



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105012297 A

(43) 申请公布日 2015. 11. 04

(21) 申请号 201510355014. X

(22) 申请日 2015. 06. 24

(71) 申请人 安徽四正医药科技有限公司

地址 230000 安徽省合肥市高新区潜水东路
26 号合肥宏飞机械设备租赁有限公司
厂房 2 层

(72) 发明人 张勇

(74) 专利代理机构 重庆创新专利商标代理有限
公司 50125

代理人 付继德

(51) Int. Cl.

A61K 31/404(2006. 01)

A61P 17/00(2006. 01)

A61P 37/08(2006. 01)

C07D 209/12(2006. 01)

C07D 209/08(2006. 01)

权利要求书1页 说明书9页

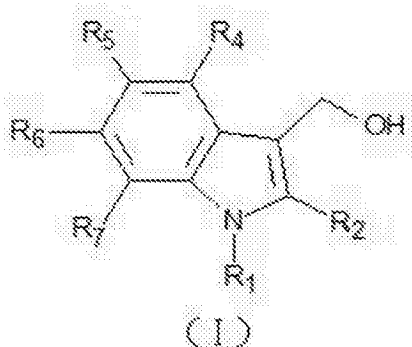
(54) 发明名称

吡啶-3- 甲醇、二吡啶甲烷及其衍生物用于
治疗接触性皮炎药物的应用

(57) 摘要

本发明提出了吡啶-3- 甲醇、二吡啶甲烷及其衍生物用于治疗接触性皮炎药物的应用, 吡啶-3- 甲醇、二吡啶甲烷及其衍生化合物通过抑制基底细胞有丝分裂, 可以用于接触性皮炎的治疗。DIM 和 I3C 及其衍生化合物可有效降低接触性皮炎的发病症状, 可以成为接触性皮炎的候选药物分子。同时, 本发明所使用的小分子药物易于获取, 价格低廉, 性质稳定, 便于保存和运输, 具有广阔的应用前景。

1. 具有下述结构式 (I) 的用于吡啶 -3- 甲醇在治疗接触性皮炎药物的应用,



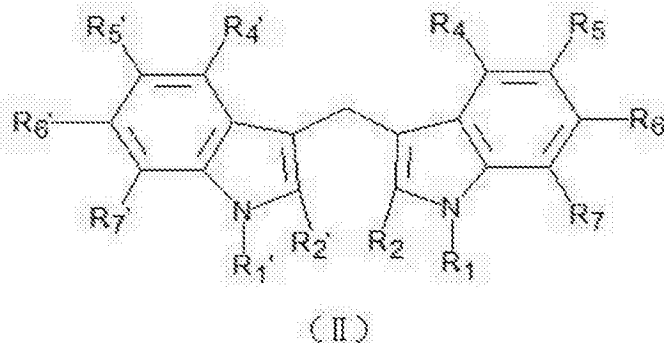
其中, R1 为氢或 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基 ; R2 为氢或 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基 ; R5 为氢或卤素取代基或硝基 ; R4、R6、R7 均为氢。

2. 根据权利要求 1 所述的吡啶 -3- 甲醇在治疗接触性皮炎药物的应用, 其特征在于 : 所述结构式 (I) 中, R5 为卤素取代基或硝基, R1、R2、R4、R6、R7 均为氢。

3. 根据权利要求 1 所述的吡啶 -3- 甲醇在治疗接触性皮炎药物的应用, 其特征在于 : 所述结构式 (I) 中, R1 为 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基, R2、R4、R5、R6、R7 均为氢。

4. 根据权利要求 1 所述的吡啶 -3- 甲醇在治疗接触性皮炎药物的应用, 其特征在于 : 所述结构式 (I) 中, R2 为 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基, R1、R4、R5、R6、R7 均为氢。

5. 具有下述结构式 (II) 的二吡啶甲烷在治疗接触性皮炎药物的应用,



其中, R1 和 R1' 为氢或 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基 ; R2 和 R2' 为氢或 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基 ; R5 和 R5' 为氢或卤素取代基或硝基 ; R4、R6、R7、R4'、R6'、R7' 均为氢。

6. 根据权利要求 5 所述的二吡啶甲烷在治疗接触性皮炎药物的应用, 其特征在于 : 所述结构式 (II) 中, R5 和 R5' 同时为卤素取代基或硝基, R1、R2、R4、R6、R7、R1'、R2'、R4'、R6'、R7' 均为氢。

