



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102895227 A

(43) 申请公布日 2013. 01. 30

(21) 申请号 201210371150. 4

(22) 申请日 2012. 09. 28

(71) 申请人 达瑞医药香港有限公司

地址 中国香港湾仔轩尼诗道 199-203 号东  
华大厦 19 楼 1904 室

(72) 发明人 史跃年

(74) 专利代理机构 北京同立钧成知识产权代理  
有限公司 11205

代理人 刘芳

(51) Int. Cl.

A61K 31/404 (2006. 01)

A61P 15/14 (2006. 01)

A61P 29/00 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 5 页

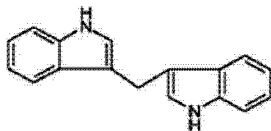
### (54) 发明名称

3, 3' - 二吲哚甲烷在制备治疗乳痛症的药物  
中的应用

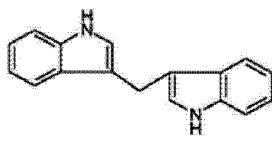
### (57) 摘要

本发明提供一种 3, 3' - 二吲哚甲烷在制备治  
疗乳痛症的药物中的应用, 对实验性动物乳腺增  
生模型的动物试验表明, 化合物 3, 3' - 二吲哚  
甲烷对乳痛症具有良好的治疗作用。所述 3, 3' - 二

吲哚甲烷的结构式如下。



1. 3, 3'-二吲哚甲烷在制备治疗乳痛症的药物中的应用, 所述 3, 3'-二吲哚甲烷的结构式如下:



2. 根据权利要求 1 所述的应用, 其中, 所述乳痛症包括生理性乳房疼痛和 / 或病理性乳房疼痛。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的应用, 其中, 所述乳痛症的症状表现包括周期性乳房疼痛和 / 或非周期性乳房疼痛。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述的应用, 其中, 所述乳痛症的症状包括因单纯性乳腺上皮增生、乳腺腺病或乳腺囊性增生引起的乳房疼痛。

5. 根据权利要求 1-4 任一项所述的应用, 所述治疗乳痛症的药物剂型包括口服剂、静脉给药制剂、鼻饲制剂、直肠给药制剂、阴道给药制剂、或眼部给药制剂。

6. 根据权利要求 1 或 5 所述的应用, 其中, 以 3, 3'-二吲哚甲烷作为有效成分, 所述治疗乳痛症的药物的给药剂量为 100-1000 毫克 / 天。

### 3, 3' - 二吲哚甲烷在制备治疗乳痛症的药物中的应用

#### 技术领域

[0001] 本发明涉及 3, 3' - 二吲哚甲烷在制备治疗乳痛症的药物中的应用, 属于医药技术领域。

#### 背景技术

[0002] 乳痛症在各年龄层女性都会有发生, 并发现率比较高, 最直接和常见的症状就是乳房疼痛, 包括持续性和阶段性疼痛。乳痛症状的产生通常与环境、应激、饮食, 月经初潮、孕产和情绪等多种因素有关。乳痛症的主要发病原因可能是卵巢功能失调, 导致雌激素水平过高, 孕激素水平较低。高水平的雌激素, 使乳腺局部组胺、儿茶酚胺、5-羟色胺含量增高, 乳管充血水肿、上皮增生、腺泡肥大, 进而刺激、压迫乳管固有的神经末梢, 形成乳腺结节状态和疼痛。高水平的雌激素也可使泌乳素升高, 同样作用于乳腺组织, 引起组织形态改变, 导致疼痛。此外, 人体对雌激素敏感性增高, 雌激素受体过表达, 也是乳痛症的重要诱因。有些患乳痛的患者可并发乳房增大, 乳房肿块, 乳头溢液等症状。

[0003] 已经研究发现乳痛症与乳腺癌的发生存在密切关系, 乳痛症的主要病因是乳腺增生, 乳痛症患者疼痛程度与乳腺癌发生率成正相关。乳腺癌的发生发展一般遵循了正常 - 增生 - 非典型增生 - 原位癌 - 浸润癌这一发展过程。研究发现乳痛症的形成和发展, 特别是不典型增生, 可能会促进乳腺癌的发生, 只是其恶变机率取决于增生病变的程度。

