本文中可互换使用。候选试剂包括许多化学类型，一般是合成、半合成或天然产生的无机或有机分子。候选试剂包括在合成或天然化合物大文库中发现的那些物质。例如，合成化合物文库可购自英国康沃尔特雷维特的五月桥化学品公司 (Maybridge Chemical Co.，Trevillet，Cornwall，UK)、加利福尼亚州旧金山的 CG 公司 (ComGenex，South San Francisco，CA) 和康涅狄格州新米尔福德的微源公司 (MicroSource，New Milford，CT)。罕见化合物文库可购自威斯康星州密尔沃基的阿尔德里奇公司 (Aldrich，Milwaukee，Wis.)。或者，细菌、真菌、植物和动物提取物形式的天然化合物文库可购自华盛顿州波萨尔的 PL 公司 (Pan Labs，Bothell，WA)，或者不难制备。

[0752] 候选制剂可以是分子量高于 50 和低于约 10,000 道尔顿的小有机物或无机化合物，例如，候选试剂的分子量可以是约 50 道尔顿至 100 道尔顿、约 100 道尔顿至 150 道尔顿、

约 150 道尔顿至 200 道尔顿、约 200 道尔顿至 500 道尔顿、约 500 道尔顿至 1000 道尔顿、约 1,000 道尔顿至 2500 道尔顿、约 2500 道尔顿至 5000 道尔顿、约 5000 道尔顿至 7500 道尔顿、或约 7500 道尔顿至 10,000 道尔顿。候选试剂可包含与蛋白质结构相互作用，特别是形成氢键所需的官能团，至少包含胺基、羰基、羟基或羧基，并可含有至少两个化学官能团。候选试剂可包含环碳或杂环结构和 / 或被一个或多个上述官能团取代的芳环或多芳环结构。候选试剂也可以是生物分子，包括肽、糖、脂肪酸、类固醇、嘌呤、嘧啶，它们的衍生物、结构类似物或组合。

[0753] 本发明的试验中包括对照，合适的对照包括样品（如不存在测试试剂时含有变体 ALDH 酶和底物的样品）。通常，用不同的试剂浓度平行测定多个试验混合物，以获得对不同浓度的差异反应。通常，取这些浓度之一，即零浓度或低于检测水平的浓度作为阴性对照。

[0754] 筛选试验中可包含各种其他试剂。包括例如盐、中性蛋白质如白蛋白、去污剂等试剂，包括用于促进酶活性最优和 / 或降低非特异性或背景活性的试剂。可采用能提高试验效率的试剂，如蛋白酶抑制剂、抗微生物剂等。试验混合物的组分可以提供必需活性的任何顺序加入。在任何合适的温度下进行温育，通常在 4℃ -40℃。为最佳活性选择温育期，但也可优化以促进快速高通量筛选。通常，0.1-1 小时足矣。

[0755] 感兴趣的测试化合物是与没有测试化合物存在下的变体 ALDH 多肽的酶活性相比，将本发明变体 ALDH 的酶活性提高至少约 5％、至少约 10％、至少约 15％、至少约 20％、至少约 25％、至少约 30％、至少约 35％、至少约 40％、至少约 45％、至少约 50％、至少约 60％、至少约 70％、至少约 80％、至少约 90％、至少约 100％（或 2 倍）、至少约 2.5 倍、至少约 5 倍、至少约 10 倍、至少约 15 倍、至少约 20 倍、至少约 25 倍、至少约 50 倍或 50 倍以上的化合物。

[0756] 在一些实施方式中，感兴趣的测试化合物的 EC_{50} 为约 1nM-1mM、例如，约 1nM-10nM、约 10nM-15nM、约 15nM-25nM、约 25nM-50nM、约 50nM-75nM、约 75nM-100nM、约 100nM-150nM、约 150nM-200nM、约 200nM-250nM、约 250nM-300nM、约 300nM-350nM、约 350nM-400nM、约 400nM-450nM、约 450nM-500nM、约 500nM-750nM、约 750nM-1μM、约 1μM-10μM、约 10μM-25μM、约 25μM-50μM、约 50μM-75μM、约 75μM-100μM、约 100μM-250μM、约 250μM-500μM 或约 500μM-1mM。

[0757] 可采用熟知试验，如台盼蓝染料排除法、MTT(3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基 -2H- 溴化四唑）试验等评估候选试剂对试验所用细胞的细胞毒活性。不显示细胞毒活性的试剂认为是候选试剂。

[0758] 在许多实施方式中，用无细胞试验在体外进行这种筛选方法。在一些实施方式中，体外无细胞试验采用纯化的变体 ALDH，“纯化”指不含污染物或任何其他不良组分。适合本发明筛选方法的纯化变体 ALDH 至少约 50％纯、至少约 60％纯、至少约 70％纯、至少约 75％纯、至少约 80％纯、至少约 85％纯、至少约 90％纯、至少约 95％纯、至少约 98％纯、至少约 99％纯或 99％以上纯。

[0759] 在一些实施方式中，可通过加入一种或多种稳定剂稳定纯化的变体 ALDH，以维持酶活性。在一些实施方式中，纯化的变体 ALDH 溶液包含变体 ALDH 的水溶液和约 10％至 50％甘油，例如约 10％至 15％、约 15％至 20％、约 20％至 25％、约 25％至 30％、约 30％至 35％、约 35％至 40％、约 40％至 45％或约 45％至 50％甘油。在一些实施方式中，变体 ALDH

的溶液还包含一种或多种螯合剂（如 EDTA 或 EGTA）；盐类如 NaCl、$MgCl_2$、KCl 等；缓冲液，如 Tris 缓冲液、磷酸缓冲盐水、焦磷酸钠缓冲液等；一种或多种蛋白酶抑制剂；等。

[0760] 在一些实施方式中，本发明筛选方法是体外无细胞试验。在一些实施方式中，用于本发明筛选方法中的本发明变体 ALDH 多肽是重组变体 ALDH。在一些实施方式中，用于本发明筛选方法中的本发明变体 ALDH 多肽是变体 ALDH 融合多肽。

[0761] 本领域知道 ALDH 酶活性的试验，本发明筛选方法可采用任何已知的试验。试验的例子见各种出版物，包括，例如 Sheikh 等．((1997) J. Biol. Chem. 272 :18817-18822) 和 Farres 等．(1994) J. Biol. Chem. 269 :13854-2561。例如，25℃，测定在 50mM 焦磷酸钠 HCl 缓冲液 pH 9.0，100mM 磷酸钠缓冲液 pH 7.4 或 50mM 磷酸钠缓冲液 pH 7.4 中的 ALDH 酶活性，所述缓冲液包含 NAD^+（如 0.8mM 或更高浓度 NAD^+，如 1mM、2mM 或 5mM NAD^+）和底物如 14μM 丙醛、视黄醛、辛醛、苯乙醛、4- 羟基壬醛等。用分光光度计在 340nm 处监测 NAD^+ 的还原，或用荧光显微光度计测定荧光增量监测 NAD^+ 的还原。

[0762] 可用标准分光光度法测定 ALDH 酶活性，例如，在 340nm 处测定烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD^+) 的氧化形式至其还原形式 NADH 的还原反应，如 US 2005/0171043 或 WO 2005/057213 所述。在一示范性试验中，在 25℃，0.1NaPPi 缓冲液 pH 9.5，2.4mM NAD^+ 和 10mM 乙醛作底物的体系中进行该反应。如 US 2005/0171043 或 WO 2005/057213 所述在 340nm 测定 NAD^+ 至 NADH 的还原反应，以评估酶活性。或者，将 NADH 的产生与消耗 NADH 的另一酶反应偶联而提供可检测信号。此类酶反应的一个例子是基于黄递酶的反应，该反应使刃天青还原成被氧化的发荧光化合物试卤灵，如 US 2005/0171043 或 WO 2005/057213 所述。在 590nm 处检测荧光试卤灵可为 ALDH 酶活性的任何变化提供放大的更灵敏的信号。

实施例

[0763] 提供以下实施例的目的是向本领域普通技术人员完整地公开和描述如何制备和使用本发明，这些实施例不应限制发明人认为的发明范围，也不代表下述实验是所进行的所有和仅有的实验。已作出努力保证所用数值（如含量、温度等）的准确性，但应允许一些实验误差和偏差。除非另有说明，份数是重量份数，分子量是重均分子量，温度是摄氏度，压力是大气压或接近大气压。可采用标准缩写，例如，bp，碱基对；kb，千碱基；pl，皮升；s 或 sec，秒；min，分钟；h 或 hr，小时；aa，氨基酸；kb，千碱基；bp，碱基对；nt，核苷酸；i.m.，肌内；i.p.，腹膜内；s.c.，皮下等。在一些情况中，例如在一些附图中，微摩尔（μM）表示为“uM”。

[0764] 实施例 1：ALDH 激动剂的鉴定和表征

[0765] 用图 4 所述方法筛选化合物。该反应主要在 25℃，0.1NaPPi 缓冲液，pH 9.5，2.4mM NAD^+ 和 10mM 乙醛作为底物的体系中进行。340nm 处检测 NAD^+ 至 NADH 还原反应测定酶活性。或者，将 NADH 的产生与消耗 NADH 的另一酶反应偶联而提供可检测信号。这类酶反应的例子是基于黄递酶的反应，该反应使刃天青还原成其被氧化的发荧光化合物试卤灵。

[0766] 例如，120μl ALDH 酶活性反应混合物包含以下组分：

[0767] 43μl 150mM 焦磷酸钠 (NaPPi) 缓冲液，pH 9.0；

[0768] 30μl 10mM NAD^+；

[0769] 15μl 80mM 乙醛；

[0770] 1μl 刃天青 (0.2mg/ml 的 H_2O 溶液)；

[0771] 1μl 黄递酶 (1 单位,例如,来自克鲁维梭菌 (Clostridium kluyveri))；

[0772] 2μl 变体 ALDH2(如 2μl 变体 ALDH2(0.5-2μg/μl))；和

[0773] 28μl 包含待测物的溶液,该物质重悬于合适溶剂(如水溶液、DMSO 等)中。

[0774] 筛选了约 65,000 种化合物。鉴定到能提高 ALDH2 活性的许多化合物。结果列于下表 1。

[0775] 表 1

[0776]

化合物	Alda-	EC_{50}(μM)
1	Alda-52	3
2	Alda-59	4.6
3	Alda-72	2.92
4	Alda-71	16.55
5	Alda-53	1.09
6	Alda-54	1.72
7	Alda-68	18.53
8	Alda-61	6.44
9	Alda-60	4.96
10	Alda-70	5.57
11	Alda-69	8.9
12	Alda-73	3.55
13	Alda-67	3.42
14	Alda-66	2.66
15	Alda-65	8.41
16	Alda-68	12.6
17	Alda-56	3.65
18	Alda-57	1.4

19	Alda-64	2.2
20	Alda-63	12.39
21	Alda-62	14.69

[0777] 图 1-3 和 8-11 描述了化合物 1-21 调节 ALDH2 活性的活性。还显示了这些化合物的结构。

[0778] 图 8-11 描述了 ALDH1 活化剂 Alda-81、Alda-83 和 Alda-84 的结构。通过对 E488K ALDH1 突变型重组蛋白高通量筛选 130,000 种化合物鉴定到 Alda-81、Alda-83 和 Alda-84。该筛选试验利用辛醛（较长链脂族醛例子）和苯乙醛（芳族醛例子），而非乙醛。图 9 显示 ALDH 激动剂的底物选择性。图 10 和 11 显示 ALDH 激动剂的底物选择性和 ALDH 同工酶选择性。

[0779] 实施例 2：植物衍生的 ALDH 激动剂

[0780] 植物衍生的化合物黄樟素、异黄樟素、胡椒碱、芝麻素、辣椒辣素购自西格玛 - 阿尔德里奇公司 (Sigma-Aldrich Chemicals)，二氢麻醉椒苦素 (dihydromethysticin) 购自 ACS 公司 (AvaChem Scientific)。辣椒碱相关化合物 Alda-101-Alda-112 用标准有机化学方法合成。将所有测试化合物溶解于二甲基亚砜 (DMSO) 中得到 20mM 的储备溶液。按照公布的方法 (Chen 等.，2008 Science 321：1493) 在 BL21 大肠杆菌宿主细胞中构建、克隆并表达在 N- 末端含 His- 表位标签的不同重组 ALDH 同工酶。30℃，用 0.5mM IPTG 诱导细菌表达蛋白质。按照生产商（美国威斯康星州诺瓦基公司）的使用说明书，用标准方案通过亲和镍柱纯化该重组蛋白。

[0781] 用纯化的重组蛋白 (15ug)，在 NAD^+ 到 NADH 还原反应中以分光光度法测定 λ 340nm 的 ALDH 酶活性 (Rex 等.，1985，Alcohol Clin Exp Res 9：147)。25℃，在 0.1 焦磷酸钠缓冲液，pH = 9.5，2.4mM NAD+ 和 10mM 乙醛或苯乙醛作为底物中，有或没有测试化合物存在下进行全部试验。

[0782] 图 13 描述：用乙醛作为底物在 3- 分钟动力学试验中不同化合物 (50uM) 活化的 ALDH3。单用 DMSO 运载体作为对照 (100％)，酶活性表示为百分比 (n = 3；$^{**}p < 0.01$ 与对照)。

[0783] 图 14 描述：用苯乙醛作为底物在 3- 分钟动力学试验中不同化合物 (50uM) 活化的 ALDH3。单用 DMSO 运载体作为对照 (100％)，酶活性表示为百分比 (n = 3；$^{**}p < 0.01$ 与对照)。

[0784] 图 15 描述：用乙醛作为底物，黄樟素 (Alda-89) 对 ALDH3 酶活性的剂量作用。注意：Alda-1 对 ALDH3 同工酶的酶活性没有任何作用 (n = 3；$^{**}p < 0.01$ 与对照)。

[0785] 图 16 描述：用乙醛作为底物，辣椒碱的合成衍生化合物 (Alda-101-Alda-112，50uM) 对 ALDH3 酶活性的活化 (n = 3；$^{**}p < 0.01$ 与对照)。

[0786] 图 17 描述：用乙醛作为底物，高浓度黄樟素 (Alda-89，500uM 和 1000uM) 对 ALDH2 同工酶的酶活性的抑制作用。通过与 ALDH2 活化剂 Alda-1(40uM) 的共温育防止和逆转了该抑制作用 (n = 3；$^{**}p < 0.01$ 与对照)。

[0787] 图 18 描述：用乙醛作为底物，黄樟素 (Alda-89，1000uM) 对 ALDH2 同工酶酶活性的

抑制作用的 15- 分钟动力学检测。通过与 ALDH2 活化剂 Alda-1(40uM) 的共温育防止和逆转了该抑制作用。对照是单用 DMSO 运载体。

[0788] 实施例 3 :用 ALDH 激动剂治疗放射性皮炎

[0789] 放射性皮炎是经历实体瘤放疗的人患者经历的疼痛性副作用。据信,放射性皮炎是皮肤急性氧化损伤所致,导致脂质过氧化和反应活性醛,例如 4- 羟基壬醛的累积。在本实施例中,Alda-1 显示能在辐射接触期间维持 ALDH 的活性而减轻放射性皮炎。在没有或有 200μl 3mM Alda-1(95%乙醇中)或单独的 200μl 95%乙醇(运载体对照)存在下,让 C57Bl/6J 小鼠每天接触 6Gy γ 射线(直接施加于剃毛背部区域 5 分钟)。每次射线处理前后各 5 分钟局部施加 Alda-1 或单独的乙醇,共 10 次(总共 60Gy,6Gy/ 天,5 次后中断两天)。对小鼠处以安乐死,切取暴露的皮肤,用裂解缓冲液 (ALDH2 活性试验,图 18) 制成匀浆或用 4% - 低聚甲醛固定(组织学分析,图 19)。

[0790] 图 19 描述 :与未照射的对照皮肤相比,6Gy γ 射线照射显著降低了 ALDH 活性。局部给予 3mM Alda-1(95%乙醇配制)显著减弱了 6Gy γ 辐射诱导的 ALDH 抑制 ($n = 4$, $^{*}P < 0.05$)。

[0791] 图 20 描述 :照射后 C57Bl/6J 小鼠的表皮增厚。表皮增厚可作为辐射诱导皮肤损伤的一种衡量 (Kim 等,2004 Journal of the American College ofNutrition,第 23 卷,157-162)。苏木精和曙红 (H&E) 染色皮肤切片作定量分析,显示与运载体对照相比,Alda-1 治疗组中,接触 6Gy 辐射 5 天诱导的表皮增厚显著降低 ($n = 6$, $^{*}p < 0.05$)。