7. 根据权利要求 5 所述的二吡啶甲烷在治疗接触性皮炎药物的应用, 其特征在于 : 所述结构式 (II) 中, R1 和 R1' 同时为 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基, R2、R4、R5、R6、R7、R2'、R4'、R5'、R6'、R7' 均为氢。

8. 根据权利要求 5 所述的二吡啶甲烷在治疗接触性皮炎药物的应用, 其特征在于 : 所述结构式 (II) 中, R2 和 R2' 同时为 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基, R1、R4、R5、R6、R7、R1'、R4'、R5'、R6'、R7' 均为氢。

吡啶-3-甲醇、二吡啶甲烷及其衍生物用于治疗接触性皮炎药物的应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药技术领域,更具体地说涉及吡啶-3-甲醇、二吡啶甲烷及其衍生物用于治疗接触性皮炎药物的应用。

背景技术

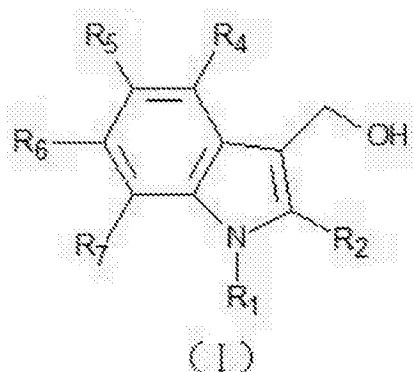
[0002] 接触性皮炎指凡是因为接触到物质而引起皮肤产生发炎过敏的现象,都可以称之为接触性皮肤炎,常见的有贴中药引起的皮肤炎、金属过敏、化妆品皮肤炎等等。在发病机制中,不同的T细胞亚群及分泌的细胞因子起着很重要的作用,具体表现在分泌的I型细胞因子增多,T细胞向着Th1型分化偏移。其中I型细胞因子 $IFN-\gamma$ 可调节抗原的呈递和淋巴细胞的增殖和分化,增强抗原提呈细胞的抗原呈递效率,是最有效的举火巨噬细胞的因子,调节多种免疫活性介质的合成和分泌。而II型细胞因子IL-4可抑制变应性接触性皮炎的发病,系统性应用IL-4后,可对局部皮肤起到长时间的炎症保护作用。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种能够有效治疗接触性皮炎动物模型的发病症状,可作为治疗接触性皮炎的候选药物分子即吡啶-3-甲醇、二吡啶甲烷及其衍生物在治疗接触性皮炎药物的应用。

[0004] 本发明的具有结构式(I)的吡啶-3-甲醇及其衍生物在制备治疗接触性皮炎药物中的应用,结构式(I)中, R_1 、 R_2 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 各自为H或卤素取代基或硝基或C1-C10烷基或C1-C10烷氧基。

[0005]



[0006] 优选的,所述结构式(I)中,当 R_1 、 R_2 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 均为氢时,该结构式所示的化合物即为吡啶-3-甲醇;

[0007] 当 R_5 为卤素取代基或硝基或C1-C10烷基或C1-C10烷氧基, R_1 、 R_2 、 R_4 、 R_6 、 R_7 均为氢,此时,该结构式(I)所示的化合物包括:5-氯-吡啶-3-甲醇,5-溴-吡啶-3-甲醇、5-氟-吡啶-3-甲醇;5-硝基-吡啶-3-甲醇;5-甲基-吡啶-3-甲醇,5-乙基-吡啶-3-甲醇,5-丙基-吡啶-3-甲醇,5-丁基-吡啶-3-甲醇,5-戊基-吡啶-3-甲醇、

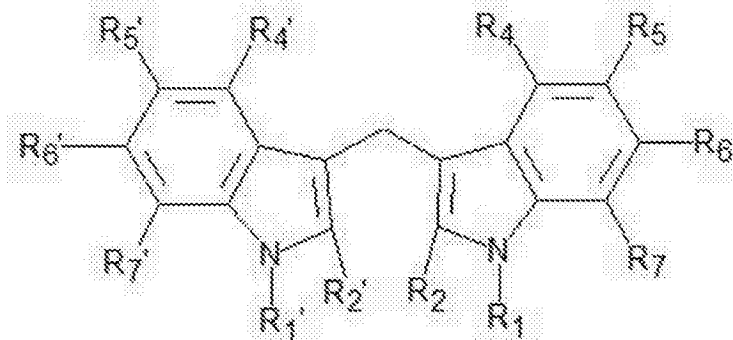
5-甲氧基-吡啶-3-甲醇、5-乙氧基-吡啶-3-甲醇、5-丙氧基-吡啶-3-甲醇、5-丁氧基-吡啶-3-甲醇、5-戊氧基-吡啶-3-甲醇等；