[0004] 目前并未发现在保留乳房的基础上根治乳痛症的方法, 对于所发现和发生的乳房疼痛症状, 患者通常是在寻找一些缓解性的手段和要求, 特别是一些轻度症状的患者, 并未对病症引起足够的重视。由于外部影响因素很多, 并且是在不断改变, 所以乳痛症的发生也会表现为阶段性症状, 已有报道和公开的治疗手段多为一些中药(口服或外敷)或物理治疗, 通过对体制或局部组织的调理来缓解症状。可以说, 对于各种原因导致的乳痛疾病, 目前在临床治疗中还无法做到真正有效治疗。

[0005] 3, 3' - 二吲哚甲烷 (diindolylmethane, DIM) 是吲哚 -3- 甲醇 (I3C) 的二聚体形式, 对该化合物的医药用途的研究已经比较多, 例如, DIM 用于治疗年龄相关性听力损失 (CN200980105668. X), DIM 能够抑制糖尿病的加重以及 DIM 在治疗肝脏疾病和类风湿性关节炎中的用途 (可以参见 CN201010258545. 4 和 CN200810243556. 8) 等。关于 3, 3' - 二吲哚甲烷与治疗乳痛症以及与乳痛症相关疾病之间的关系, 未见相关的研究和报道。

#### 发明内容

[0006] 本发明所解决的主要技术问题在于提出了 3, 3' - 二吲哚甲烷在制备治疗乳痛症的药物中的应用, 从而为治疗乳痛症以及与乳痛症相关疾病提供了新的手段。

[0007] 已经有研究证实, 雌激素是乳腺癌发生的主要诱因。雌激素异常增高时, 使正常乳腺上皮细胞增殖, 并抑制细胞免疫, 使自身修复能力降低, 增生的细胞通过激素受体系统促进 ER, PR 合成增多, 提高了乳腺上皮对雌激素的敏感性, 从而进一步刺激引起乳腺上皮细胞的生长和细胞功能的活跃。雌激素引起的细胞生长和功能活跃, 可表现为线粒体数量显

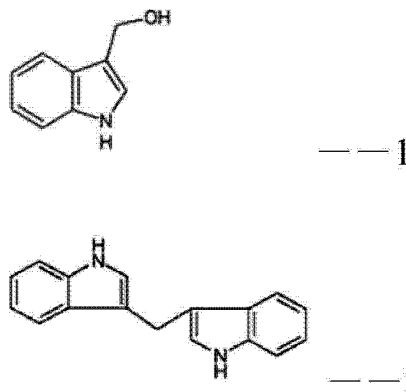
著增多,促进乳腺组织细胞存活与生长,线粒体释放凋亡诱导因子传递凋亡信号,使无功能衰竭老化的细胞死亡,而当乳腺组织细胞中线粒体过度表达时,便产生自身功能障碍,影响代谢有害物质无法清除,机体发生异常甚至组织细胞突变。此外,雌激素还可导致代表 ER 活性的 PR 增多,当该 PR 过度表达时,乳腺组织增生细胞的黏附能力下降,诱导细胞形态改变。PR 诱导特异生长因子(启动甲基化)在乳腺病变组织中高表达,导致乳腺上皮细胞孕激素反应紊乱,促进了乳腺组织间质胶原纤维的增生,使乳腺不能由增殖转入复原,造成乳腺正常结构紊乱,促使乳腺增生的发生从而导致乳痛症,为乳腺癌的发展埋下隐患。

[0008] 雌激素主要代谢途径是氢化途径,即,雌二醇转化为雌酮,并在 C2, C4 或 C 16 位羟基化,不同的雌激素代谢产物表现出不同的雌激素活性。其中 2- 羟雌酮(2-OHE1)结合雌激素受体能力较弱,可促进细胞的分化与凋亡,被认为具有抗雌激素作用。16 $\alpha$ - 羟雌酮(16 $\alpha$ -OHE1)也是类雌激素化合物,有强雌激素作用,可以与雌激素受体共价结合,激活 ER,诱导细胞异常分化及乳腺细胞增殖。此外,16 $\alpha$ -OHE1 还具有阻碍细胞 DNA 修复的功能。

[0009] 3, 3'- 二吲哚甲烷(diindolylmethane, DIM) 是吲哚-3- 甲醇(I3C)的二聚体形式。1975 年, Wattenberg 首次发现吲哚-3- 甲醇具有抗癌作用(Loub WD, Wattenberg LW, Davis DW: Aryl hydrocarbon hydroxylase induction in rat tissues by naturally occurring indoles of cruciferous plants. J Natl Cancer Inst 1975, 54(4):985-988)。其结构如式 1 所示,该物质存在于各种十字花科蔬菜的葡糖异硫氰酸盐在植物组织黑芥子硫苷酸酶作用下产生的降解产物中,是目前研究的最多的十字花科蔬菜的成分。