[0792] 实施例 4 :使肿瘤对辐射治疗敏感

[0793] 为测定 Alda-1 对放疗效率的影响,给 C57Bl/6J 小鼠皮下接种 SCC VII 鼠鳞状细胞癌细胞 ($5x10^{5}$),并接触放疗 (250cGy/ 天),放疗前后各 5 分钟施加或不施加 Alda-1(200μl 3mM Alda-1,95%乙醇配制)或乙醇 (200μl 95%乙醇)。每天检测肿瘤体积直至肿瘤达到治疗开始时其初始大小的 4 倍 (Ning 等 .,2008,Mol Cancer Therapy 7 :1569-78)。

[0794] 图 21 描述 :Alda 治疗对放疗无负面影响。将 Alda-1 治疗性应用于放射性皮炎不影响放疗抑制肿瘤生长的效力。相反,与乙醇运载体对照(绿线)相比,Alda-1 治疗显著提高了肿瘤对放疗的敏感性(红线)($n = 6$, $^{*}p < 0.01$)。与乙醇治疗小鼠(黑线)相比,Alda-1 不影响未经辐射小鼠的肿瘤生长(蓝线)。

[0795] 实施例 5 :ALDH 增强乙醇的代谢和解毒

[0796] 实验采用 C57Bl/6J 小鼠(雄性,25-30g) 证明了对乙醇摄取的解毒作用增强。用 3.3g/kg 乙醇攻击前 15 分钟,给小鼠口服递送 ALDH 激动剂 Alda-1(83mg/kg) 与 Alda-89(166mg/kg) 的组合,或单独 PEG400 运载体。也口服递送 47.5% (v/v) 乙醇溶液。摄入乙醇后每 30 分钟作站立饲养活动功能分析和行为评分 (Majchrowicz,1975,Psychopharmacolgia 43 :245-254),共 120 分钟。对于血液酒精水平 (BAL) 检测实验,在递送乙醇后的 45 分钟时间点从各小鼠隐静脉获得 50ul 血液样品。用马萨诸塞州卢恩堡的安娜洛克斯酒精分析仪 (Analox alcohol analyzer, Lunenburg, MA),通过标准方法测定 BAL(Zahr 等 .,2009,Neuropsychopharmacology 34,1427-1442)。

[0797] 图 22 描述 :ALDH 激动剂增强乙醇代谢和解毒的实验方案。站立饲养活动功能分析(图 23) 和行为评分(图 24) 中,治疗组和对照组各用 15 只小鼠。各用 10 只小鼠测定血液酒精水平(图 25)。

[0798] 图 23 描述 :站立饲养活动的功能分析。摄入乙醇后的 30、60、90 和 120 分钟时,监测并统计各小鼠在 3 分钟期间的站立计数 (vertical count)(n = 15 ;**p < 0.01 与运载体对照相比)。

[0799] 图 24 描述 :行为评分的功能分析。摄入乙醇后的 30、60、90 和 120 分钟时,用以下指定的评分系统监测各小鼠并评分 :1 :站立饲养 ;2 :镇静 ;3 :轻度共济失调 ;4 :严重共济失调 ;5 :翻正反射丧失。各列表示 15 只小鼠的平均值。

[0800] 图 25 描述 :用 ALDH 激动剂或单用运载体治疗小鼠的血液酒精水平检测。摄入乙醇后的 45 分钟时间点从各小鼠隐静脉抽取血液样品 (n = 15 ;**p < 0.01 与运载体对照相比)。

[0801] 虽然参照具体实施方式描述了本发明,但本领域技术人员应理解可在不背离本发明真实构思和范围的情况下作出各种改变并用其等同形式替代。此外,可根据本发明目的、构思和范围进行许多修改以适应具体情况、材料、物质组成、方法、工艺步骤。所有这些修改均应包括在所附权利要求书的范围之内。

[0001]

序列表

<110> 利兰·斯坦福青年大学托管委员会(The Board of Trustees of the Leland Stanford Junior University)
D.默克利一罗森(MOCHLY-ROSEN, DARIA)
C.H.陈(CHEN, CHE-HONG)
W.杨(Yang, Wenjin)

<120> 醛脱氢酶调节剂及其使用方法

<130> STAN-622WO

<150> 61/109,081
<151> 2008-10-28

<150> 61/225,827
<151> 2009-07-15

<160> 6

<170> FastSEQ for Windows 版本 4.0

<210> 1
<211> 517
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 1

```
Met Leu Arg Ala Ala Ala Arg Phe Gly Pro Arg Leu Gly Arg Arg Leu
 1               5                  10                  15
Leu Ser Ala Ala Ala Thr Gln Ala Val Pro Ala Pro Asn Gln Gln Pro
            20                  25                  30
Glu Val Phe Cys Asn Gln Ile Phe Ile Asn Asn Glu Trp His Asp Ala
        35                  40                  45
Val Ser Arg Lys Thr Phe Pro Thr Val Asn Pro Ser Thr Gly Glu Val
    50                  55                  60
Ile Cys Gln Val Ala Glu Gly Asp Lys Glu Asp Val Asp Lys Ala Val
65                  70                  75                  80
Lys Ala Ala Arg Ala Ala Phe Gln Leu Gly Ser Pro Trp Arg Arg Met
                85                  90                  95
Asp Ala Ser His Arg Gly Arg Leu Leu Asn Arg Leu Ala Asp Leu Ile
            100                 105                 110
Glu Arg Asp Arg Thr Tyr Leu Ala Ala Leu Glu Thr Leu Asp Asn Gly
        115                 120                 125
Lys Pro Tyr Val Ile Ser Tyr Leu Val Asp Leu Asp Met Val Leu Lys
    130                 135                 140
Cys Leu Arg Tyr Tyr Ala Gly Trp Ala Asp Lys Tyr His Gly Lys Thr
145                 150                 155                 160
Ile Pro Ile Asp Gly Asp Phe Phe Ser Tyr Thr Arg His Glu Pro Val
                165                 170                 175
Gly Val Cys Gly Gln Ile Ile Pro Trp Asn Phe Pro Leu Leu Met Gln
            180                 185                 190
Ala Trp Lys Leu Gly Pro Ala Leu Ala Thr Gly Asn Val Val Val Met
        195                 200                 205
Lys Val Ala Glu Gln Thr Pro Leu Thr Ala Leu Tyr Val Ala Asn Leu
    210                 215                 220
Ile Lys Glu Ala Gly Phe Pro Pro Gly Val Val Asn Ile Val Pro Gly
225                 230                 235                 240
```

[0002]

```
Phe Gly Pro Thr Ala Gly Ala Ala Ile Ala Ser His Glu Asp Val Asp
                245                 250                 255
Lys Val Ala Phe Thr Gly Ser Thr Glu Ile Gly Arg Val Ile Gln Val
            260                 265                 270
Ala Ala Gly Ser Ser Asn Leu Lys Arg Val Thr Leu Glu Leu Gly Gly
        275                 280                 285
Lys Ser Pro Asn Ile Ile Met Ser Asp Ala Asp Met Asp Trp Ala Val
    290                 295                 300
Glu Gln Ala His Phe Ala Leu Phe Phe Asn Gln Gly Gln Cys Cys Cys
305                 310                 315                 320
Ala Gly Ser Arg Thr Phe Val Gln Glu Asp Ile Tyr Asp Glu Phe Val
                325                 330                 335
Glu Arg Ser Val Ala Arg Ala Lys Ser Arg Val Val Gly Asn Pro Phe
            340                 345                 350
Asp Ser Lys Thr Glu Gln Gly Pro Gln Val Asp Glu Thr Gln Phe Lys
        355                 360                 365
Lys Ile Leu Gly Tyr Ile Asn Thr Gly Lys Gln Glu Gly Ala Lys Leu
    370                 375                 380
Leu Cys Gly Gly Gly Ile Ala Ala Asp Arg Gly Tyr Phe Ile Gln Pro
385                 390                 395                 400
Thr Val Phe Gly Asp Val Gln Asp Gly Met Thr Ile Ala Lys Glu Glu
                405                 410                 415
Ile Phe Gly Pro Val Met Gln Ile Leu Lys Phe Lys Thr Ile Glu Glu
            420                 425                 430
Val Val Gly Arg Ala Asn Asn Ser Thr Tyr Gly Leu Ala Ala Ala Val
        435                 440                 445
Phe Thr Lys Asp Leu Asp Lys Ala Asn Tyr Leu Ser Gln Ala Leu Gln
    450                 455                 460
Ala Gly Thr Val Trp Val Asn Cys Tyr Asp Val Phe Gly Ala Gln Ser
465                 470                 475                 480
Pro Phe Gly Gly Tyr Lys Met Ser Gly Ser Gly Arg Glu Leu Gly Glu
                485                 490                 495
Tyr Gly Leu Gln Ala Tyr Thr Glu Val Lys Thr Val Thr Val Lys Val
            500                 505                 510
Pro Gln Lys Asn Ser
        515
```

<210> 2
<211> 517
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 2

```
Met Leu Arg Ala Ala Ala Arg Phe Gly Pro Arg Leu Gly Arg Arg Leu
 1               5                  10                  15
Leu Ser Ala Ala Ala Thr Gln Ala Val Pro Ala Pro Asn Gln Gln Pro
            20                  25                  30
Glu Val Phe Cys Asn Gln Ile Phe Ile Asn Asn Glu Trp His Asp Ala
        35                  40                  45
Val Ser Arg Lys Thr Phe Pro Thr Val Asn Pro Ser Thr Gly Glu Val
    50                  55                  60
Ile Cys Gln Val Ala Glu Gly Asp Lys Glu Asp Val Asp Lys Ala Val
65                  70                  75                  80
Lys Ala Ala Arg Ala Ala Phe Gln Leu Gly Ser Pro Trp Arg Arg Met
                85                  90                  95
Asp Ala Ser His Arg Gly Arg Leu Leu Asn Arg Leu Ala Asp Leu Ile
            100                 105                 110
```

[0003]

Glu Arg Asp Arg Thr Tyr Leu Ala Ala Leu Glu Thr Leu Asp Asn Gly
115 120 125
Lys Pro Tyr Val Ile Ser Tyr Leu Val Asp Leu Asp Met Val Leu Lys
130 135 140
Cys Leu Arg Tyr Tyr Ala Gly Trp Ala Asp Lys Tyr His Gly Lys Thr
145 150 155 160
Ile Pro Ile Asp Gly Asp Phe Phe Ser Tyr Thr Arg His Glu Pro Val
165 170 175
Gly Val Cys Gly Gln Ile Ile Pro Trp Asn Phe Pro Leu Leu Met Gln
180 185 190
Ala Trp Lys Leu Gly Pro Ala Leu Ala Thr Gly Asn Val Val Val Met
195 200 205
Lys Val Ala Glu Gln Thr Pro Leu Thr Ala Leu Tyr Val Ala Asn Leu
210 215 220
Ile Lys Glu Ala Gly Phe Pro Pro Gly Val Val Asn Ile Val Pro Gly
225 230 235 240
Phe Gly Pro Thr Ala Gly Ala Ala Ile Ala Ser His Glu Asp Val Asp
245 250 255
Lys Val Ala Phe Thr Gly Ser Thr Glu Ile Gly Arg Val Ile Gln Val
260 265 270
Ala Ala Gly Ser Ser Asn Leu Lys Arg Val Thr Leu Glu Leu Gly Gly
275 280 285
Lys Ser Pro Asn Ile Ile Met Ser Asp Ala Asp Met Asp Trp Ala Val
290 295 300
Glu Gln Ala His Phe Ala Leu Phe Phe Asn Gln Gly Gln Cys Cys Cys
305 310 315 320
Ala Gly Ser Arg Thr Phe Val Gln Glu Asp Ile Tyr Asp Glu Phe Val
325 330 335
Glu Arg Ser Val Ala Arg Ala Lys Ser Arg Val Val Gly Asn Pro Phe
340 345 350
Asp Ser Lys Thr Glu Gln Gly Pro Gln Val Asp Glu Thr Gln Phe Lys
355 360 365
Lys Ile Leu Gly Tyr Ile Asn Thr Gly Lys Gln Glu Gly Ala Lys Leu
370 375 380
Leu Cys Gly Gly Gly Ile Ala Ala Asp Arg Gly Tyr Phe Ile Gln Pro
385 390 395 400
Thr Val Phe Gly Asp Val Gln Asp Gly Met Thr Ile Ala Lys Glu Glu
405 410 415
Ile Phe Gly Pro Val Met Gln Ile Leu Lys Phe Lys Thr Ile Glu Glu
420 425 430
Val Val Gly Arg Ala Asn Asn Ser Thr Tyr Gly Leu Ala Ala Ala Val
435 440 445
Phe Thr Lys Asp Leu Asp Lys Ala Asn Tyr Leu Ser Gln Ala Leu Gln
450 455 460
Ala Gly Thr Val Trp Val Asn Cys Tyr Asp Val Phe Gly Ala Gln Ser
465 470 475 480
Pro Phe Gly Gly Tyr Lys Met Ser Gly Ser Gly Arg Glu Leu Gly Glu
485 490 495
Tyr Gly Leu Gln Ala Tyr Thr Lys Val Lys Thr Val Thr Val Lys Val
500 505 510
Pro Gln Lys Asn Ser
515

<210> 3
<211> 501
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

[0004]

<400> 3

```
Met Ser Ser Ser Gly Thr Pro Asp Leu Pro Val Leu Leu Thr Asp Leu
 1               5                  10                  15
Lys Ile Gln Tyr Thr Lys Ile Phe Ile Asn Asn Glu Trp His Asp Ser
            20                  25                  30
Val Ser Gly Lys Lys Phe Pro Val Phe Asn Pro Ala Thr Glu Glu Glu
        35                  40                  45
Leu Cys Gln Val Glu Glu Gly Asp Lys Glu Asp Val Asp Lys Ala Val
    50                  55                  60
Lys Ala Ala Arg Gln Ala Phe Gln Ile Gly Ser Pro Trp Arg Thr Met
65                  70                  75                  80
Asp Ala Ser Glu Arg Gly Arg Leu Leu Tyr Lys Leu Ala Asp Leu Ile
                85                  90                  95
Glu Arg Asp Arg Leu Leu Leu Ala Thr Met Glu Ser Met Asn Gly Gly
            100                 105                 110
Lys Leu Tyr Ser Asn Ala Tyr Leu Ser Asp Leu Ala Gly Cys Ile Lys
        115                 120                 125
Thr Leu Arg Tyr Cys Ala Gly Trp Ala Asp Lys Ile Gln Gly Arg Thr
    130                 135                 140
Ile Pro Ile Asp Gly Asn Phe Phe Thr Tyr Thr Arg His Glu Pro Ile
145                 150                 155                 160
Gly Val Cys Gly Gln Ile Ile Pro Trp Asn Phe Pro Leu Val Met Leu
                165                 170                 175
Ile Trp Lys Ile Gly Pro Ala Leu Ser Cys Gly Asn Thr Val Val Val
            180                 185                 190
Lys Pro Ala Glu Gln Thr Pro Leu Thr Ala Leu His Val Ala Ser Leu
        195                 200                 205
Ile Lys Glu Ala Gly Phe Pro Pro Gly Val Val Asn Ile Val Pro Gly
    210                 215                 220
Tyr Gly Pro Thr Ala Gly Ala Ala Ile Ser Ser His Met Asp Ile Asp
225                 230                 235                 240
Lys Val Ala Phe Thr Gly Ser Thr Glu Val Gly Lys Leu Ile Lys Glu
                245                 250                 255
Ala Ala Gly Lys Ser Asn Leu Lys Arg Val Thr Leu Glu Leu Gly Gly
            260                 265                 270
Lys Ser Pro Cys Ile Val Leu Ala Asp Ala Asp Leu Asp Asn Ala Val
        275                 280                 285
Glu Phe Ala His His Gly Val Phe Tyr His Gln Gly Gln Cys Cys Ile
    290                 295                 300
Ala Ala Ser Arg Ile Phe Val Glu Glu Ser Ile Tyr Asp Glu Phe Val
305                 310                 315                 320
Arg Arg Ser Val Glu Arg Ala Lys Lys Tyr Ile Leu Gly Asn Pro Leu
                325                 330                 335
Thr Pro Gly Val Thr Gln Gly Pro Gln Ile Asp Lys Glu Gln Tyr Asp
            340                 345                 350
Lys Ile Leu Asp Leu Ile Glu Ser Gly Lys Lys Glu Gly Ala Lys Leu
        355                 360                 365
Glu Cys Gly Gly Gly Pro Trp Gly Asn Lys Gly Tyr Phe Val Gln Pro
    370                 375                 380
Thr Val Phe Ser Asn Val Thr Asp Glu Met Arg Ile Ala Lys Glu Glu
385                 390                 395                 400
Ile Phe Gly Pro Val Gln Gln Ile Met Lys Phe Lys Ser Leu Asp Asp
                405                 410                 415
Val Ile Lys Arg Ala Asn Asn Thr Phe Tyr Gly Leu Ser Ala Gly Val
            420                 425                 430
Phe Thr Lys Asp Ile Asp Lys Ala Ile Thr Ile Ser Ser Ala Leu Gln
        435                 440                 445
```

