



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102335168 A

(43) 申请公布日 2012. 02. 01

(21) 申请号 201110326731. 1

(22) 申请日 2011. 10. 25

(71) 申请人 合肥博太医药生物技术发展有限公
司

地址 230088 安徽省合肥市高新区潜水东路
26 号

(72) 发明人 董磊

(74) 专利代理机构 合肥天明专利事务所 34115
代理人 金凯

(51) Int. Cl.

A61K 31/404 (2006. 01)

A61P 19/10 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 8 页

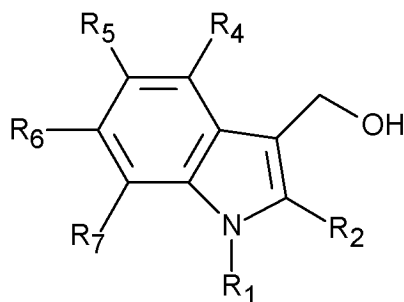
(54) 发明名称

吲哚-3-甲醇、二吲哚甲烷及其衍生物在制备治疗骨质疏松药物中的应用

(57) 摘要

本发明提出了吲哚-3-甲醇、二吲哚甲烷及其衍生物在制备治疗骨质疏松药物中的新应用。吲哚-3-甲醇(I3C)、二吲哚甲烷(DIM)及其衍生物通过药物可抑制破骨细胞的生成和功能,在原理上可以用于骨质疏松的预防和治疗。DIM和I3C及其衍生物可有效降低骨质疏松动物模型的发病症状,可以成为治疗骨质疏松的候选药物分子。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) 的吡啶-3-甲醇及其衍生物在制备治疗骨质疏松药物中的应用,



(I)

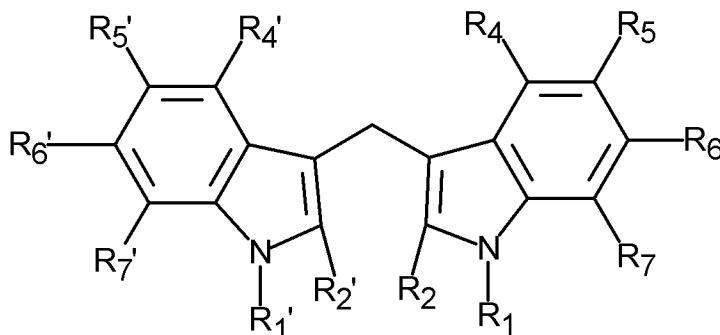
其中, R1、R2、R4、R5、R6、R7 各自为 H 或卤素取代基或硝基或 C1-C10 烷基或 C1-C10 烷氧基。

2. 根据权利要求 1 所述的应用,其特征在於:所述结构式 (I) 中,R5 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 均为氢。

3. 根据权利要求 1 所述的应用,其特征在於: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 所述的应用,其特征在於: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) 的二吡啶甲烷及其衍生物在制备治疗骨质疏松药物中的应用,



(II)

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。

6. 根据权利要求 5 所述的应用,其特征在於:所述结构式 (II) 中,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。

7. 根据权利要求 5 所述的应用,其特征在於: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 所述的应用,其特征在於: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。

吲哚-3-甲醇、二吲哚甲烷及其衍生物在制备治疗骨质疏松药物中的应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药技术领域,具体涉及吲哚-3-甲醇、二吲哚甲烷及其衍生物在制备治疗骨质疏松的药物中的应用。

背景技术

[0002] 骨质疏松 (osteoporosis) 是多种原因引起的一组骨病,骨组织有正常的钙化,钙盐与基质呈正常比例,以单位体积内骨组织量减少为特点的代谢性骨病变。在多数骨质疏松中,骨组织的减少主要由于骨质吸收增多所致。骨质疏松发病率高,45 岁以上的妇女中,三分之一的人患有不同程度的骨质疏松;而 75 岁以上的妇女,90% 的人患有骨质疏松。骨质疏松导致骨折后的并发症是老年患者的重要致死因素之一。目前针对骨质疏松尚缺少针对性强,效果可靠的治疗药物。

[0003] 骨质疏松的一个直接病理因素是各种病因引起的骨吸收增多。人体内骨吸收的过程主要由破骨细胞来完成,破骨细胞的异常增多和活化,是造成骨吸收增加的主要因素。因此,通过药物抑制破骨细胞的生成和功能,在原理上可以用于骨质疏松的预防和治疗。

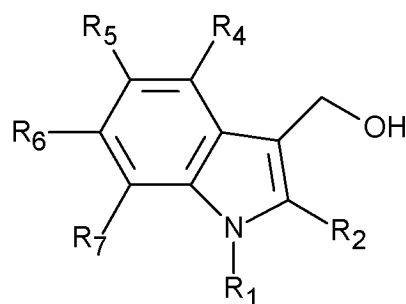
[0004] 3,3'-二吲哚甲烷 (DIM) 及其前体分子吲哚-3-甲醇 (I3C) 是发现于云苔属,十字花科类植物中的一中有明确生理活性的小分子化合物。申请人在前期研究中发现,DIM 可以通过抑制破骨细胞生成过程中的关键细胞因子和信号通路,抑制破骨细胞的生成,在原理上可以用于制备治疗原发性骨质疏松的药物。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种能够有效抑制骨质疏松动物模型的发病症状,可作为治疗原发性骨质疏松的候选药物分子即吲哚-3-甲醇、二吲哚甲烷及其衍生物在制备治疗骨质疏松的药物中的应用。