[0010] I3C 具有不稳定性,在酸性环境下易形成多聚体,包括二聚体 3, 3'- 二吲哚甲烷(diindolylmethane, DIM);线状三聚体 2-(吲哚-3- 基甲基)-3, 3'- 二吲哚甲烷(2-(indol-3-ylmethyl)-3, 3'-diindolylmethane, LTR-1);环状三聚体 5, 6, 11, 12, 17, 18- 六氢环壬烷[1, 2-b:4, 5-b:7, 8-b] 三吲(5, 6, 11, 12, 17, 18-hexahydrocyclonona[1, 2-b:4, 5-b':7, 8-b:]tri-indole, CTR);吲哚[3, 2-b] 并吡唑(indolo[3, 2b], carbazole, ICZ) 和抗环血酸等。3, 3'- 二吲哚甲烷结构如式 2:

[0011]



[0012] 目前研究发现,在调节雌激素代谢等方面, DIM 表现出比 I3C 更有利的效果。例如, DIM 治疗可提高具有早期乳腺癌病史的绝经患者的 2-OHE1 水平(Dalessandri KM, Firestone GL, Fitch MD, Bradlow HL, Bjeldanes LF: Pilot study: effect of 3, 3'-diindolylmethane supplements on urinary hormone metabolites in postmenopausal women with a history of early-stage breast cancer. Nutr Cancer 2004, 50(2):161-167);有动物实验表明,相比于 I3C, DIM 具有较小的肝脏毒性(Leibelt

DA, Hedstrom OR, Fischer KA, Pereira CB, Williams DE: Evaluation of chronic dietary exposure to indole-3-carbinol and absorption-enhanced 3,3'-diindolylmethane in sprague-dawley rats. *Toxicol Sci* 2003, 74(1):10-21); 近年来的研究还发现, DIM 可抑制 AKT (蛋白激酶 B, 一种丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶) 磷酸化 (Gao N, Cheng S, Budhraj A, Liu EH, Chen J, Chen D, Yang Z, Luo J, Shi X, Zhang Z: 3,3'-Diindolylmethane exhibits antileukemic activity in vitro and in vivo through a Akt-dependent process. *PLoS One* 2012, 7(2):e31783), 从而下调激素受体水平和抑制其下游的 cyclin D1、CDK4 及 CDK6, 诱导细胞凋亡 (Garikapaty VP, Ashok B T, Tadi K, Mittelman A, Tiwari RK: Synthetic dimer of indole-3-carbinol: second generation diet derived anti-cancer agent in hormone sensitive prostate cancer. *Prostate* 2006, 66(5):453-462)。

[0013] 但是, 目前的研究更多的还是集中在 I3C 以及 DIM 在乳腺癌治疗中的影响, 尤其是针对已经确诊和发现患有乳腺癌的情况下, I3C 以及 DIM 的应用。未见任何有关 3,3'-二吲哚甲烷治疗乳痛症方面的报道。

[0014] 本发明人的研究发现, 给乳腺增生模型大鼠施用 3,3'-二吲哚甲烷, 能够明显缩小患乳腺增生大鼠的乳房直径、乳头高度, 所以, 本发明提出了 3,3'-二吲哚甲烷的一种新医药用途, 即, 3,3'-二吲哚甲烷在制备用于乳痛症治疗的药物中的应用。

[0015] 本发明中所述乳痛症是指各种原因引起的乳房疼痛, 包括了各种生理性乳房疼痛和 / 或病理性乳房疼痛。此类疾病可不同程度地并发乳房增大, 乳房肿块, 乳头溢液等症状。

[0016] 从临床症状上, 本发明中所述乳痛症的症状表现可以包括周期性乳房疼痛和 / 或非周期性乳房疼痛。

[0017] 本发明所述乳痛症的症状可以包括因单纯性乳腺上皮增生、乳腺腺病或乳腺囊性增生引起的乳房疼痛。

[0018] 根据本发明的方案, 所述治疗乳痛症的药物包括治疗有效量的 3,3'-二吲哚甲烷和药剂学可接受的药物辅料, 药物剂型可以包括口服剂、静脉给药制剂、鼻饲制剂、直肠给药制剂、阴道给药制剂、眼部给药制剂或其它局部给药制剂等。