[0005]

```
Ala Gly Thr Val Trp Val Asn Cys Tyr Gly Val Val Ser Ala Gln Cys
    450                 455                 460
Pro Phe Gly Gly Phe Lys Met Ser Gly Asn Gly Arg Glu Leu Gly Glu
465                 470                 475                 480
Tyr Gly Phe His Glu Tyr Thr Glu Val Lys Thr Val Thr Val Lys Ile
                485                 490                 495
Ser Gln Lys Asn Ser
            500
```

<210> 4
<211> 501
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 4

```
Met Ser Ser Ser Gly Thr Pro Asp Leu Pro Val Leu Leu Thr Asp Leu
 1               5                  10                  15
Lys Ile Gln Tyr Thr Lys Ile Phe Ile Asn Asn Glu Trp His Asp Ser
            20                  25                  30
Val Ser Gly Lys Lys Phe Pro Val Phe Asn Pro Ala Thr Glu Glu Glu
        35                  40                  45
Leu Cys Gln Val Glu Glu Gly Asp Lys Glu Asp Val Asp Lys Ala Val
    50                  55                  60
Lys Ala Ala Arg Gln Ala Phe Gln Ile Gly Ser Pro Trp Arg Thr Met
65                  70                  75                  80
Asp Ala Ser Glu Arg Gly Arg Leu Leu Tyr Lys Leu Ala Asp Leu Ile
                85                  90                  95
Glu Arg Asp Arg Leu Leu Leu Ala Thr Met Glu Ser Met Asn Gly Gly
            100                 105                 110
Lys Leu Tyr Ser Asn Ala Tyr Leu Asn Asp Leu Ala Gly Cys Ile Lys
        115                 120                 125
Thr Leu Arg Tyr Cys Ala Gly Trp Ala Asp Lys Ile Gln Gly Arg Thr
    130                 135                 140
Ile Pro Ile Asp Gly Asn Phe Phe Thr Tyr Thr Arg His Glu Pro Ile
145                 150                 155                 160
Gly Val Cys Gly Gln Ile Ile Pro Trp Asn Phe Pro Leu Val Met Leu
                165                 170                 175
Ile Trp Lys Ile Gly Pro Ala Leu Ser Cys Gly Asn Thr Val Val Val
            180                 185                 190
Lys Pro Ala Glu Gln Thr Pro Leu Thr Ala Leu His Val Ala Ser Leu
        195                 200                 205
Ile Lys Glu Ala Gly Phe Pro Pro Gly Val Val Asn Ile Val Pro Gly
    210                 215                 220
Tyr Gly Pro Thr Ala Gly Ala Ala Ile Ser Ser His Met Asp Ile Asp
225                 230                 235                 240
Lys Val Ala Phe Thr Gly Ser Thr Glu Val Gly Lys Leu Ile Lys Glu
                245                 250                 255
Ala Ala Gly Lys Ser Asn Leu Lys Arg Val Thr Leu Glu Leu Gly Gly
            260                 265                 270
Lys Ser Pro Cys Ile Val Leu Ala Asp Ala Asp Leu Asp Asn Ala Val
        275                 280                 285
Glu Phe Ala His His Gly Val Phe Tyr His Gln Gly Gln Cys Cys Ile
    290                 295                 300
Ala Ala Ser Arg Ile Phe Val Glu Glu Ser Ile Tyr Asp Glu Phe Val
305                 310                 315                 320
Arg Arg Ser Val Glu Arg Ala Lys Lys Tyr Ile Leu Gly Asn Pro Leu
                325                 330                 335
```

[0006]

```
Thr Pro Gly Val Thr Gln Gly Pro Gln Ile Asp Lys Glu Gln Tyr Asp
            340                 345                 350
Lys Ile Leu Asp Leu Ile Glu Ser Gly Lys Lys Glu Gly Ala Lys Leu
        355                 360                 365
Glu Cys Gly Gly Gly Pro Trp Gly Asn Lys Gly Tyr Phe Val Gln Pro
    370                 375                 380
Thr Val Phe Ser Asn Val Thr Asp Glu Met Arg Ile Ala Lys Glu Glu
385                 390                 395                 400
Ile Phe Gly Pro Val Gln Gln Ile Met Lys Phe Lys Ser Leu Asp Asp
                405                 410                 415
Val Ile Lys Arg Ala Asn Asn Thr Phe Tyr Gly Leu Ser Ala Gly Val
            420                 425                 430
Phe Thr Lys Asp Ile Asp Lys Ala Ile Thr Ile Ser Ser Ala Leu Gln
        435                 440                 445
Ala Gly Thr Val Trp Val Asn Cys Tyr Gly Val Val Ser Ala Gln Cys
    450                 455                 460
Pro Phe Gly Gly Phe Lys Met Ser Gly Asn Gly Arg Glu Leu Gly Glu
465                 470                 475                 480
Tyr Gly Phe His Glu Tyr Thr Glu Val Lys Thr Val Thr Val Lys Ile
                485                 490                 495
Ser Gln Lys Asn Ser
            500
```

<210> 5
<211> 453
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 5

```
Met Ser Lys Ile Ser Glu Ala Val Lys Arg Ala Pro Ala Ala Phe Ser
 1               5                  10                  15
Ser Gly Arg Thr Arg Pro Leu Gln Phe Arg Ile Gln Gln Leu Glu Ala
            20                  25                  30
Leu Gln Arg Leu Ile Gln Glu Gln Glu Gln Glu Leu Val Gly Ala Leu
        35                  40                  45
Ala Ala Asp Leu His Lys Asn Glu Trp Asn Ala Tyr Tyr Glu Glu Val
    50                  55                  60
Val Tyr Val Leu Glu Glu Ile Glu Tyr Met Ile Gln Lys Leu Pro Glu
65                  70                  75                  80
Trp Ala Ala Asp Glu Pro Val Glu Lys Thr Pro Gln Thr Gln Gln Asp
                85                  90                  95
Glu Leu Tyr Ile His Ser Glu Pro Leu Gly Val Val Leu Val Ile Gly
            100                 105                 110
Thr Trp Asn Tyr Pro Phe Asn Leu Thr Ile Gln Pro Met Val Gly Ala
        115                 120                 125
Ile Ala Ala Gly Asn Ser Val Val Leu Lys Pro Ser Glu Leu Ser Glu
    130                 135                 140
Asn Met Ala Ser Leu Leu Ala Thr Ile Ile Pro Gln Tyr Leu Asp Lys
145                 150                 155                 160
Asp Leu Tyr Pro Val Ile Asn Gly Gly Val Pro Glu Thr Thr Glu Leu
                165                 170                 175
Leu Lys Glu Arg Phe Asp His Ile Leu Tyr Thr Gly Ser Thr Gly Val
            180                 185                 190
Gly Lys Ile Ile Met Thr Ala Ala Ala Lys His Leu Thr Pro Val Thr
        195                 200                 205
Leu Glu Leu Gly Gly Lys Ser Pro Cys Tyr Val Asp Lys Asn Cys Asp
    210                 215                 220
```

[0007]

Leu Asp Val Ala Cys Arg Arg Ile Ala Trp Gly Lys Phe Met Asn Ser
225 230 235 240
Gly Gln Thr Cys Val Ala Pro Asp Tyr Ile Leu Cys Asp Pro Ser Ile
245 250 255
Gln Asn Gln Ile Val Glu Lys Leu Lys Lys Ser Leu Lys Glu Phe Tyr
260 265 270
Gly Glu Asp Ala Lys Lys Ser Arg Asp Tyr Gly Arg Ile Ile Ser Ala
275 280 285
Arg His Phe Gln Arg Val Met Gly Leu Ile Glu Gly Gln Lys Val Ala
290 295 300
Tyr Gly Gly Thr Gly Asp Ala Ala Thr Arg Tyr Ile Ala Pro Thr Ile
305 310 315 320
Leu Thr Asp Val Asp Pro Gln Ser Pro Val Met Gln Glu Glu Ile Phe
325 330 335
Gly Pro Val Leu Pro Ile Val Cys Val Arg Ser Leu Glu Glu Ala Ile
340 345 350
Gln Phe Ile Asn Gln Arg Glu Lys Pro Leu Ala Leu Tyr Met Phe Ser
355 360 365
Ser Asn Asp Lys Val Ile Lys Lys Met Ile Ala Glu Thr Ser Ser Gly
370 375 380
Gly Val Ala Ala Asn Asp Val Ile Val His Ile Thr Leu His Ser Leu
385 390 395 400
Pro Phe Gly Gly Val Gly Asn Ser Gly Met Gly Ser Tyr His Gly Lys
405 410 415
Lys Ser Phe Glu Thr Phe Ser His Arg Arg Ser Cys Leu Val Arg Pro
420 425 430
Leu Met Asn Asp Glu Gly Leu Lys Val Arg Tyr Pro Pro Ser Pro Ala
435 440 445
Lys Met Thr Gln His
450

<210> 6
<211> 535
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 6
Met Ala Thr Cys Ile Trp Leu Arg Ser Cys Gly Ala Arg Arg Leu Gly
1 5 10 15
Ser Thr Phe Pro Gly Cys Arg Leu Arg Pro Arg Ala Gly Gly Leu Val
20 25 30
Pro Ala Ser Gly Pro Ala Pro Gly Pro Ala Gln Leu Arg Cys Tyr Ala
35 40 45
Gly Arg Leu Ala Gly Leu Ser Ala Ala Leu Leu Arg Thr Asp Ser Phe
50 55 60
Val Gly Gly Arg Trp Leu Pro Ala Ala Ala Thr Phe Pro Val Gln Asp
65 70 75 80
Pro Ala Ser Gly Ala Ala Leu Gly Met Val Ala Asp Cys Gly Val Arg
85 90 95
Glu Ala Arg Ala Ala Val Arg Ala Ala Tyr Glu Ala Phe Cys Arg Trp
100 105 110
Arg Glu Val Ser Ala Lys Glu Arg Ser Ser Leu Leu Arg Lys Trp Tyr
115 120 125
Asn Leu Met Ile Gln Asn Lys Asp Asp Leu Ala Arg Ile Ile Thr Ala
130 135 140
Glu Ser Gly Lys Pro Leu Lys Glu Ala His Gly Glu Ile Leu Tyr Ser
145 150 155 160

[0008]

Ala Phe Phe Leu Glu Trp Phe Ser Glu Glu Ala Arg Arg Val Tyr Gly
165 170 175
Asp Ile Ile His Thr Pro Ala Lys Asp Arg Arg Ala Leu Val Leu Lys
180 185 190
Gln Pro Ile Gly Val Ala Ala Val Ile Thr Pro Trp Asn Phe Pro Ser
195 200 205
Ala Met Ile Thr Arg Lys Val Gly Ala Ala Leu Ala Ala Gly Cys Thr
210 215 220
Val Val Val Lys Pro Ala Glu Asp Thr Pro Phe Ser Ala Leu Ala Leu
225 230 235 240
Ala Glu Leu Ala Ser Gln Ala Gly Ile Pro Ser Gly Val Tyr Asn Val
245 250 255
Ile Pro Cys Ser Arg Lys Asn Ala Lys Glu Val Gly Glu Ala Ile Cys
260 265 270
Thr Asp Pro Leu Val Ser Lys Ile Ser Phe Thr Gly Ser Thr Thr Thr
275 280 285
Gly Lys Ile Leu Leu His His Ala Ala Asn Ser Val Lys Arg Val Ser
290 295 300
Met Glu Leu Gly Gly Leu Ala Pro Phe Ile Val Phe Asp Ser Ala Asn
305 310 315 320
Val Asp Gln Ala Val Ala Gly Ala Met Ala Ser Lys Phe Arg Asn Thr
325 330 335
Gly Gln Thr Cys Val Cys Ser Asn Gln Phe Leu Val Gln Arg Gly Ile
340 345 350
His Asp Ala Phe Val Lys Ala Phe Ala Glu Ala Met Lys Lys Asn Leu
355 360 365
Arg Val Gly Asn Gly Phe Glu Glu Gly Thr Thr Gln Gly Pro Leu Ile
370 375 380
Asn Glu Lys Ala Val Glu Lys Val Glu Lys Gln Val Asn Asp Ala Val
385 390 395 400
Ser Lys Gly Ala Thr Val Val Thr Gly Gly Lys Arg His Gln Leu Gly
405 410 415
Lys Asn Phe Phe Glu Pro Thr Leu Leu Cys Asn Val Thr Gln Asp Met
420 425 430
Leu Cys Thr His Glu Glu Thr Phe Gly Pro Leu Ala Pro Val Ile Lys
435 440 445
Phe Asp Thr Glu Glu Glu Ala Ile Ala Ile Ala Asn Ala Ala Asp Val
450 455 460
Gly Leu Ala Gly Tyr Phe Tyr Ser Gln Asp Pro Ala Gln Ile Trp Arg
465 470 475 480
Val Ala Glu Gln Leu Glu Val Gly Met Val Gly Val Asn Glu Gly Leu
485 490 495
Ile Ser Ser Val Glu Cys Pro Phe Gly Gly Val Lys Gln Ser Gly Leu
500 505 510
Gly Arg Glu Gly Ser Lys Tyr Gly Ile Asp Glu Tyr Leu Glu Leu Lys
515 520 525
Tyr Val Cys Tyr Gly Gly Leu
530 535

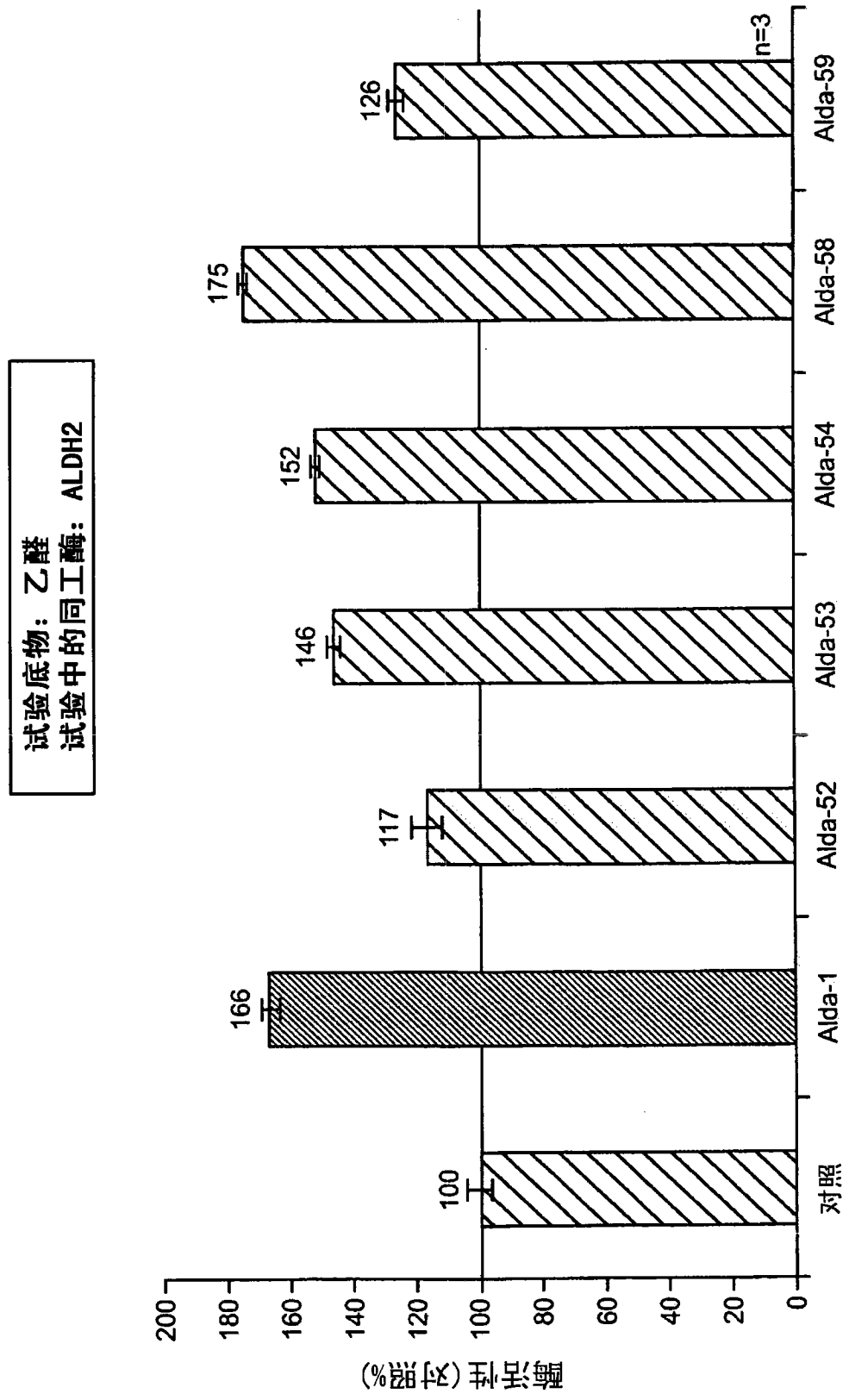

试验底物：乙醛
试验中的同工酶：ALDH2
酶活性（对照%）
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
n=3
100
166
117
146
152
175
126
对照
Alda-1
Alda-52
Alda-53
Alda-54
Alda-58
Alda-59