[0008] 当 R1 为 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基, R2、R4、R5、R6、R7 均为氢, 此时, 该结构式 (I) 所示的化合物包括: N-甲基-吡啶-3-甲醇、N-乙基-吡啶-3-甲醇、N-丙基-吡啶-3-甲醇、N-丁基-吡啶-3-甲醇、N-戊基-吡啶-3-甲醇、N-甲氧基-吡啶-3-甲醇、N-乙氧基-吡啶-3-甲醇、N-丙氧基-吡啶-3-甲醇、N-丁氧基-吡啶-3-甲醇、N-戊氧基-吡啶-3-甲醇等；

[0009] 当 R2 为 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基, R1、R4、R5、R6、R7 均为氢, 此时, 该结构式 (I) 所示的化合物包括: 2-甲基-吡啶-3-甲醇、2-乙基-吡啶-3-甲醇、2-丙基-吡啶-3-甲醇、2-丁基-吡啶-3-甲醇、2-戊基-吡啶-3-甲醇、2-甲氧基-吡啶-3-甲醇、2-乙氧基-吡啶-3-甲醇、2-丙氧基-吡啶-3-甲醇、2-丁氧基-吡啶-3-甲醇、2-戊氧基-吡啶-3-甲醇等；

[0010] 本发明的具有结构式 (II) 的二吡啶甲烷及其衍生物在制备治疗接触性皮炎药物中的应用,

[0011]



(II)

[0012] 其中, R1、R2、R4、R5、R6、R7、R1'、R2'、R4'、R5'、R6'、R7' 各自为氢或卤素取代基或硝基或 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基。

[0013] 优选的, 所述结构式 (II) 中, 当 R1、R2、R4、R5、R6、R7、R1'、R2'、R4'、R5'、R6'、R7' 均为氢时, 此时该结构式所示的化合物即为二吡啶甲烷；

[0014] 当 R5 和 R5' 同时为卤素取代基或硝基或 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基, R1、R2、R4、R6、R7、R1'、R2'、R4'、R6'、R7' 均为氢, 此时, 结构式 (II) 所示化合物包括: 5,5'-二氯-二吡啶甲烷、5,5'-二溴-二吡啶甲烷或 5,5'-二氟-二吡啶甲烷; 5,5'-二硝基-二吡啶甲烷; 5,5'-二甲基-二吡啶甲烷、5,5'-二乙基-二吡啶甲烷、5,5'-二丙基-二吡啶甲烷、5,5'-二丁基-二吡啶甲烷、5,5'-二戊基-二吡啶甲烷、5,5'-二甲氧基-二吡啶甲烷、5,5'-二乙氧基-二吡啶甲烷、5,5'-二丙氧基-二吡啶甲烷、5,5'-二丁氧基-二吡啶甲烷或 5,5'-二戊氧基-二吡啶甲烷等。

[0015] 当 R1 和 R1' 同时为 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基, R2、R4、R5、R6、R7、R2'、R4'、R5'、R6'、R7' 均为氢, 此时, 结构式 (II) 所示化合物包括: N,N'-二甲基-二吡啶甲烷、N,N'-二乙基-二吡啶甲烷、N,N'-二丙基-二吡啶甲烷、N,N'-二丁基-二吡啶甲烷、N,N'-二戊基-二吡啶甲烷、N,N'-二甲氧基-二吡啶甲烷、N,N'-二乙氧基-二吡啶甲烷、

N,N'-二丙氧基-二吡啶甲烷、N,N'-二丁氧基-二吡啶甲烷或 N,N'-二戊氧基-二吡啶甲烷等。

[0016] 当 R2 和 R2' 同时为 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基, R1、R4、R5、R6、R7、R1'、R4'、R5'、R6'、R7' 均为氢, 此时, 结构式 (II) 所示化合物包括: 2,2'-二甲基-二吡啶甲烷、2,2'-二乙基-二吡啶甲烷、2,2'-二丙基-二吡啶甲烷、2,2'-二丁基-二吡啶甲烷、2,2'-二戊基-二吡啶甲烷、2,2'-二甲氧基-二吡啶甲烷、2,2'-二乙氧基-二吡啶甲烷、2,2'-二丙氧基-二吡啶甲烷、2,2'-二丁氧基-二吡啶甲烷或 2,2'-二戊氧基-二吡啶甲烷等。