[0019] 根据本发明的方案, 对于正常体重范围内的乳痛症患者, 以 3,3'-二吲哚甲烷作为有效成分, 所述治疗乳痛症的药物的给药剂量 (以 3,3'-二吲哚甲烷为有效成分计) 可以为 100-1000 毫克 / 天。

[0020] 虽然多种不同因素都可能引发乳痛症, 乳痛症通常的临床检查指标都表现出由于乳腺正常结构紊乱而促使乳腺增生的发生, 从而导致乳痛症。在本发明方案中, 发明人采用苯甲酸雌二醇联合黄体酮肌肉注射的方法复制乳腺增生大鼠模型和家兔模型, 并使用 3,3'-二吲哚甲烷进行给药实验, 结果显示, 3,3'-二吲哚甲烷能明显减小患乳腺增生大鼠和家兔的乳房直径、乳头高度。所以, 对实验性动物乳腺增生模型的动物试验表明, 化合物 3,3'-二吲哚甲烷对乳痛症具有良好的治疗作用。

## 具体实施方式

[0021] 以下通过具体实验过程详细说明本发明的方案。

[0022] 本发明提出了 3,3'-二吲哚甲烷的新医药用途, 即, 3,3'-二吲哚甲烷在制备用于

乳痛症治疗的药物中的应用。

[0023] 根据本发明的方案,所述治疗乳痛症的药物包括治疗有效量的 3,3'-二吡啶甲烷和药剂学可接受的药物辅剂,药物剂型可以包括口服剂、静脉给药制剂、鼻饲制剂、直肠给药制剂、阴道给药制剂、眼部给药制剂或其它局部给药制剂等。

[0024] 实验例 1 实验性大鼠乳腺增生模型试验

[0025] 实验动物采用 SD 大鼠,雌性鼠,体重 150-200g。实验室温度 18-28℃,饲料喂养,自由摄食、饮水。

[0026] 确认乳腺指标正常的健康雌性鼠 48 只,称重后,随机分为 DIM 低剂量组、DIM 高剂量组、模型组和正常对照组,每组 12 只。

[0027] 采用苯甲酸雌二醇联合黄体酮肌肉注射的方式复制乳腺增生大鼠模型: DIM 低剂量组、DIM 高剂量组、模型组实验动物给予肌肉注射苯甲酸雌二醇注射液 0.5mg/kg. w, 每天一次,连续注射 25 天,第 26 天起改用肌肉注射黄体酮 5mg/kg. w, 每天一次,连续注射 5 天,确认各组动物均出现乳腺增生症状,完成造模。

[0028] 正常对照组肌注生理盐水 0.2ml/ 只,每天一次,连续注射 30 天。

[0029] 造模后,用游标卡尺精确测量各组大鼠第 2 对左右两个乳房直径及乳头高度。

[0030] 正常对照组和模型组动物灌服生理盐水 2ml/ 次,每天一次,连续 30 天。DIM 低、高剂量组分别按 1mg/kg. w/day 以及 5mg/kg. w/day 的剂量灌服 DIM 水溶液,每日灌服液体总量为  $\frac{\text{大鼠体重 (g)}}{100(\text{g})} \text{ ml}$ ,连续 30 天。

[0031] DIM 对乳房直径及乳头高度的影响:

[0032] 第 31 天用游标卡尺再次精确测量上述给药后各组大鼠(正常对照组和模型组灌服生理盐水)第 2 对左右两个乳房直径及乳头高度,测量位置与给药前的相同,必要时对动物实施麻醉。

[0033] 对各组动物的测量结果汇总分析如下:

[0034] 表 1. DIM 对实验性大鼠乳房直径及乳房高度的作用(连续给药 30 天)

| 组别         | 乳房直径 (mm)     | 乳房高度 (mm)     |
|------------|---------------|---------------|
| 正常对照组      | 0.91 ± 0.05   | 1.30 ± 0.1    |
| [0035] 模型组 | 1.33 ± 0.08## | 1.51 ± 0.15## |
| DIM 低剂量组   | 1.09 ± 0.06** | 1.37 ± 0.06** |
| DIM 高剂量组   | 1.03 ± 0.04** | 1.33 ± 0.05** |