图 1

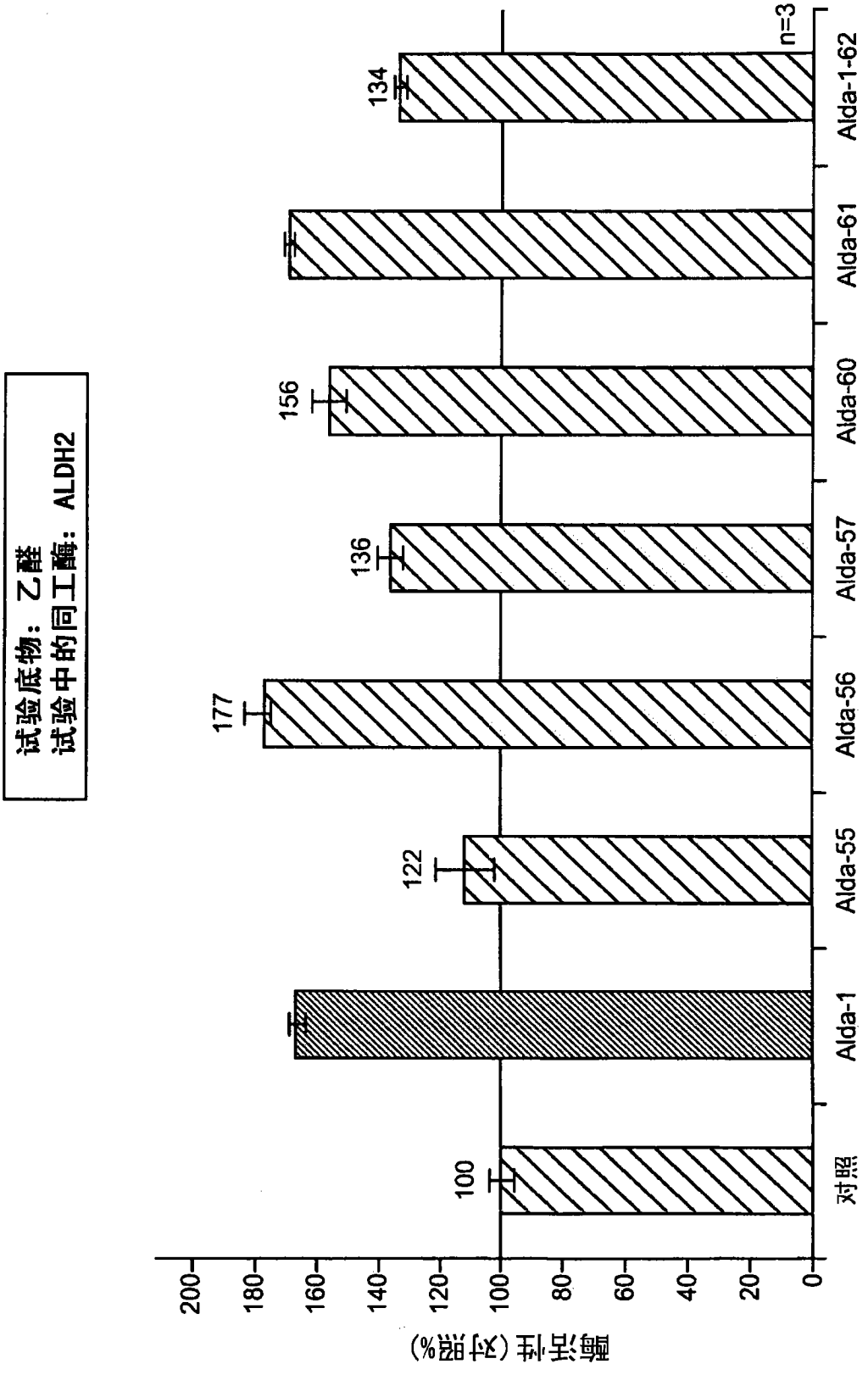

试验底物：乙醛
试验中的同工酶：ALDH2
酶活性（对照%）
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
200
n=3
对照
Alda-1
Alda-55
Alda-56
Alda-57
Alda-60
Alda-61
Alda-1-62
100
122
177
136
156
134

图 2

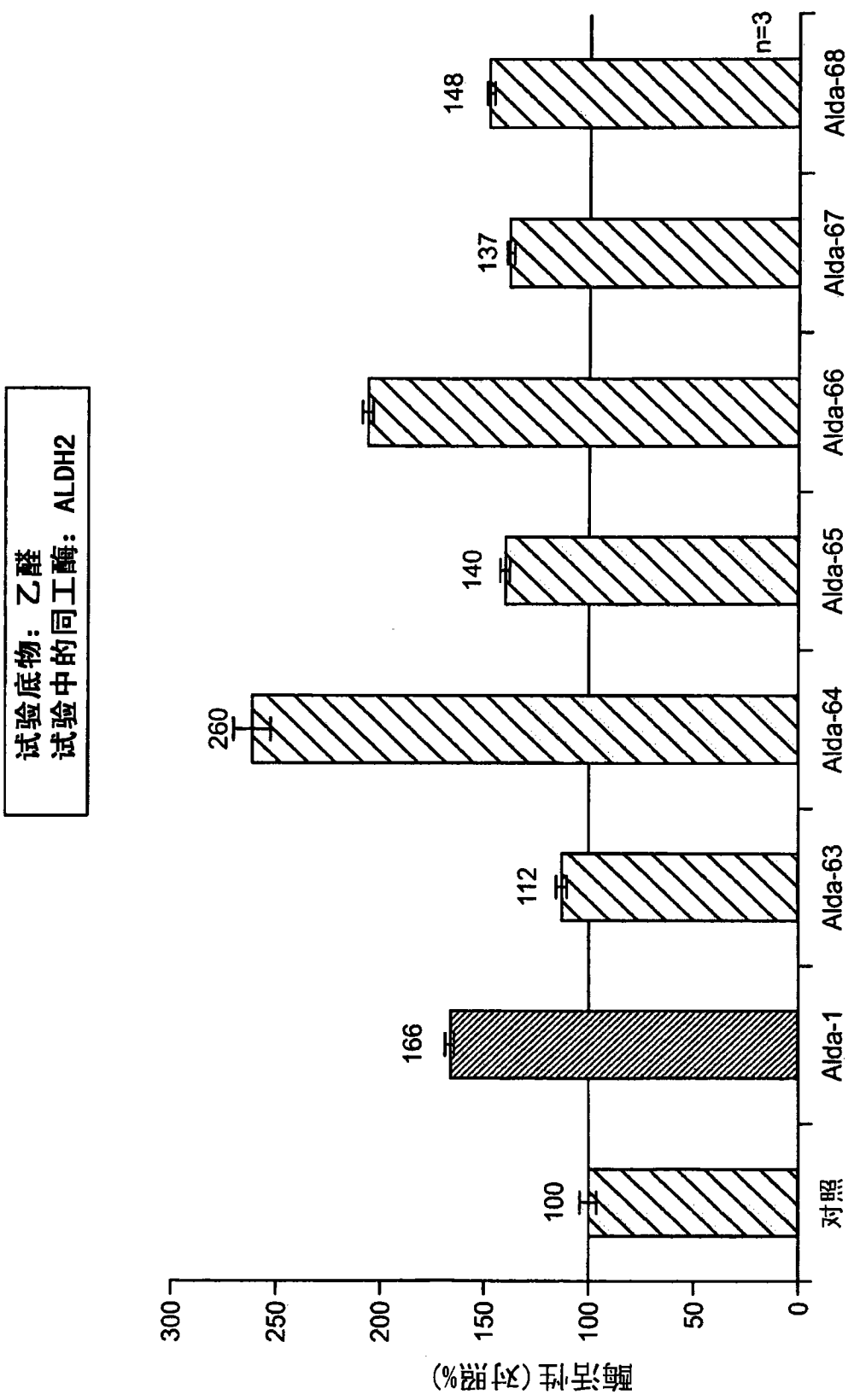

试验底物：乙醛
试验中的同工酶：ALDH2
酶活性（对照%）
300
250
200
150
100
50
0
n=3
对照
Alda-1
Alda-63
Alda-64
Alda-65
Alda-66
Alda-67
Alda-68
100
166
112
260
140
137
148

图 3

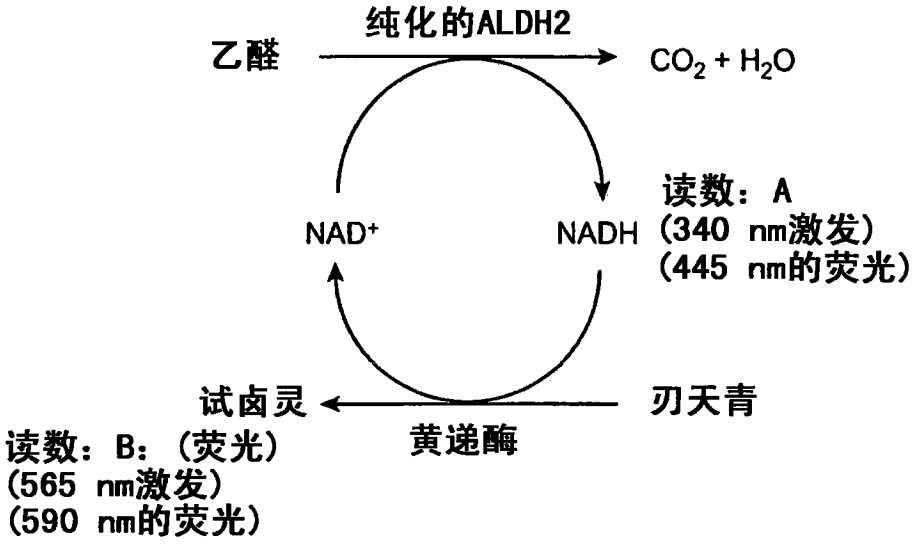

纯化的ALDH2
乙醛
$CO_2 + H_2O$
读数：A
(340 nm激发)
(445 nm的荧光)
NAD+
NADH
试卤灵
刃天青
黄递酶
读数：B：(荧光)
(565 nm激发)
(590 nm的荧光)

图 4

```
   1 mlraaarfgp rlgrrllsaa atqavpapnq qpevfcnqif innewhdavs rktfptvnps
  61 tgevicqvae gdkedvdkav kaaraafqlg spwrrmdash rgrllnrlad lierdrtyla
 121 aletldngkp yvisylvdld mvlkclryya gwadkyhgkt ipidgdffsy trhepvgvcg
 181 qiipwnfpll mqawklgpal atgnvvvmkv aeqtpltaly vanlikeagf ppgvvnivpg
 241 fgptagaaia shedvdkvaf tgsteigrvi qvaagssnlk rvtlelggks pniimsdadm
 301 dwavegahfa lffnqgqccc agsrtfvqed iydefversv araksrvvgn pfdskteqgp
 361 qvdetqfkki lgyintgkqe gakllcgggi aadrgyfiqp tvfgdvqdgm tiakeeifgp
 421 vmqilkfkti eevvgranns tyglaaavft kdldkanyls qalqagtvwv ncydvfgaqs
 481 pfggykmsgs grelgeyglq aytevktvtv kvpqkns (SEQ ID NO:1)
```

图 5A

```
   1 mlraaarfgp rlgrrllsaa atqavpapnq qpevfcnqif innewhdavs rktfptvnps
  61 tgevicqvae gdkedvdkav kaaraafqlg spwrrmdash rgrllnrlad lierdrtyla
 121 aletldngkp yvisylvdld mvlkclryya gwadkyhgkt ipidgdffsy trhepvgvcg
 181 qiipwnfpll mqawklgpal atgnvvvmkv aeqtpltaly vanlikeagf ppgvvnivpg
 241 fgptagaaia shedvdkvaf tgsteigrvi qvaagssnlk rvtlelggks pniimsdadm
 301 dwavegahfa lffnqgqccc agsrtfvqed iydefversv araksrvvgn pfdskteqgp
 361 qvdetqfkki lgyintgkqe gakllcgggi aadrgyfiqp tvfgdvqdgm tiakeeifgp
 421 vmqilkfkti eevvgranns tyglaaavft kdldkanyls qalqagtvwv ncydvfgaqs
 481 pfggykmsgs grelgeyglq aytkvktvtv kvpqkns (SEQ ID NO:2)
```

图 5B

```
   1 msssgtpdlp vlltdlkiqy tkifinnewh dsvsgkkfpv fnpateeelc qveegdkedv
  61 dkavkaarqa fqigspwrtm dasergrlly kladlierdr lllatmesmn ggklysnayl
 121 sdlagciktl rycagwadki qgrtipidgn fftytrhepi gvcgqiipwn fplvmliwki
 181 gpalscgntv vvkpaeqtpl talhvaslik eagfppgvvn ivpgygptag aaisshmdid
 241 kvaftgstev gklikeaagk snlkrvtlel ggkspcivla dadldnavef ahhgvfyhqg
 301 qcciaasrif veesiydefv rrsverakky ilgnpltpgv tqgpqidkeq ydkildlies
 361 gkkegaklec gggpwgnkgy fvqptvfsnv tdemriakee ifgpvqqimk fksldd vikr
 421 anntfyglsa gvftkdidka itissalqag tvwvncygvv saqcpfggfk msgngrelge
 481 ygfheytevk tvtvkisqkn s (SEQ ID NO:3)
```

图 6A

```
   1 msssgtpdlp vlltdlkiqy tkifinnewh dsvsgkkfpv fnpateeelc qveegdkedv
  61 dkavkaarqa fqigspwrtm dasergrlly kladlierdr lllatmesmn ggklysnayl
 121 ndlagciktl rycagwadki qgrtipidgn fftytrhepi gvcgqiipwn fplvmliwki
 181 gpalscgntv vvkpaeqtpl talhvaslik eagfppgvvn ivpgygptag aaisshmdid
 241 kvaftgstev gklikeaagk snlkrvtlel ggkspcivla dadldnavef ahhgvfyhqg
 301 qcciaasrif veesiydefv rrsverakky ilgnpltpgv tqgpqidkeq ydkildlies
 361 gkkegaklec gggpwgnkgy fvqptvfsnv tdemriakee ifgpvqqimk fksldd vikr
 421 anntfyglsa gvftkdidka itissalqag tvwvncygvv saqcpfggfk msgngrelge
 481 ygfheytevk tvtvkisqkn s (SEQ ID NO:4)
```

图 6B

```
   1 mskiseavkr apaafssgrt rplqfriqql ealqrliqeq eqelvgalaa dlhknewnay
  61 yeevvyvlee ieymiqklpe waadepvekt pqtqqdelyi hseplgvvlv igtwnypfnl
 121 tiqpmvgaia agnsvvlkps elsenmasll atiipqyldk dlypvinggv pettellker
 181 fdhilytgst gvgkiimtaa akhltpvtle lggkspcyvd kncdldvacr riawgkfmns
 241 gqtcvapdyi lcdpsiqnqi veklkkslke fygedakksr dygriisarh fqrvmglieg
 301 qkvayggtgd aatryiapti ltdvdpqspv mqeeifgpvl pivcvrslee aiqfinqrek
 361 plalymfssn dkvikkmiae tssggvaand vivhitlhsl pfggvgnsgm gsyhgkksfe
 421 tfshrrsclv rplmndeglk vryppspakm tqh (SEQ ID NO:5)
```