[0017] 本发明的吡啶-3-甲醇、二吡啶甲烷及其衍生物在治疗接触性皮炎药物的应用, 单一的化合物吡啶-3-甲醇或二吡啶甲烷或其衍生物的一种的使用能够治疗接触性皮炎, 那么显然, 上述化合物的各种形式的混配亦能够达到一定的治疗效果。

[0018] 使用商业上可得的吡啶取代物来合成 I3C 的取代衍生物可能是获得这些化合物最便捷的方法。DIM 的衍生物同样可以通过甲醛缩合吡啶取代物的方法制备。然而, 后者的劣势在于副产物的形成使得分离纯化所需要的 DIM 衍生物更为复杂。

[0019] 本发明所提供的化合物是通过使用二甲基甲酰胺缩合吡啶取代物来合成制备取代的吡啶-3-乙醛, 被取代的吡啶-3-乙醛产物通过使用甲醇以及硼氢化钠处理还原其醛基从而得到 I3C 的取代衍生物。吡啶-3-甲醇 (I3C) 在体内胃酸环境中很不稳定, 可发生缩合反应形成低聚物 3,3'-二吡啶甲烷。本发明的二吡啶甲烷 (DIM) 的取代衍生物是通过缩合吡啶-3-甲醇 (I3C) 的取代产物加以合成, 这可以通过采取例如 PH 值 5.5 左右的磷酸盐缓冲液处理等方法实现 (I3C 及 DIM 的衍生物制备参考美国专利 US 5948808)。

[0020] 采用本发明的吡啶-3-甲醇 (I3C)、二吡啶甲烷 (DIM) 及其衍生物, 与多种药理学上可以接受的载体相结合, 通过如口腔、静脉、鼻腔、直肠或其他任何可以输送有效剂量的活性物质的给药方式, 可以制备成各种液体制剂如注射剂、口服液制剂等, 也可以制备成各种有效且易于给药的固体制剂如胶囊剂、栓剂等。其中, 用于注射或口服用的液体制剂, 其所需的载体可以为无菌水、无菌盐水或者水溶性有机载体如环糊精、玉米油、橄榄油、油酸乙酯、二醇类等医学上可接受的载体; 固体给药制剂在制备中可加入固体制剂常用的辅料如赋形剂葡萄糖、乳糖、纤维素等, 还可加入润滑剂聚乙二醇、硬脂酸镁等, 以及粘结剂、矫味剂等固体制剂所需的辅料成分, 再通过混合、制粒等工序成型。上述这些制剂中的活性物质的有效量是能使接触性皮炎症状明显降低的量, 具有常规技术的研究人员将能够确定本发明所提供的试剂的最有效的给药剂量和时间考虑给药方式, 药物代谢, 以及其他一些药代动力学参数例如药物分布, 清除率等。

[0021] 本发明通过接触性皮炎模型进行例证。此处的动物包括但不限于: 小鼠, 大鼠, 驯养动物包括但不限于猫, 狗, 以及其它一些动物例如但不限于牛, 羊, 猪, 马, 灵长类动物例如但不限于猴子和人。

[0022] 本发明提出了吡啶-3-甲醇、二吡啶甲烷及其衍生物在治疗接触性皮炎药物的应用。

[0023] 在动物试验中发现, DIM 和 I3C 及其衍生化合物可有效降低接触性皮炎动物模型的发病症状, 可以成为治疗接触性皮炎的候选药物分子, 可以显著抑制炎症的变态反应而对 T 细胞分化的调节, 尤其是对 Th1 细胞的调节, 进而达到治疗接触性皮炎的目的。同时,

本发明所使用的小分子药物易于获取,价格低廉,性质稳定,便于保存和运输,具有广阔的应用前景。

具体实施方式

[0024] 下面将结合本发明实施例对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0025] 【化合物制备】

[0026] 实施例 1

[0027] (5-氯吡啶-3-甲醇及 5,5'-二氯二吡啶甲烷的制备)

[0028] 将 0.86ml 磷酰氯缓慢加入到 2.9ml 预先冷却至 0℃ 的二甲基甲酰胺中。将 8.6mmol 5-氯吡啶(购于南京锐马精细化工有限公司)溶解于 1.0ml 的二甲基甲酰胺中,然后缓慢加入前述预冷的磷酰氯溶液中,所形成的悬浮液在 37℃ 加热 60 分钟,直至澄清的黄色溶液变成淡黄色的糊状物质。然后向此糊状物质中加入 1ml 的冰水,再缓慢加入 10ml 含有 3.75 克 KOH 的水溶液。将此混合物加热至煮沸后冷却,过滤,水洗,空气中干燥即可获得 5-氯吡啶-3-乙醛。