[0036] ## :与正常对照组比较, P<0.01 ;\*\* :与模型组比较, P<0.01

[0037] 实验大鼠乳腺组织病理形态:

[0038] 石蜡切片观察可见正常大鼠的乳腺组织小叶无增生改变,腺泡少,小叶不明显,脂肪组织较多,乳腺导管无扩张;

[0039] 模型组大鼠乳头出现红肿和增大,小叶内腺泡数增多,分枝多,腺泡间结缔组织减少,腺腔扩大,腔内出现大量分泌物;

[0040] DIM 高、低剂量组大鼠乳腺小叶数目和腺泡数较模型组明显减少,腔内分泌物也减

少。

[0041] 结论 :3, 3' - 二吡啶甲烷可明显减少大鼠乳房直径、乳头高度以及乳腺小叶内腺泡数, 3, 3' - 二吡啶甲烷对大鼠乳腺增生有较好的治疗作用。

[0042] 实施例 2 实验性家兔乳腺增生模型试验

[0043] 实验动物采用家兔, 雌性家兔, 体重 2-3kg。实验室温度 18-28℃, 标准颗粒饲料喂养, 自由摄食、饮水。

[0044] 确认乳腺指标正常的健康雌性家兔 40 只, 称重后, 随机分为 DIM 低剂量组、DIM 高剂量组、模型组和正常对照组, 每组 10 只。

[0045] 采用苯甲酸雌二醇联合黄体酮肌肉注射的方式复制乳腺增生家兔模型 :DIM 低剂量组、DIM 高剂量组、模型组实验动物给予肌肉注射苯甲酸雌二醇注射液 0.5mg/kg. w, 每天一次, 连续注射 25 天, 第 26 天起改用肌肉注射黄体酮 5mg/kg. w, 每天一次, 连续注射 5 天, 确认各组动物均出现乳腺增生症状, 完成造模。

[0046] 正常对照组家兔肌注生理盐水 1.0ml/ 只, 每天一次, 连续注射 30 天。

[0047] 造模后, 用游标卡尺精确测量各组家兔第 2 对左右两个乳房直径及乳头高度。

[0048] 正常对照组和模型组动物灌服生理盐水 20ml/ 次, 每天一次, 连续 30 天。DIM 低、高剂量组分别按 1mg/kg. w/day 以及 5mg/kg. w/day 的剂量灌服 DIM 水溶液, 20ml/ 次 / 只, 每天一次, 连续 30 天。

[0049] 第 31 天用游标卡尺再次精确测量上述给药后各组家兔(正常对照组和模型组灌服生理盐水) 第 2 对左右两个乳房直径及乳头高度, 测量位置与给药前的相同, 必要时对动物实施麻醉。

[0050] 表 2. DIM 对实验性家兔乳房直径及乳房高度的作用(连续给药 30 天)

| 组别         | 乳房直径 (mm)     | 乳房高度 (mm)    |
|------------|---------------|--------------|
| 正常对照组      | 3.57 ± 0.81   | 5.08 ± 0.91  |
| [0051] 模型组 | 4.91 ± 0.75## | 5.92 ± 0.78# |
| DIM 低剂量组   | 4.31 ± 0.68*  | 5.19 ± 0.75* |
| DIM 高剂量组   | 3.97 ± 0.79** | 4.93 ± 0.65* |

[0052] #: 与正常组比较,  $P < 0.05$ ; ##: 与正常组比较,  $P < 0.01$ ;

[0053] \*: 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; \*\*: 与模型组比较,  $P < 0.01$ ;

[0054] 实验家兔乳腺组织病理形态:

[0055] 石蜡切片观察可见正常组家兔乳房小叶, 乳腺处于静息期状态, 无增生性改变, 腺泡少, 小叶不明显, 脂肪组织较多, 乳腺导管腔无扩张;

[0056] 模型组家兔乳头出现红肿和增大, 小叶内腺泡数增多, 分枝多, 腺泡内结缔组织减少, 腺腔扩大, 腔内出现大量分泌物;

[0057] DIM 高、低剂量组家兔小叶数目和腺泡数较模型组明显减少, 腔内分泌物也减少。

[0058] 结论 :3, 3' - 二吡啶甲烷可明显减少家兔乳房直径、乳头高度以及乳腺小叶内腺泡数, 3, 3' - 二吡啶甲烷对家兔乳腺增生有较好的治疗作用。