图 7

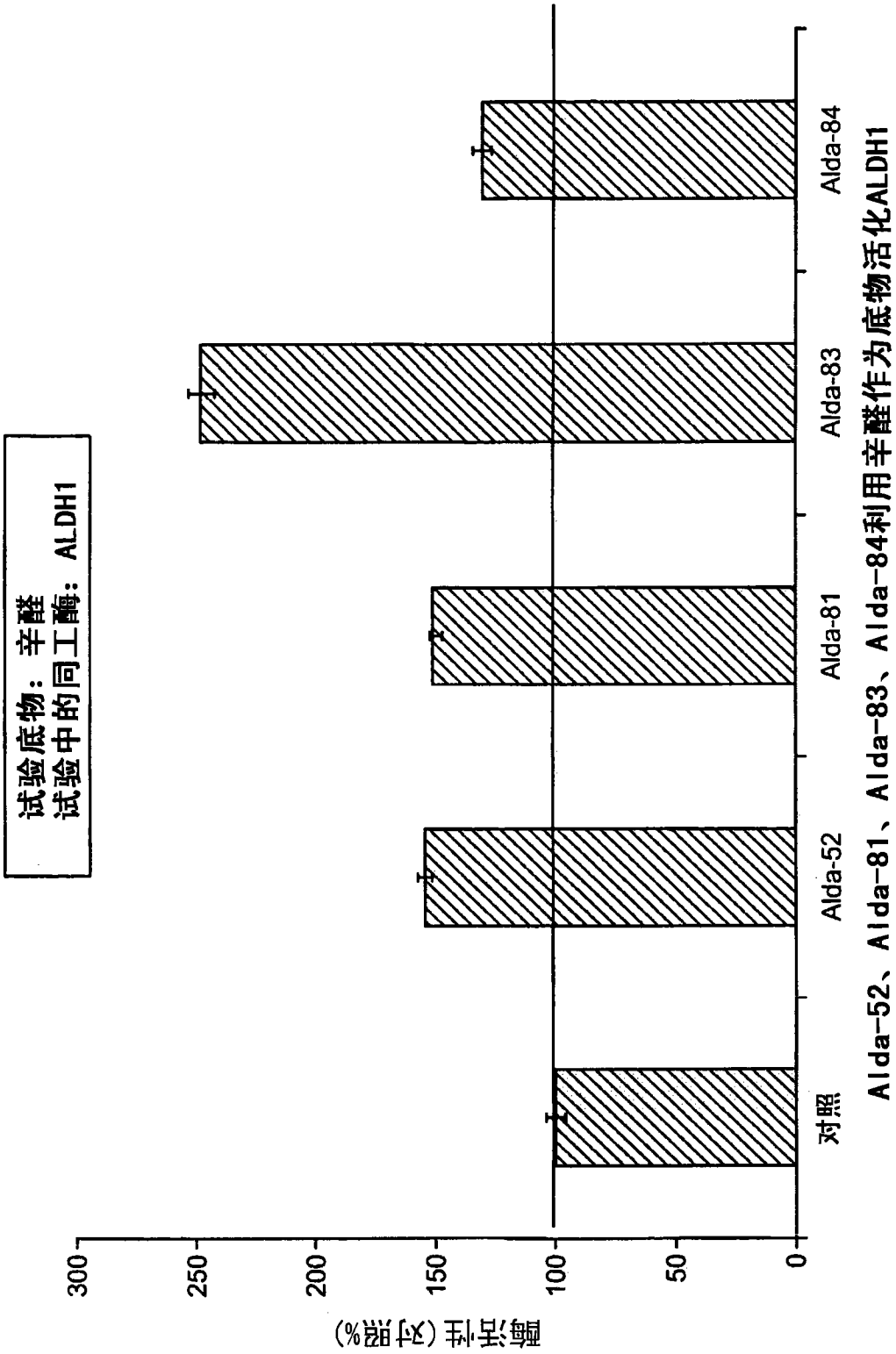

试验底物：辛醛
试验中的同工酶：ALDH1
酶活性（对照%）
300
250
200
150
100
50
0
对照
Alda-52
Alda-81
Alda-83
Alda-84
Alda-52、Alda-81、Alda-83、Alda-84利用辛醛作为底物活化ALDH1

图 8

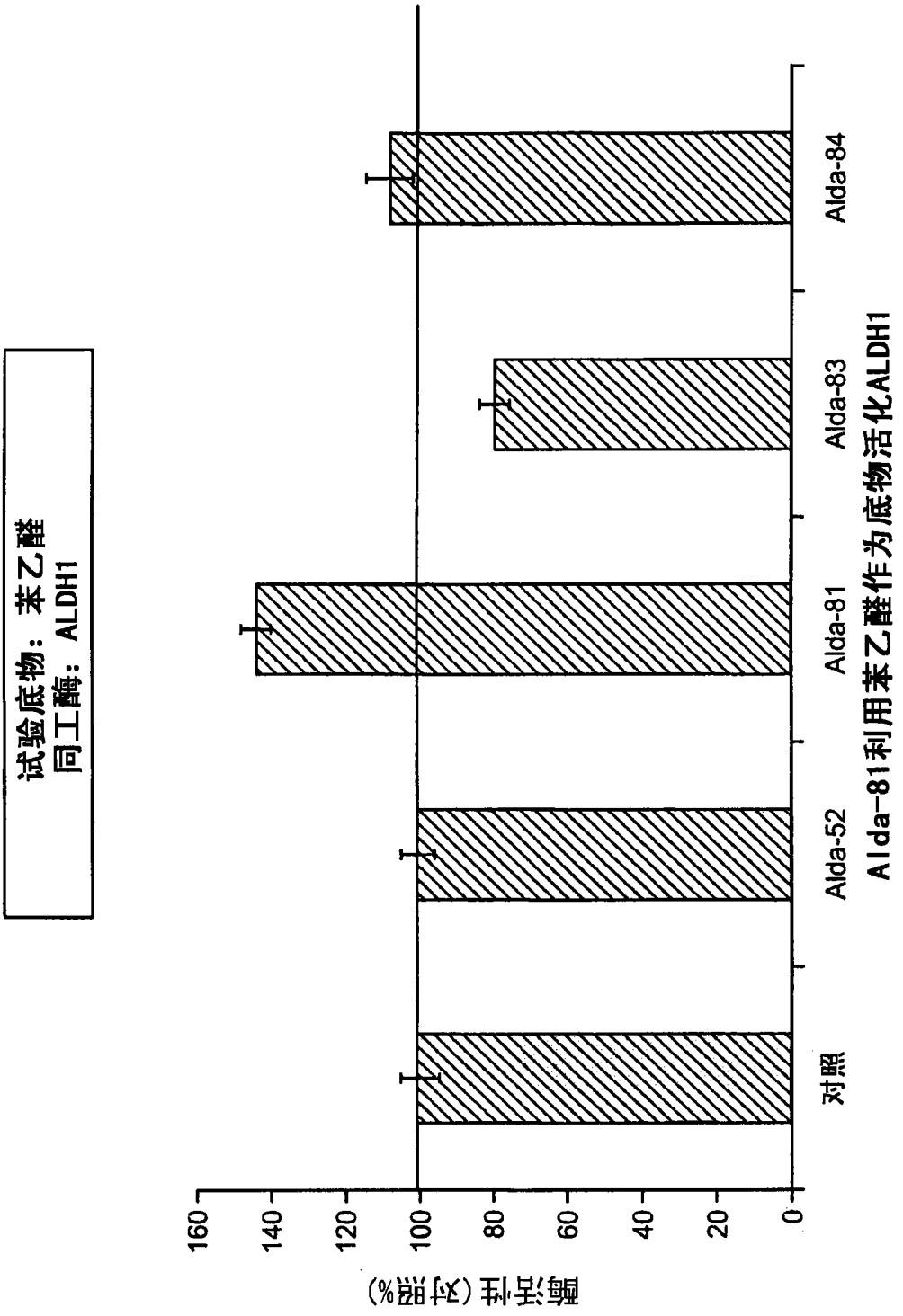

试验底物：苯乙醛
同工酶：ALDH1
酶活性（对照%）
160
140
120
100
80
60
40
20
0
对照
Alda-52
Alda-81
Alda-83
Alda-84
Alda-81利用苯乙醛作为底物活化ALDH1

图 9

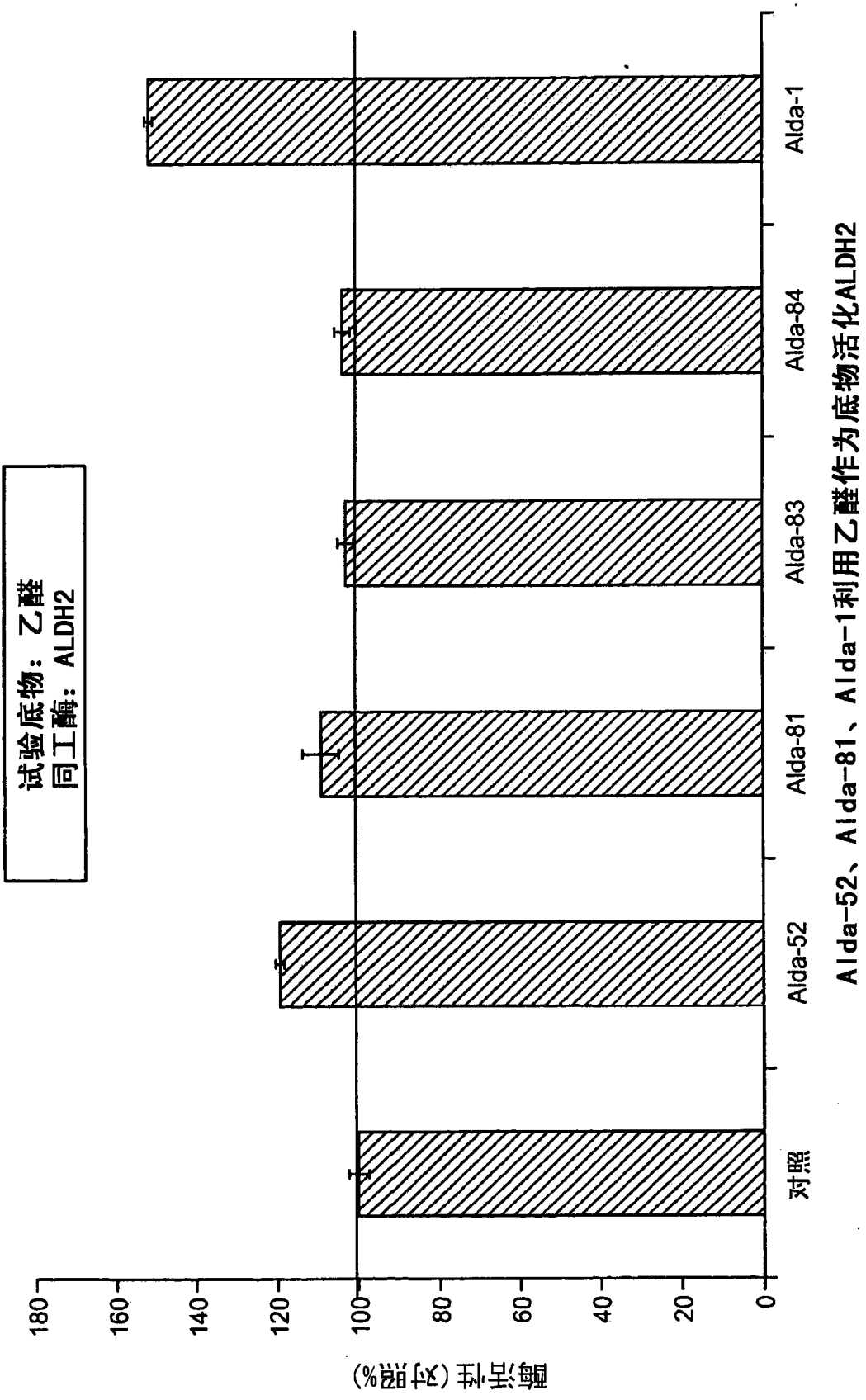

Alda-52、Alda-81、Alda-1利用乙醛作为底物活化ALDH2
试验底物：乙醛
同工酶：ALDH2
酶活性（对照%）
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
对照
Alda-52
Alda-81
Alda-83
Alda-84
Alda-1

图 10

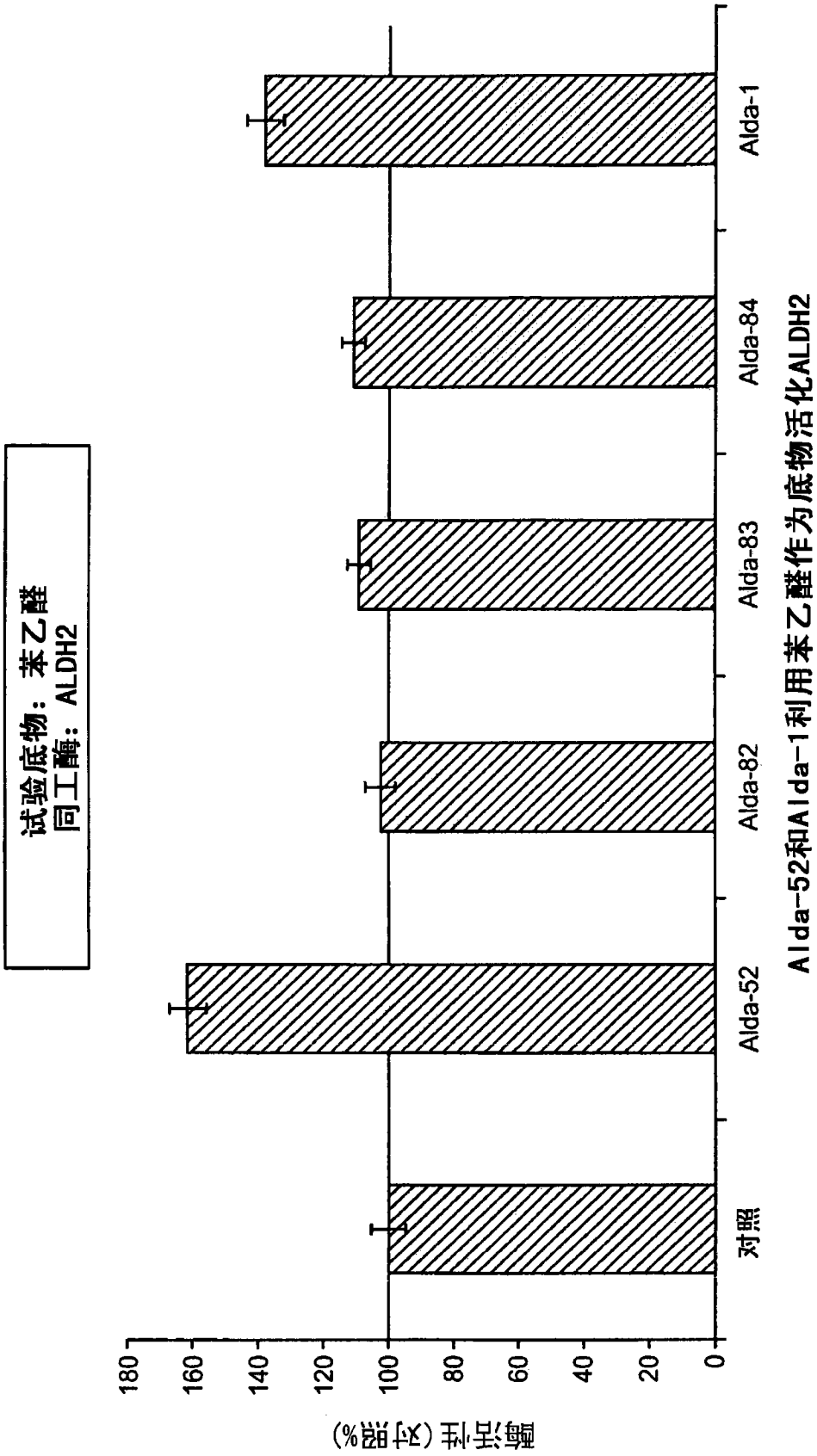

Alda-52和Alda-1利用苯乙醛作为底物活化ALDH2
试验底物：苯乙醛
同工酶：ALDH2
酶活性（对照%）
0
20
40
60
80
100
120
140
160
180
对照
Alda-52
Alda-82
Alda-83
Alda-84
Alda-1