[0029] 将 1.0 克 5-氯吡啶-3-乙醛溶于 5.0ml 甲醇,持续加入固体硼氢化钠,直至过量。然后向反应物中加入 50ml 水,冷却至 0℃,过滤,避光真空干燥获得 5-氯吡啶-3-甲醇,得率约 90%。

[0030] 将 1.0 克 5-氯吡啶-3-甲醇加入到 pH 为 5.5 的磷酸缓冲液中,室温搅拌 6 小时,反应过程通过薄层层析(TLC)加以监测。反应产物过滤,避光真空干燥即获得 5,5'-二氯二吡啶甲烷,得率约 85%。

[0031] 实施例 2

[0032] (5-硝基吡啶-3-甲醇及 5,5'-二硝基二吡啶甲烷的制备)

[0033] 5-硝基吡啶可以通过商业购买获得(南京锐马精细化工有限公司)。将 0.92ml 磷酰氯缓慢加入到 2.9ml 预先冷却至 0℃ 的二甲基甲酰胺中。将 8.2mmol 5-硝基吡啶溶解于 1.0ml 的二甲基甲酰胺中,然后缓慢加入前述预冷的磷酰氯溶液中,所形成的悬浮液在 42℃ 加热 90 分钟,直至澄清的黄色溶液变成淡黄色的糊状物质。然后向此糊状物质中加入 1ml 的冰水,再缓慢加入 10ml 含有 3.75 克 KOH 的水溶液。将此混合物加热至煮沸后冷却,过滤,水洗,空气中干燥即可获得 5-硝基吡啶-3-乙醛。

[0034] 将 1.0 克 5-硝基吡啶-3-乙醛溶于 5.0ml 甲醇,持续加入固体硼氢化钠,直至过量。然后向反应物中加入 50ml 水,冷却至 0℃,过滤,避光真空干燥获得 5-硝基吡啶-3-甲醇,得率约 87%。

[0035] 将 1.0 克 5-硝基吡啶-3-甲醇加入到 pH 为 5.5 的磷酸缓冲液中,室温搅拌 6 小时,反应过程通过薄层层析(TLC)加以监测。反应产物过滤,避光真空干燥即获得 5,5'-二硝基二吡啶甲烷,得率约 80%。

[0036] 实施例 3

[0037] (5-戊基吡啶-3-甲醇及 5,5'-二戊基-二吡啶甲烷的制备)

[0038] 5-戊基吡啶可以通过商业购买获得(南京锐马精细化工有限公司)。将 0.82ml 磷酰氯缓慢加入到 2.9ml 预先冷却至 0℃的二甲基甲酰胺中。将 9.2mmol 5-戊基吡啶溶解于 1.0ml 的二甲基甲酰胺中,然后缓慢加入前述预冷的磷酰氯溶液中,所形成的悬浮液在 37℃加热 40-60 分钟,直至澄清的黄色溶液变成淡黄色的糊状物质。然后向此糊状物质中加入 1ml 的冰水,再缓慢加入 10ml 含有 3.75 克 KOH 的水溶液。将此混合物加热至煮沸后冷却,过滤,水洗,空气中干燥即可获得 5-戊基吡啶-3-乙醛。

[0039] 将 1.0 克 5-戊基吡啶-3-乙醛溶于 5.0ml 甲醇,持续加入固体硼氢化钠,直至过量。然后向反应物中加入 50ml 水,冷却至 0℃,过滤,避光真空干燥获得 5-戊基吡啶-3-甲醇,得率约 85%。

[0040] 将 1.0 克 5-戊基吡啶-3-甲醇加入到 pH 为 5.5 的磷酸缓冲液中,室温搅拌 10 小时,反应过程通过薄层层析(TLC)加以监测。反应产物过滤,避光真空干燥即获得 5,5'-二戊基双吡啶甲烷,得率约 70%。

[0041] 实施例 4

[0042] (N-甲氧基吡啶-3-甲醇及 N,N'-二甲氧基-二吡啶甲烷的制备)