[0006] 本发明的具有结构式 (I) 的吲哚-3-甲醇及其衍生物在制备治疗骨质疏松药物中的应用,结构式 (I) 中,R₁、R₂、R₄、R₅、R₆、R₇ 各自为 H 或卤素取代基或硝基或 C₁-C₁₀ 烷基或 C₁-C₁₀ 烷氧基。

[0007]



(I)

[0008] 优选的,所述结构式(I)中,当R1、R2、R4、R5、R6、R7均为氢时,该结构式所示的化合物即为吡啶-3-甲醇;

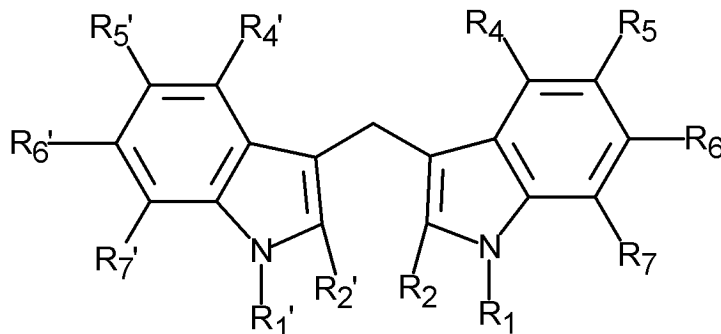
[0009] 当R5为卤素取代基或硝基或C1-C10烷基或C1-C10烷氧基,R1、R2、R4、R6、R7均为氢,此时,该结构式(I)所示的化合物包括:5-氯-吡啶-3-甲醇,5-溴-吡啶-3-甲醇、5-氟-吡啶-3-甲醇;5-硝基-吡啶-3-甲醇;5-甲基-吡啶-3-甲醇,5-乙基-吡啶-3-甲醇,5-丙基-吡啶-3-甲醇,5-丁基-吡啶-3-甲醇,5-戊基-吡啶-3-甲醇、5-甲氧基-吡啶-3-甲醇、5-乙氧基-吡啶-3-甲醇、5-丙氧基-吡啶-3-甲醇、5-丁氧基-吡啶-3-甲醇、5-戊氧基-吡啶-3-甲醇等;

[0010] 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;

[0011] 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;

[0012] 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骨质疏松药物中的应用,

[0013]



(II)

[0014] 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。

[0015] 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;

[0016] 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。

[0017] 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。

[0018] 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。

[0019] 本发明的吡啶-3-甲醇、二吡啶甲烷及其衍生物在制备治疗骨质疏松药物中的应用,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骨质疏松,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。

[0020] 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。

[0021] 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)。

[0022] 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骨质疏松症状明显降低的量,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。

[0023] 本发明通过骨质疏松模型进行例证。此处的动物包括但是不限于:小鼠,大鼠,驯养动物包括但是不限于猫,狗,以及其它一些动物例如但是不限于牛,羊,猪,马,灵长类动

物例如但是不限于猴子和人。

[0024] 本发明提出了吡啶-3-甲醇、二吡啶甲烷及其衍生物通过药物抑制破骨细胞的生成和功能,在原理上可以用于骨质疏松的预防和治疗。本发明提出了吡啶-3-甲醇、二吡啶甲烷及其衍生物制备治疗骨质疏松药物中的新的应用。

[0025] 在动物试验中发现, DIM 和 I3C 及其衍生物可有效降低骨质疏松动物模型的发病症状, 可以成为治疗骨质疏松的候选药物分子。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。

具体实施方式

[0026] 下面的实验例用以解释本发明, 但是并非对本发明实质内容的限制。

[0027] 【化合物制备】

[0028] 实施例 1

[0029] (5-氯吡啶-3-甲醇及 5,5'-二氯二吡啶甲烷的制备)

[0030] 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。

[0031] 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%。

[0032] 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%。

[0033] 实施例 2

[0034] (5-硝基吡啶-3-甲醇及 5,5'-二硝基二吡啶甲烷的制备)

[0035] 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。

[0036] 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%。

[0037] 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'-二硝基双吡啶甲烷, 得率约 80%。

[0038] 实施例 3

[0039] (5-戊基吡啶-3-甲醇及 5,5'-二戊基-二吡啶甲烷的制备)

[0040] 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。

[0041] 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%。

[0042] 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%。

[0043] 实施例 4

[0044] (N-甲氧基吡啶-3-甲醇及 N,N'-二甲氧基-二吡啶甲烷的制备)

[0045] 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。

[0046] 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%。

[0047] 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%。

[0048] 实施例 5

[0049] (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)

[0050] 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。

[0051] 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%。

[0052] 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%。

[0053] 实施例6

[0054] (4-溴吡啶-3-甲醇及4,4'-二溴二吡啶甲烷的制备)