图 11

```
  1 matciwlrsc garrlgstfp gcrlrpragg lvpasgpapg paqlrcyagr laglsaallr
 61 tdsfvggrwl paaatfpvqd pasgaalgmv adcgvreara avraayeafc rwrevsaker
121 ssllrkwynl miqnkddlar iitaesgkpl keahgeilys afflewfsee arrvygdiih
181 tpakdrralv lkqpigvaav itpwnfpsam itrkvgaala agctvvvkpa edtpfsalal
241 aelasqagip sgvynvipcs rknakevgea ictdplvski sftgstttgk illhhaansv
301 krvsmelggl apfivfdsan vdqavagama skfrntgqtc vcsnqflvqr gihdafvkaf
361 aeamkknlrv gngfeegttq gplinekave kvekqvndav skgatvvtgg krhqlgknff
421 eptllcnvtq dmlctheetf gplapvikfd teeeaiaian aadvglagyf ysqdpaqiwr
481 vaeqlevgmv gvneglissv ecpfggvkqs glgregskyg ideylelkyv cyggl
      (SEQ ID NO:6)
```

图 12

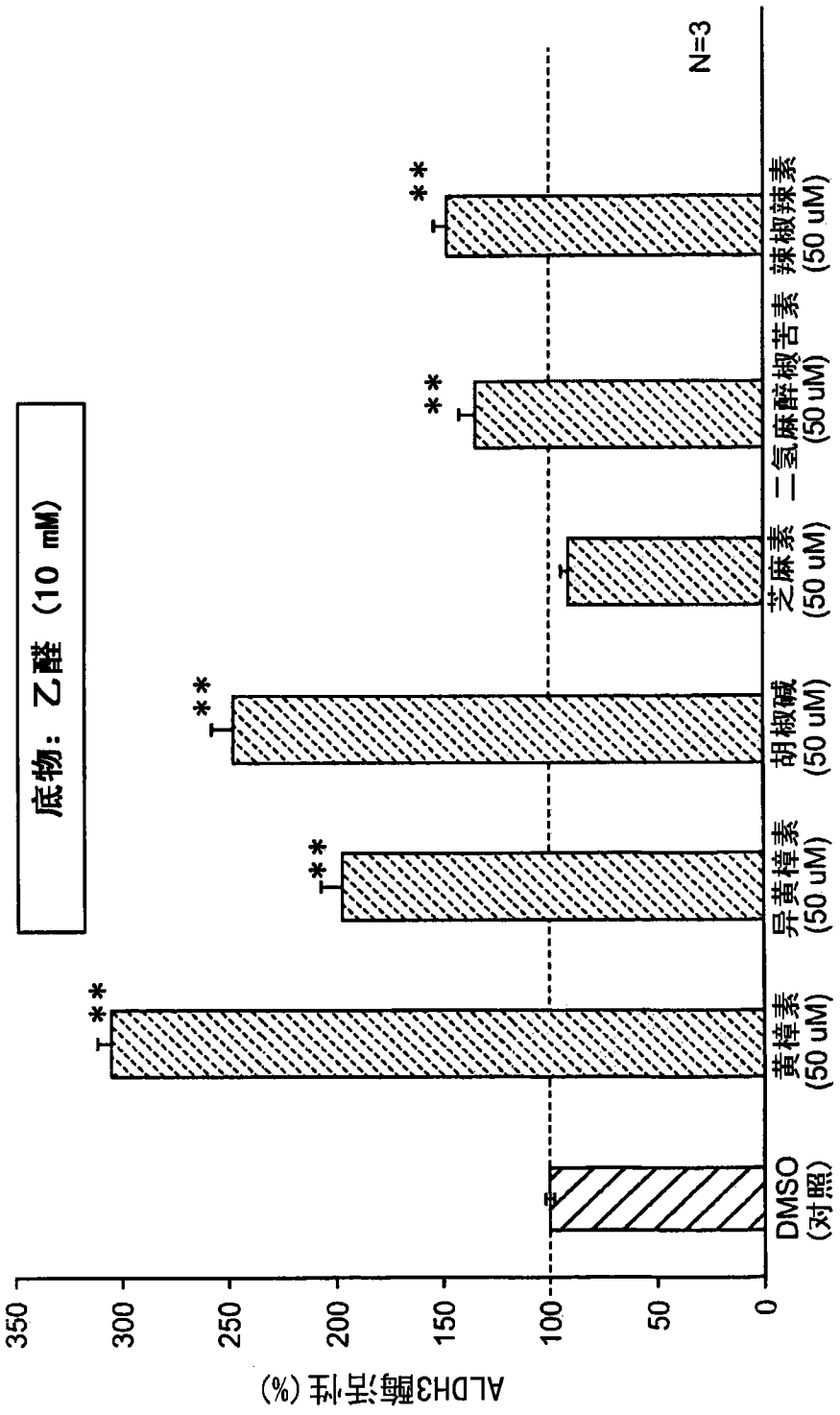

底物：乙醛（10 mM）
N=3
ALDH3酶活性（%）
350
300
250
200
150
100
50
0
DMSO（对照）
黄樟素（50 uM）
异黄樟素（50 uM）
胡椒碱（50 uM）
芝麻素（50 uM）
二氢麻醉椒苦素（50 uM）
辣椒辣素（50 uM）
**

图 13

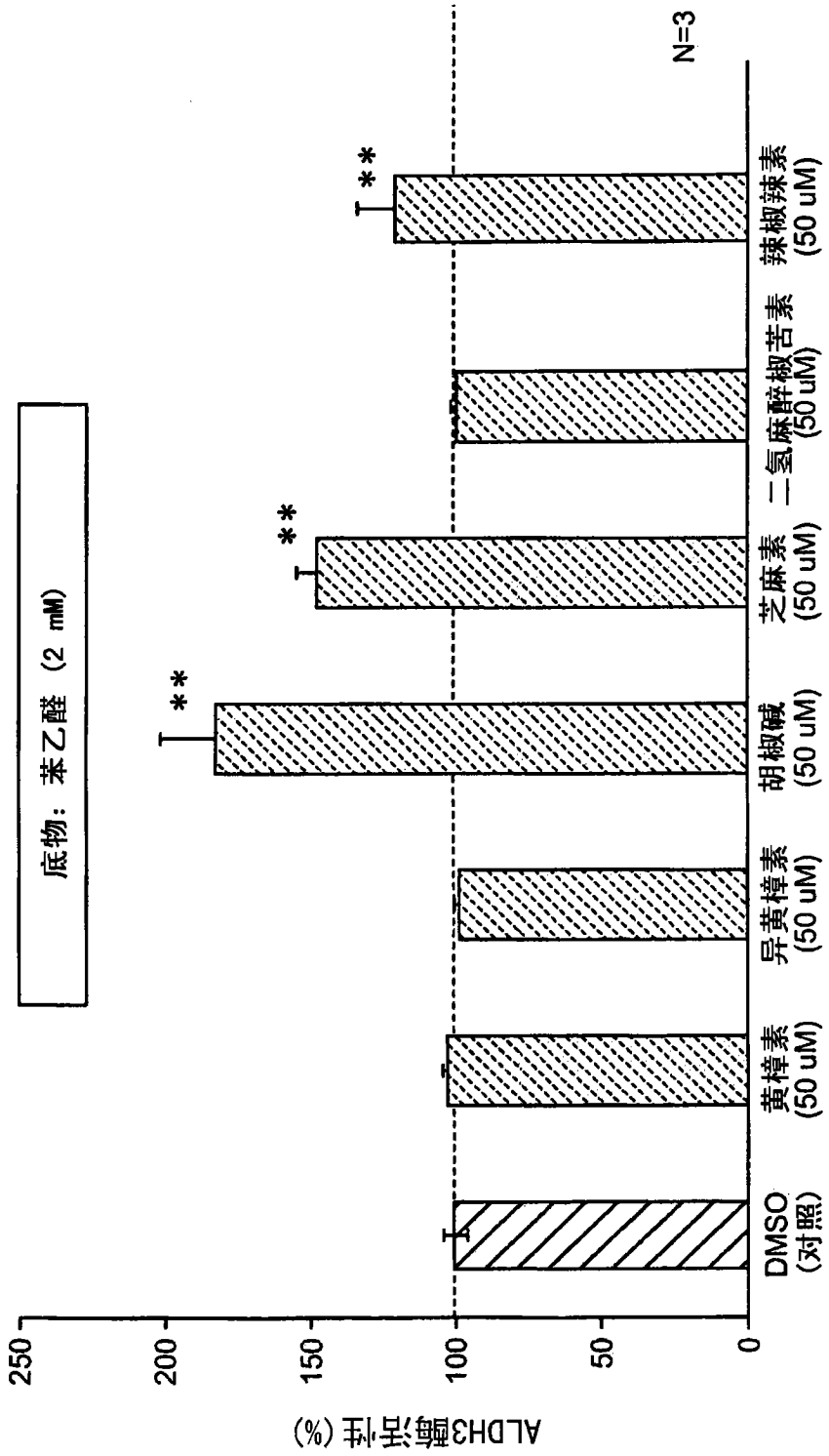

N=3
底物：苯乙醛 (2 mM)
ALDH3酶活性 (%)
250
200
150
100
50
0
**
**
**
DMSO (对照)
黄樟素 (50 uM)
异黄樟素 (50 uM)
胡椒碱 (50 uM)
芝麻素 (50 uM)
二氢麻醉椒苦素 (50 uM)
辣椒辣素 (50 uM)

图 14

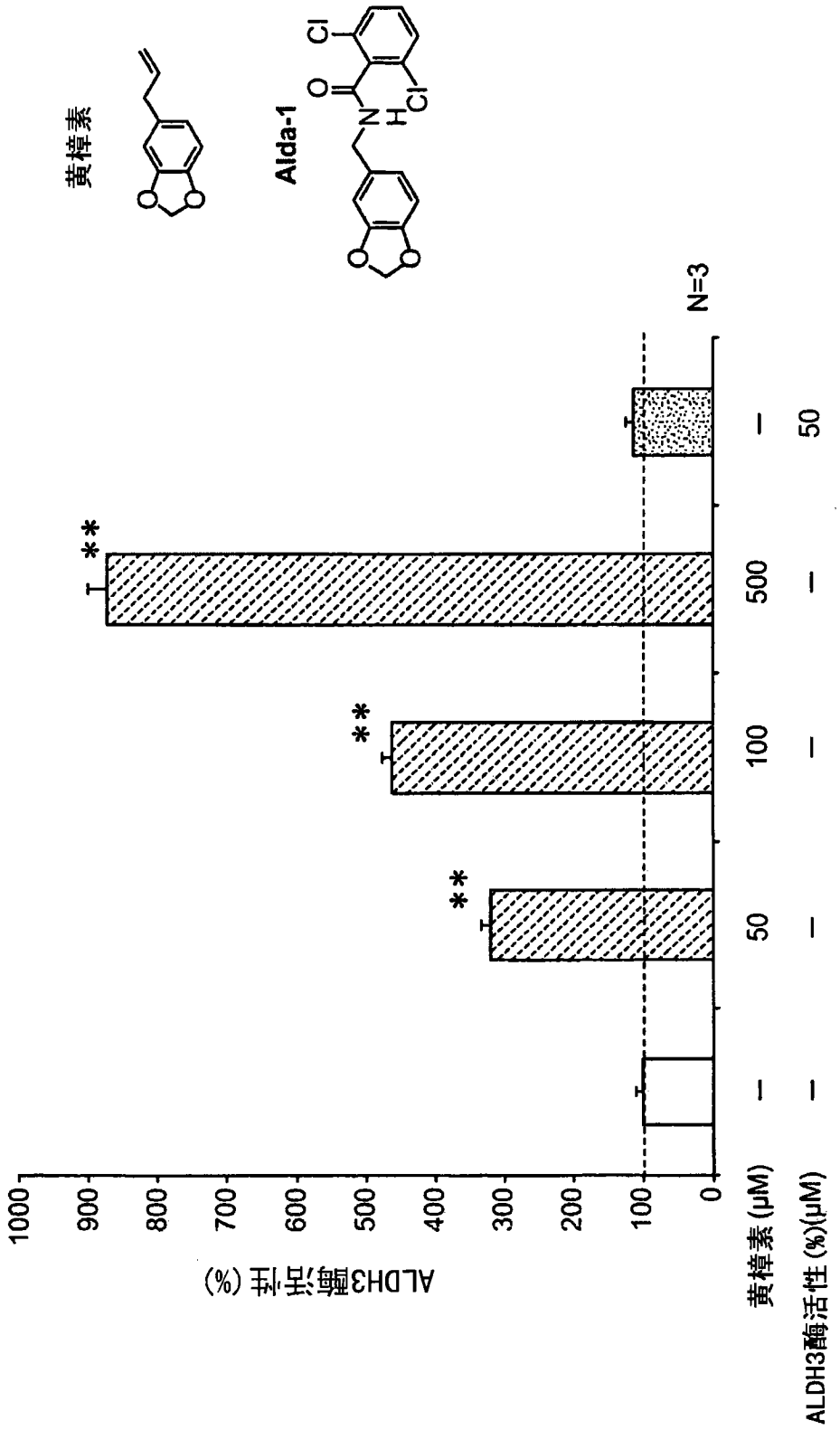

黄樟素
Alda-1
Cl
O
N
H
Cl
N=3
**
**
**
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
ALDH3酶活性 (%)
黄樟素 (μM) — — 50 100 500 —
ALDH3酶活性 (%)(μM) — — — — — 50

图 15

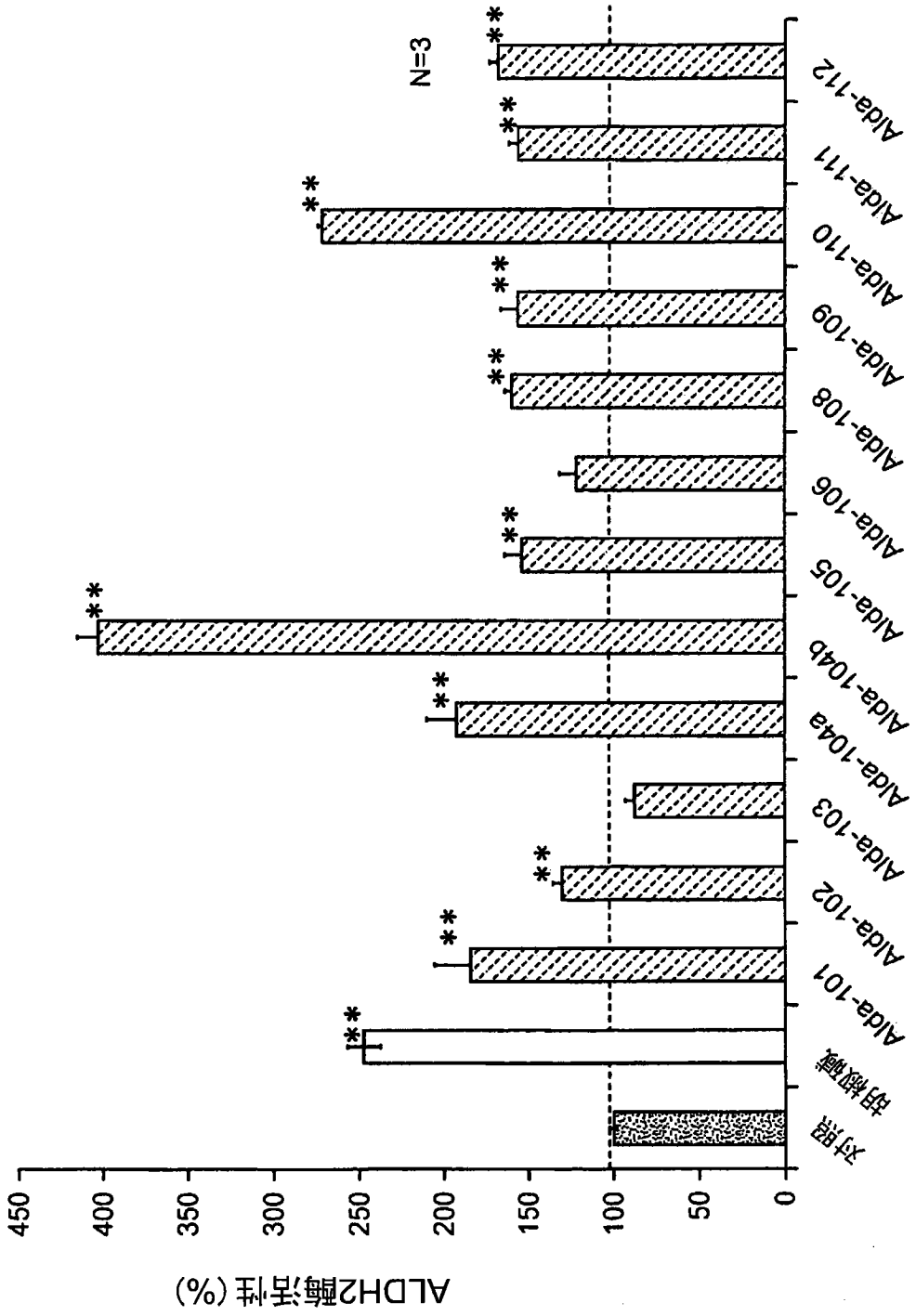

ALDH2酶活性 (%)
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
对照
硝酸酯
Alda-101
Alda-102
Alda-103
Alda-104a
Alda-104b
Alda-105
Alda-106
Alda-108
Alda-109
Alda-110
Alda-111
Alda-112
N=3
**