[0043] N-甲氧基吡啶可以通过商业购买获得(南京锐马精细化工有限公司)。将 0.86ml 磷酰氯缓慢加入到 2.9ml 预先冷却至 0℃的二甲基甲酰胺中。将 8.9mmol N-甲氧基吡啶溶解于 1.0ml 的二甲基甲酰胺中,然后缓慢加入前述预冷的磷酰氯溶液中,所形成的悬浮液在 40℃加热 60-90 分钟,直至澄清的黄色溶液变成淡黄色的糊状物质。然后向此糊状物质中加入 1ml 的冰水,再缓慢加入 10ml 含有 3.75 克 KOH 的水溶液。将此混合物加热至煮沸后冷却,过滤,水洗,空气中干燥即可获得 N-甲氧基吡啶-3-乙醛。

[0044] 将 1.0 克 N-甲氧基吡啶-3-乙醛溶于 5.0ml 甲醇,持续加入固体硼氢化钠,直至过量。然后向反应物中加入 50ml 水,冷却至 0℃,过滤,避光真空干燥获得 N-甲氧基吡啶-3-甲醇,得率约 80%。

[0045] 将 1.0 克 N-甲氧基吡啶-3-甲醇加入到 pH 为 5.5 的磷酸缓冲液中,室温搅拌 12 小时,反应过程通过薄层层析(TLC)加以监测。反应产物过滤,避光真空干燥即获得 N,N'-二甲氧基双吡啶甲烷,得率约 70%。

[0046] 实施例 5

[0047] (1-丁基-2-甲基吡啶-3-甲醇及 1,1'-二丁基-2,2'-二甲基二吡啶甲烷的制备)

[0048] 1-丁基-2-甲基吡啶可以通过商业购买获得(南京锐马精细化工有限公司)。将 0.82ml 磷酰氯缓慢加入到 2.9ml 预先冷却至 0℃的二甲基甲酰胺中。将 8.2mmol 1-丁基-2-甲基吡啶溶解于 1.0ml 的二甲基甲酰胺中,然后缓慢加入前述预冷的磷酰氯溶液中,所形成的悬浮液在 42℃加热 90 分钟,直至澄清的黄色溶液变成淡黄色的糊状物质。然后向此糊状物质中加入 1ml 的冰水,再缓慢加入 10ml 含有 3.8 克 KOH 的水溶液。将此混合物加热至煮沸后冷却,过滤,水洗,空气中干燥即可获得 1-丁基-2-甲基吡啶-3-乙醛。

[0049] 将 1.0 克 1-丁基-2-甲基吡啶-3-乙醛溶于 5.0ml 甲醇,持续加入固体硼氢化钠,直至过量。然后向反应物中加入 50ml 水,冷却至 0℃,过滤,避光真空干燥获得 1-丁基-2-甲基吡啶-3-甲醇,得率约 85%。

[0050] 将 1.0 克 1-丁基-2-甲基吡啶-3-甲醇加入到 pH 为 5.5 的磷酸缓冲液中,室温

搅拌 6 小时,反应过程通过薄层层析 (TLC) 加以监测。反应产物过滤,避光真空干燥即获得 1,1'-二丁基-2,2'-二甲基双吡啶甲烷,得率约 80%。

[0051] 实施例 6

[0052] (4-溴吡啶-3-甲醇及 4,4'-二溴二吡啶甲烷的制备)

[0053] 将 0.86ml 磷酰氯缓慢加入到 2.9ml 预先冷却至 0℃ 的二甲基甲酰胺中。将 8.6mmol 4-溴吡啶(购于南京锐马精细化工有限公司)溶解于 1.0ml 的二甲基甲酰胺中,然后缓慢加入前述预冷的磷酰氯溶液中,所形成的悬浮液在 37℃ 加热 60 分钟,直至澄清的黄色溶液变成淡黄色的糊状物质。然后向此糊状物质中加入 1ml 的冰水,再缓慢加入 10ml 含有 3.75 克 KOH 的水溶液。将此混合物加热至煮沸后冷却,过滤,水洗,空气中干燥即可获得 4-溴吡啶-3-乙醛。

[0054] 将 1.0 克 4-溴吡啶-3-乙醛溶于 5.0ml 甲醇,持续加入固体硼氢化钠,直至过量。然后向反应物中加入 50ml 水,冷却至 0℃,过滤,避光真空干燥获得 4-溴吡啶-3-甲醇,得率约 90%。

[0055] 将 1.0 克 4-溴吡啶-3-甲醇加入到 pH 为 5.5 的磷酸缓冲液中,室温搅拌 6 小时,反应过程通过薄层层析 (TLC) 加以监测。反应产物过滤,避光真空干燥即获得 4,4'-二溴二吡啶甲烷,得率约 85%。