[0055] 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。

[0056] 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%。

[0057] 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%。

[0058] 【动物实验例】

[0059] I3C、DIM及其衍生化合物对卵巢切除大鼠骨质疏松的防治作用。

[0060] 原发性骨质疏松症是机体衰老在骨骼的表现,目前研究表明:随着年龄的增加,晚期糖化终末产物(advanced glycosylation end product AGE)在体内积累增多,高水平的AGE可导致成骨细胞数量的减少,活性降低,骨形成降低,增龄和糖代谢紊乱是引起AGE增加的主要原因。而绝经可引起糖代谢紊乱,产生胰岛素抵抗,绝经伴随骨质疏松的发生已经为许多流行病学研究所证实。目前,对绝经后骨质疏松的治疗主要是采用激素替代疗法,虽然对骨质疏松有一定疗效,但可引起乳腺癌和子宫内膜癌的发生。本发明采用卵巢切除方法制作大鼠骨质疏松模型,探讨I3C、DIM及其衍生化合物对绝经后骨质疏松的防治作用。选用10月龄大鼠,通过卵巢切除诱导骨质疏松并用I3C、DIM及其衍生化合物防治其骨量丢失,测定其骨密度及骨胶原中晚期糖化终末产物的含量及血、尿生化指标。卵巢切除大鼠骨密度明显低于假手术大鼠($P < 0.01$),而骨胶原中晚期糖化终末产物的含量明显升高($P < 0.01$)。血清雌激素降低($P < 0.01$),24小时尿钙、尿钙与肌酐比值、24小时尿磷、尿磷与肌酐比值均有升高趋势。

[0061] 1-1、动物模型的制作及处理

[0062] 实验选用10月龄SD大鼠312只,随机分成24组,每组13只,假手术组、卵巢切除组及分别用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。假手术组在无菌条件下,经背部切口,切除少量脂肪。其余组在无菌条件下,经背部切口,切除双侧卵巢。手术后一周,治疗组分别给予玉米油溶解配成 2.0mg/ml 口服液,自由饮水,其余两组引用自来水。常规喂养 3 个月后,禁食 24 小时,代谢笼收集尿液,用于尿液生化指标测定。股动脉放血处死,收集血清,用于生化指标的测定。取左侧股骨和胫骨测定骨密度。右侧股骨和胫骨用于骨胶原中 AGE 的测定。

[0063] 1-2、各组大鼠骨密度的变化

[0064] 10 月龄大鼠切除卵巢后三个月股骨和胫骨骨密度均明显降低,与假手术组比较有显著性差异,分别为 $P < 0.002$ 和 $P < 0.001$ 。经药物治疗 3 个月股骨与胫骨骨密度明显增加,与卵巢切除组比较有显著差异 $P < 0.05$,见表 1。

[0065] 表 1:各组大鼠骨密度的变化 (平均值 \pm 标准偏差)

[0066]

组别	例数 (只)	股骨 (g/cm^2)	胫骨 (g/cm^2)
假手术组	13	0.264 ± 0.021	0.237 ± 0.015
卵巢切除组	13	0.214 ± 0.005	0.208 ± 0.009
I3C	13	0.244 ± 0.019	0.223 ± 0.016
DIM	13	0.249 ± 0.002	0.221 ± 0.015
5-C1-I3C	13	0.248 ± 0.007	0.226 ± 0.004
5,5'-C1-DIM	13	0.250 ± 0.011	0.227 ± 0.024
5-C5-I3C	13	0.241 ± 0.015	0.228 ± 0.018
5,5'-C5-DIM	13	0.243 ± 0.016	0.222 ± 0.024
5-MOE-I3C	13	0.247 ± 0.012	0.229 ± 0.021
5,5'-MOE-DIM	13	0.244 ± 0.021	0.228 ± 0.014
5-NO-I3C	13	0.251 ± 0.010	0.226 ± 0.008
5,5'-NO-DIM	13	0.245 ± 0.012	0.227 ± 0.014

N-Me-I3C	13	0.246 ± 0.014	0.228 ± 0.017
N, N' -Me-DIM	13	0.243 ± 0.002	0.225 ± 0.021
N-MOE-I3C	13	0.241 ± 0.009	0.225 ± 0.013
N, N' -MOE-DIM	13	0.249 ± 0.013	0.226 ± 0.002
2-C5-I3C	13	0.248 ± 0.017	0.226 ± 0.015
2, 2' -C5-DIM	13	0.242 ± 0.014	0.229 ± 0.005
2-MOE-I3C	13	0.242 ± 0.004	0.224 ± 0.019
2, 2' -MOE-DIM	13	0.242 ± 0.013	0.227 ± 0.013
1Bu-2Me-I3C	13	0.246 ± 0.023	0.227 ± 0.018
1, 1' Bu-2, 2' Me-DIM	13	0.243 ± 0.008	0.221 ± 0.011
4-Br-I3C	13	0.245 ± 0.015	0.223 ± 0.017
4, 4' -Br-DIM	13	0.242 ± 0.016	0.221 ± 0.014