图 16

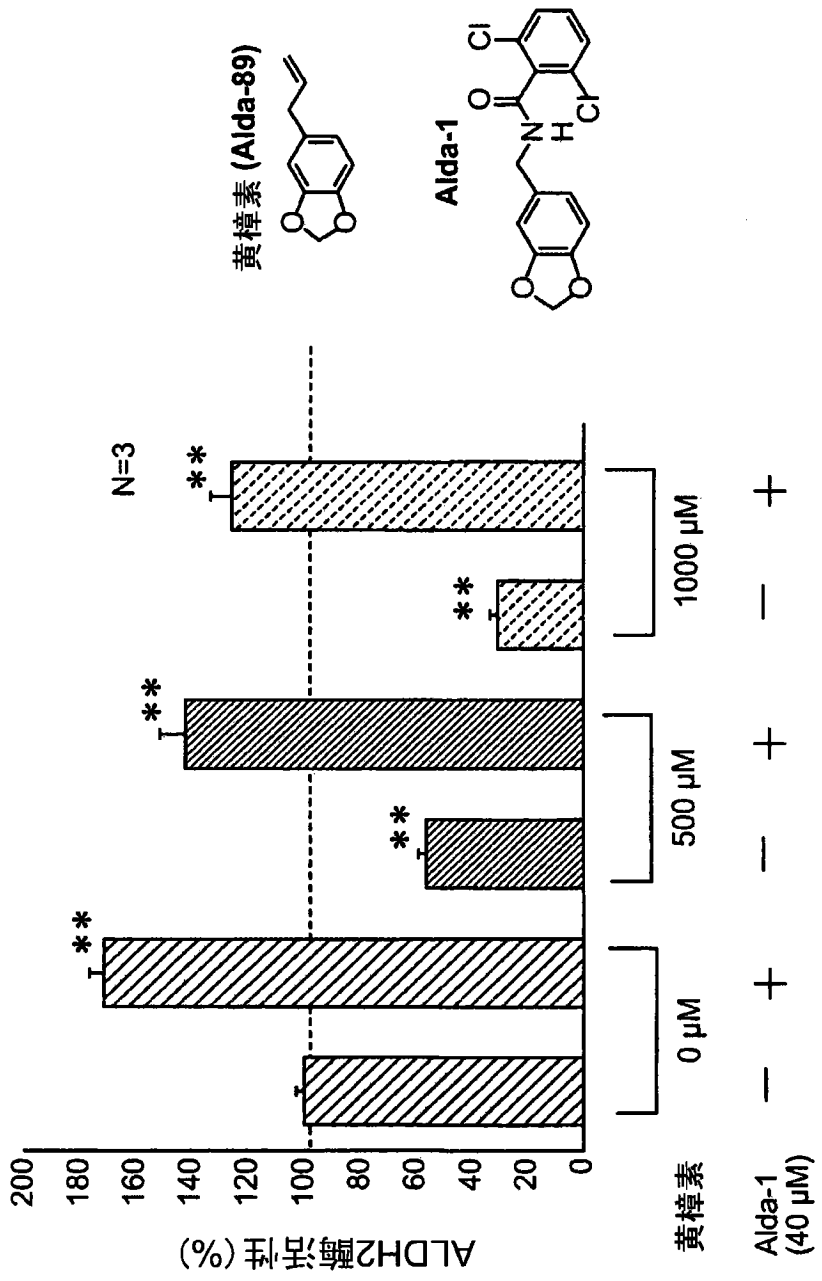

黄樟素 (Alda-89)
Alda-1
N=3
**
ALDH2酶活性 (%)
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0 μM
500 μM
1000 μM
黄樟素
Alda-1 (40 μM)
—
+

图 17

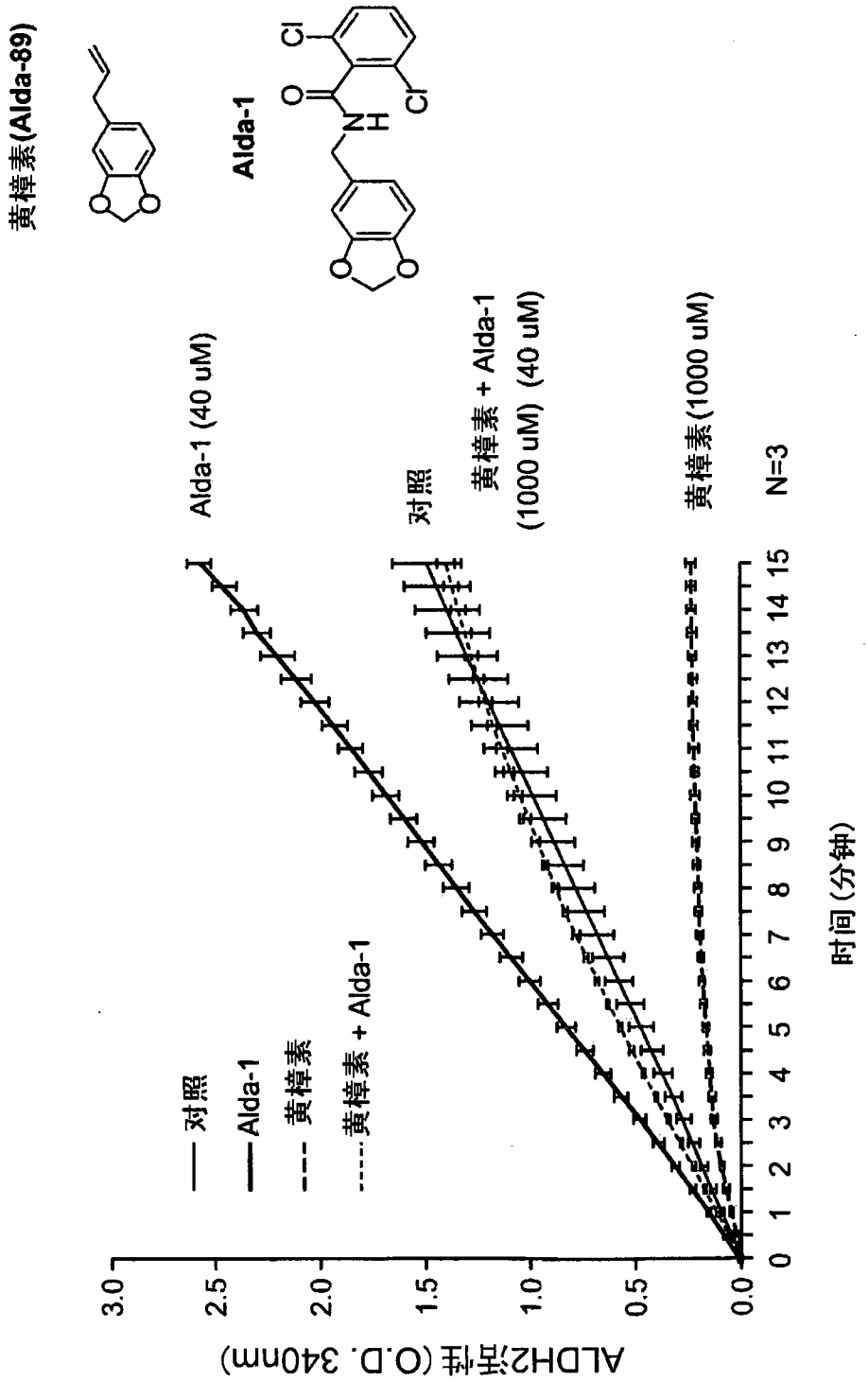

黄樟素(Alda-89)
Alda-1
Alda-1 (40 uM)
对照
黄樟素 + Alda-1
(1000 uM) (40 uM)
黄樟素(1000 uM)
N=3
对照
Alda-1
黄樟素
黄樟素 + Alda-1
ALDH2活性(O.D. 340nm)
时间(分钟)
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

图 18

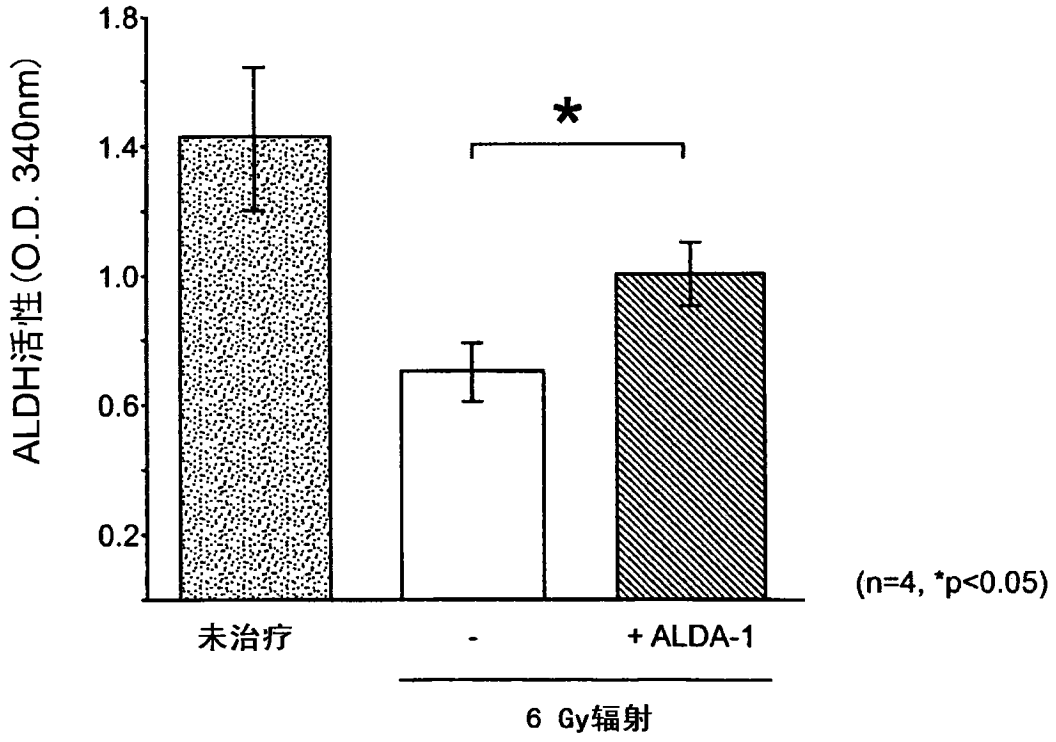


图 19

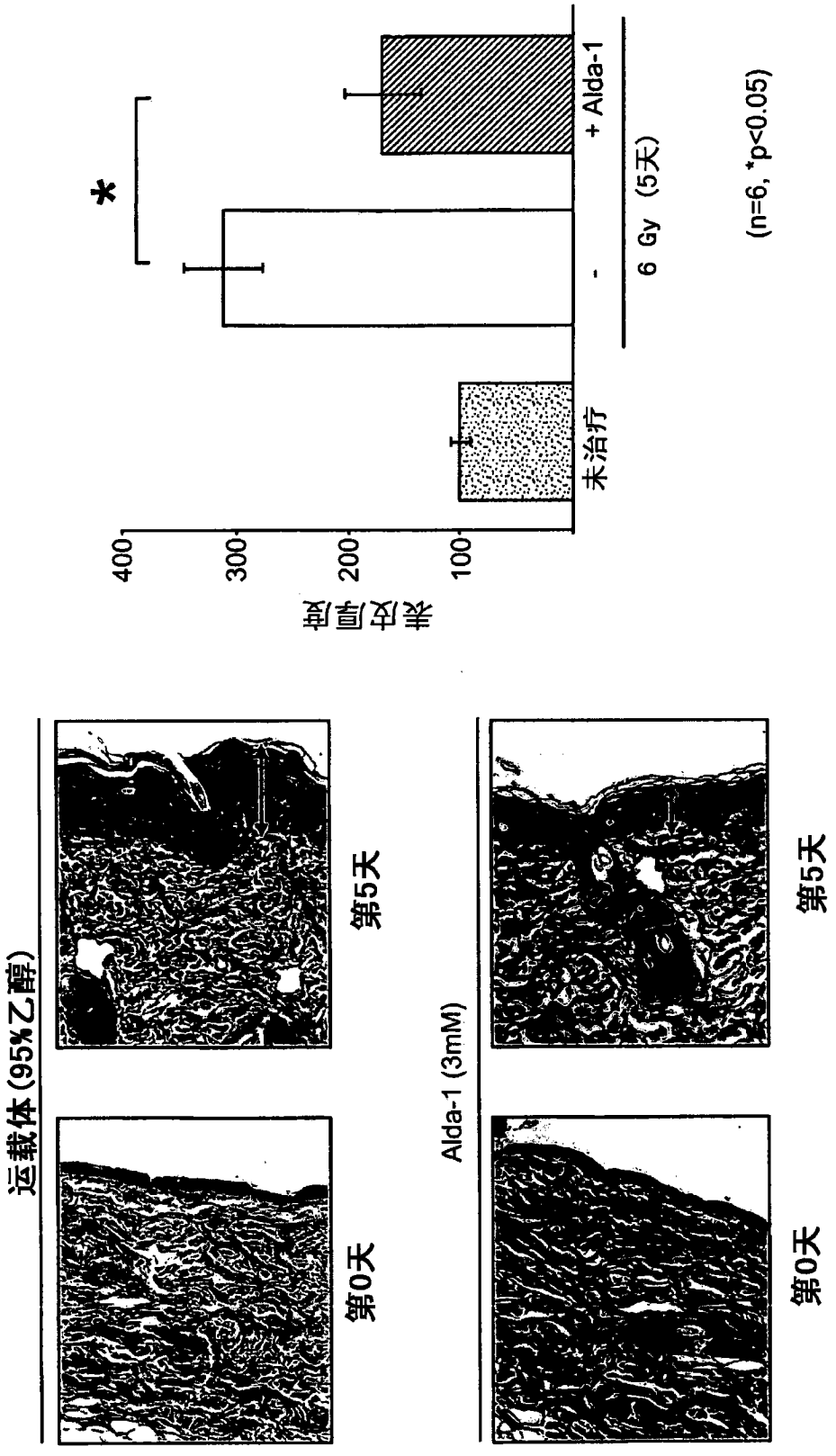

表皮厚度
400
300
200
100
未治疗
-
+ Alda-1
6 Gy (5天)
(n=6, *p<0.05)
*
运载体(95%乙醇)
Alda-1 (3mM)
第0天
第5天
第0天
第5天