[0056] 【动物实验】

[0057] 材料

[0058] 分别将 I3C、DIM、5-氯-吡啶-3-甲醇 (5-Cl-I3C)、5,5'-二氯-二吡啶甲烷 (5,5'-Cl-DIM)、5-戊基-吡啶-3-甲醇 (5-C5-I3C)、5,5'-二戊基-二吡啶甲烷 (5,5'-C5-DIM)、5-甲氧基-吡啶-3-甲醇 (5-MOE-I3C)、5,5'-二甲氧基-二吡啶甲烷 (5,5'-MOE-DIM)、5-硝基-吡啶-3-甲醇 (5-NO-I3C)、5,5'-二硝基-二吡啶甲烷 (5,5'-NO-DIM)、N-甲基-吡啶-3-甲醇 (N-Me-I3C)、N,N'-二甲基-二吡啶甲烷 (N,N'-Me-DIM)、N-甲氧基-吡啶-3-甲醇 (N-MOE-I3C)、N,N'-二甲氧基-二吡啶甲烷 (N,N'-MOE-DIM)、2-戊基-吡啶-3-甲醇 (2-C5-I3C)、2,2'-二戊基-二吡啶甲烷 (2,2'-C5-DIM)、2-甲氧基-吡啶-3-甲醇 (2-MOE-I3C)、2,2'-二甲氧基-二吡啶甲烷 (2,2'-MOE-DIM)、1-丁基-2-甲基-吡啶-3-甲醇 (1Bu-2Me-I3C)、1,1'-二丁基-2,2'-二甲基-二吡啶甲烷 (1,1' Bu-2,2' Me-DIM)、4-溴-吡啶-3-甲醇 (4-Br-I3C) 及 4,4'-二溴-二吡啶甲烷 (4,4'-Br-DIM) 用玉米油溶解配成 2.0mg/ml 口服储液备用。

[0059] 实验方法

[0060] 将 BALB/c SPF 级雄性小鼠,10~12 周龄体重 20~23g,小鼠 230 只,分成 23 组每组 10 只,随机分为模型对照组及分别用 I3C、DIM、5-氯-吡啶-3-甲醇 (5-Cl-I3C)、5,5'-二氯-二吡啶甲烷 (5,5'-Cl-DIM)、5-戊基-吡啶-3-甲醇 (5-C5-I3C)、5,5'-二戊基-二吡啶甲烷 (5,5'-C5-DIM)、5-甲氧基-吡啶-3-甲醇 (5-MOE-I3C)、5,5'-二甲氧基-二吡啶甲烷 (5,5'-MOE-DIM)、5-硝基-吡啶-3-甲醇 (5-NO-I3C)、5,5'-二硝基-二吡啶甲烷 (5,5'-NO-DIM)、N-甲基-吡啶-3-甲醇 (N-Me-I3C)、N,N'-二甲基-二吡啶甲烷 (N,N'-Me-DIM)、N-甲氧基-吡啶-3-甲醇 (N-MOE-I3C)、N,N'-二甲氧基-二吡啶甲烷 (N,N'-MOE-DIM)、2-戊基-吡啶-3-甲醇 (2-C5-I3C)、2,2'-二戊基-二吡啶甲烷 (2,2'-C5-DIM)、2-甲氧基-吡啶-3-甲醇 (2-MOE-I3C)、2,2'-二甲氧基-二吡啶甲烷

(2, 2'-MOE-DIM)、1-丁基-2-甲基-吡啶-3-甲醇 (1Bu-2Me-I3C)、1, 1'-二丁基-2, 2'-二甲基-二吡啶甲烷 (1, 1' Bu-2, 2' Me-DIM)、4-溴-吡啶-3-甲醇 (4-Br-I3C) 及 4, 4'-二溴-二吡啶甲烷 (4, 4' -Br-DIM) 治疗的治疗组。

[0061] 小鼠用于实验前 1 天于腹部去毛, 面积约 3cm², 实验当天及次日于去毛部位涂布 0.5% DNFB (DNFB 以 4:1 丙酮橄榄油为基质配置) 25 μl 各致敏一次, 致敏后第 5 天于小鼠左耳背部涂 0.5% DNFB 20 μl 诱发皮炎, 右耳涂等量丙酮橄榄油基质作对照。

[0062] 给药方法为: 除模型对照组灌服等量生理盐水外, 其余各组分别分别于实验第 0、1、2、5 天诱发前 2h 及诱发后 6h 灌服对应的口服储液 20mg/kg. d。

[0063] 检测方法

[0064] 方法 1: 诱发前后在乙醚麻醉下用外径千分尺测量小鼠耳中部的厚度, 以直径 0.8mm 的打孔器取耳中部的组织块, 分析天平称重, 计算左右耳块的质量, 计算小鼠左右耳诱发前后的厚度及重量差平均值, 结果见表 1:

[0065]

组别	左耳诱发前后 厚度差 (mm)	诱发后左右耳 厚度差 (mm)	诱发后左右耳重量 差 (mg)
模型对照组	0.237	0.172	9.892
I3C	0.111	0.106	3.747
DIM	0.094	0.096	2.848
5-C1-I3C	0.125	0.124	4.336
5, 5'-C1-DIM	0.116	0.116	3.624
5-C5-I3C	0.105	0.121	3.532
5, 5'-C5-DIM	0.113	0.104	3.083
5-MOE-I3C	0.117	0.113	3.443
5, 5'-MOE-DIM	0.138	0.130	4.124
5-NO-I3C	0.125	0.123	3.687
5, 5'-NO-DIM	0.132	0.120	3.113
N-Me-I3C	0.114	0.104	3.383
N, N'-Me-DIM	0.101	0.103	3.134
N-MOE-I3C	0.099	0.111	3.276
N, N'-MOE-DIM	0.122	0.115	3.556
2-C5-I3C	0.133	0.121	3.843
2, 2'-C5-DIM	0.146	0.131	4.125
2-MOE-I3C	0.136	0.121	3.278
2, 2'-MOE-DIM	0.124	0.121	3.532
1Bu-2Me-I3C	0.132	0.120	3.134
1, 1' Bu-2, 2' Me-DIM	0.113	0.130	3.626
4-Br-I3C	0.101	0.111	3.667
4, 4'-Br-DIM	0.104	0.121	3.442

[0066] 实验结果表明:治疗组小鼠耳部炎症肿胀程度较模型组相比明显减小且 $P < 0.05$, 包括耳朵的重量和厚度,因此病情有明显的减缓症状的症状,说明吲哚-3-甲醇、二吲哚甲烷及其衍生物对减缓并治疗皮炎症状有一定的疗效。

[0067] 方法2:测量结束后将小鼠摘眼球取血,室温下防止 2h,2000r/min 离心分离血清,-20℃冻存,最后用置酶标仪 450nm 波长处测隔空吸光度值,用 IFN- γ 及 IL-4 标准品浓度及对用的 OD 值(复孔均值)建立回归方程,绘制标准曲线,并依此求得各小鼠血清中的 IFN- γ 及 IL-4 的含量平均值,详见下表 2。

[0068] 表 2

[0069]

组别	IFN- γ (pg/ml)	IL-4 (pg/ml)
模型对照组	212.63	24.66
I3C	121.89	17.56
DIM	109.06	16.04
5-C1-I3C	113.14	16.84
5,5'-C1-DIM	114.24	16.79
5-C5-I3C	117.70	17.24
5,5'-C5-DIM	115.63	17.12
5-MOE-I3C	115.01	16.97
5,5'-MOE-DIM	114.90	17.01
5-NO-I3C	116.41	16.98
5,5'-NO-DIM	115.68	16.84
N-Me-I3C	109.87	16.45
N,N'-Me-DIM	109.97	16.89
N-MOE-I3C	109.92	16.78
N,N'-MOE-DIM	111.45	17.02
2-C5-I3C	119.4	17.32
2,2'-C5-DIM	117.35	17.11

2-MOE-I3C	116.44	17.22
2, 2' -MOE-DIM	118.76	17.39
1Bu-2Me-I3C	112.23	16.79
1, 1' Bu-2, 2' Me-DIM	114.34	16.54
4-Br-I3C	115.76	16.55
4, 4' -Br-DIM	116.34	16.98

[0070] 从实验数据可以看出,与模型对照组相比各治疗组 IFN- γ 明显降低 ($P < 0.05$), 而 IL-4 表达也降低 ($P < 0.05$)。

[0071] 本实验中吡啶-3-甲醇、二吡啶甲烷及其衍生物对于小鼠的应变性接触性皮炎有良好的疗效,不但明显减轻了小鼠耳部的肿胀程度及局部组织液的渗出,显示了良好的抗 IV 型变态反应活性。而本实施例中吡啶-3-甲醇、二吡啶甲烷及其衍生物可以有效的下调小鼠的 IFN- γ , 同时对 II 型细胞因子 IL-4 亦有下调作用,说明该化合物可以促进 T 细胞向 Th2 型分化,达到治疗应变性接触性皮炎的作用。