图 20

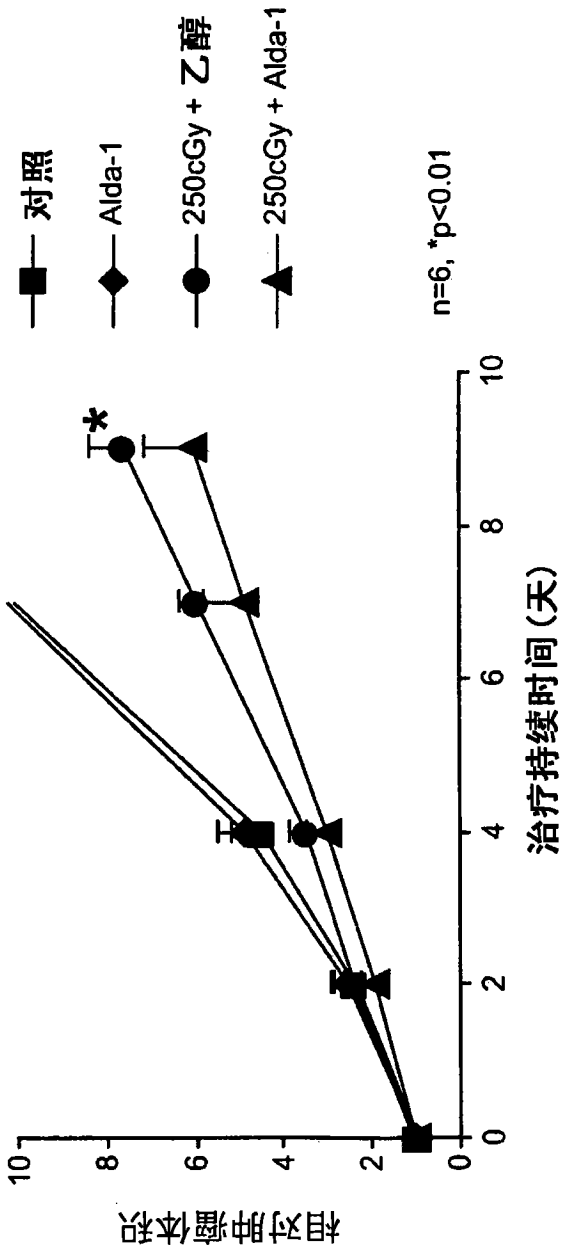

对照
Alda-1
250cGy + 乙醇
250cGy + Alda-1
n=6, *p<0.01
*
相对肿瘤体积
治疗持续时间(天)
0
2
4
6
8
10

图 21

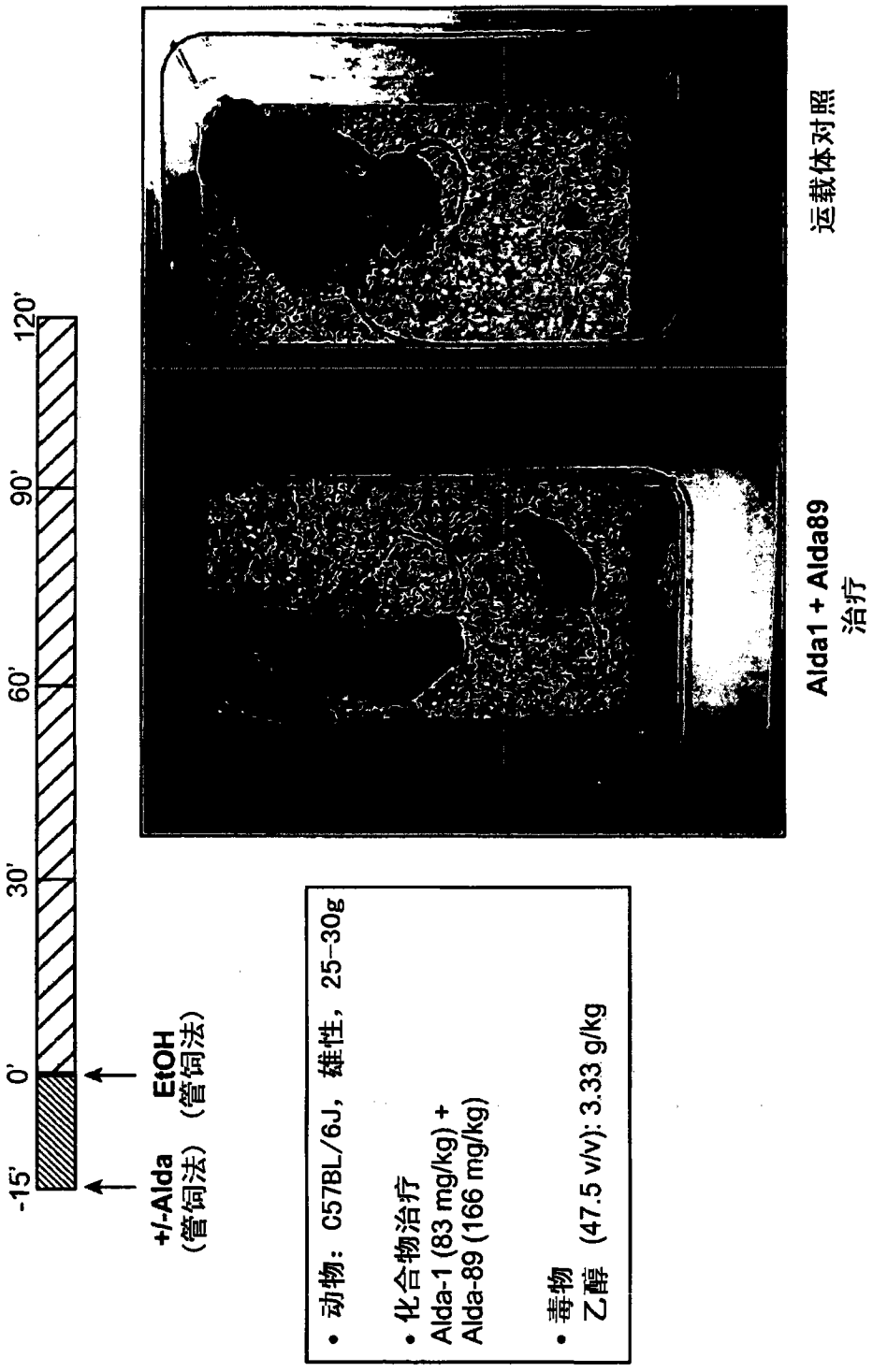

-15'
0'
30'
60'
90'
120'
+/-Alda (管饲法)
EtOH (管饲法)
• 动物：C57BL/6J，雄性，25–30g
• 化合物治疗
Alda-1 (83 mg/kg) +
Alda-89 (166 mg/kg)
• 毒物
乙醇 (47.5 v/v): 3.33 g/kg
Alda1 + Alda89
治疗
运载体对照

图 22

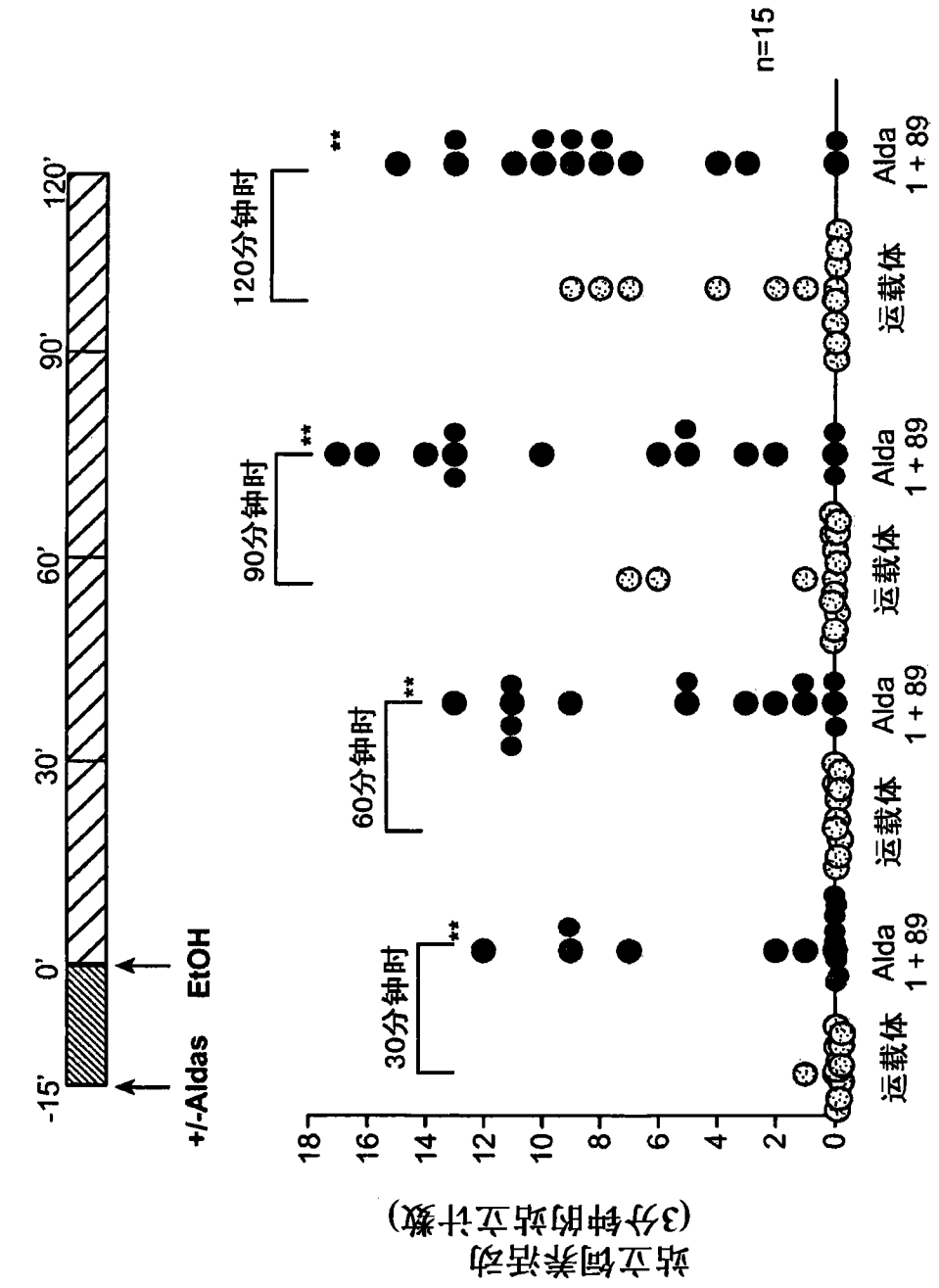

-15'
0'
30'
60'
90'
120'
+/-Aldas
EtOH
站立饲养活动
(3分钟的站立计数)
30分钟时
60分钟时
90分钟时
120分钟时
**
n=15
运载体
Alda
1 + 89

图 23

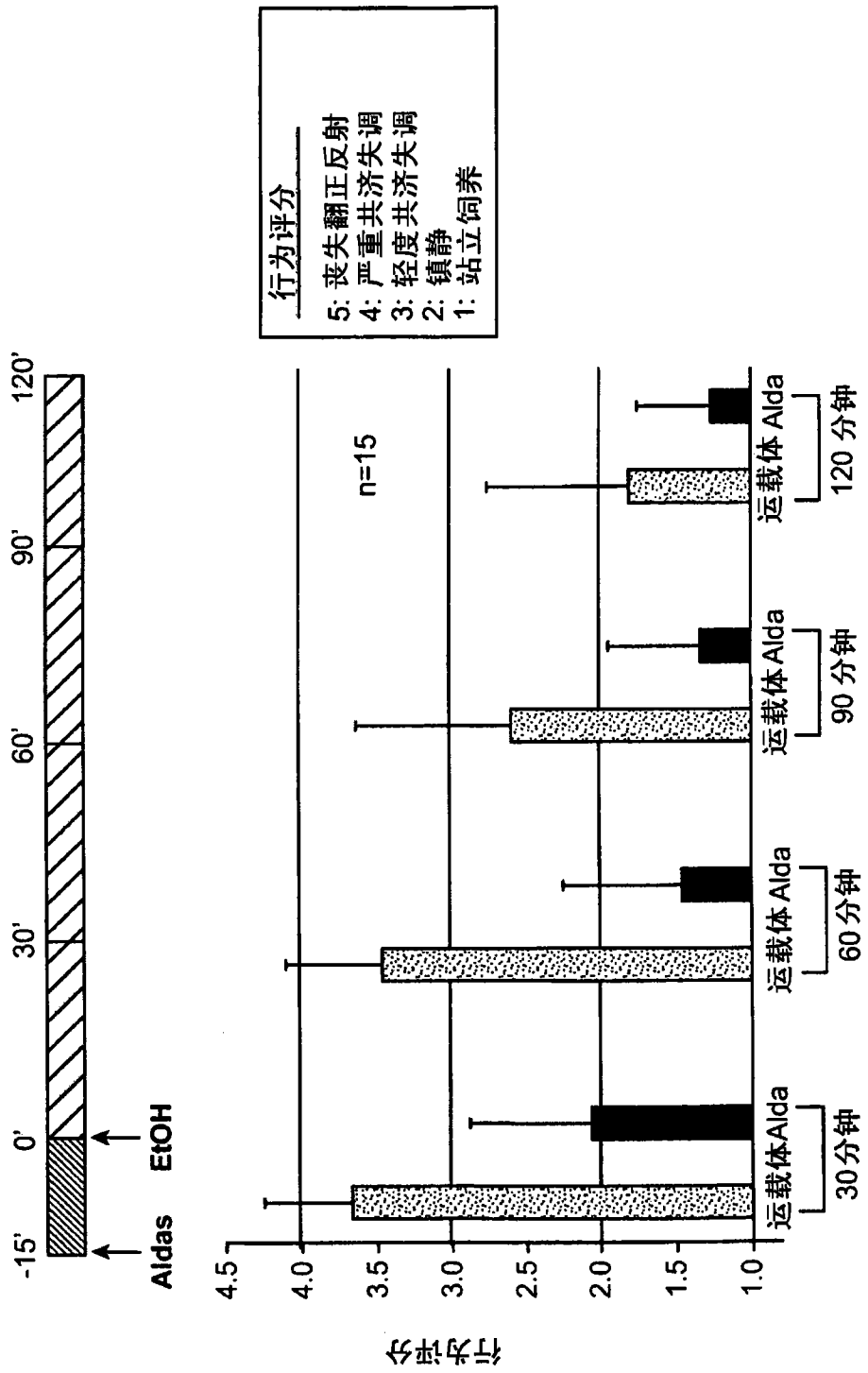

行为评分
5: 丧失翻正反射
4: 严重共济失调
3: 轻度共济失调
2: 镇静
1: 站立饲养
n=15
行为评分
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
运载体Alda
30分钟
运载体 Alda
60分钟
运载体 Alda
90 分钟
运载体 Alda
120 分钟
-15'
0'
30'
60'
90'
120'
Aldas
EtOH

图 24

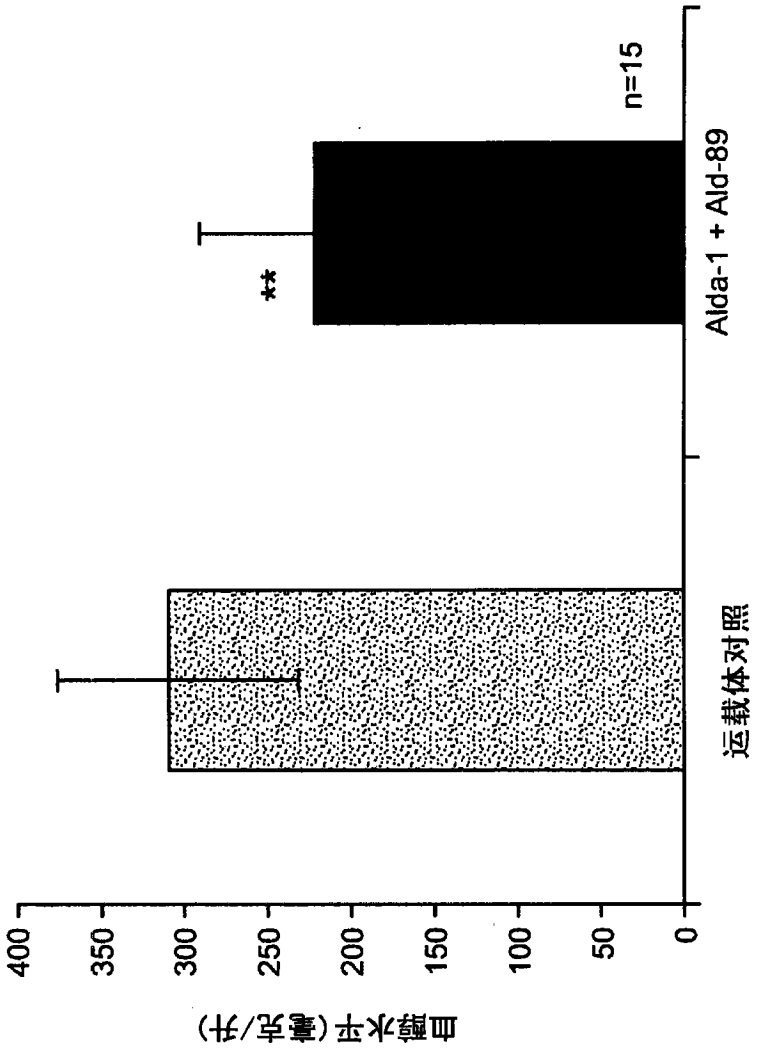


图 25