

Витекс Священный (*Vitex Agnus-Castus*)

Фармакология и клинические показания

W. Wuttke, H. Jarry, V. Christoffel, B. Spengler, D. Seidlova-Wuttke

3 тубротою про Жінку, №7 (55) Октябрь 2014

Многие предменструальные симптомы, в частности, предменструальная масталгия (мастодиния) соотносятся с латентной гиперпролактинемией (Jarry et al., 1994; Wuttke et al., 1997; Jarry et al., 1999). Такие пациентки не страдают от пролактиномы, но в качестве реакции на ежедневные стрессовые ситуации у них происходит повышенная секреция пролактина, что, видимо, стимулирует работу молочных желез как напрямую, так и через нарушение эстроген-прогестеронового равновесия, что в свою очередь, вызывает мастодинию. В предменструальный период у таких пациенток часто наблюдается повышенный уровень сывороточного пролактина (Jarry et al., 1999).

Выделение гипофизарного пролактина находится под влиянием тонизирующего гипоталамического торможения дофамином, выделяемым тубероинфундибулярными нейронами дофамина в воротные вены, соединяющие гипоталамус с гипофизом.

Таким образом, мы пришли к выводу, что особенно во время предменструального периода дофаминергическое ингибирование является недостаточным настолько, что под действием ежедневных стрессов возникает гиперпролактинемия. Следовательно, при лечении предменструальной масталгии было предложено мягкое эффективное ингибирование дофаминергическими факторами.

Несомненно, синтетический агонист дофамина (бромкриптин) также оказал положительное влияние на боль в груди, болезненность и тяжесть, и такое улучшение связывается с пониженным уровнем сывороточного пролактина (Mansel and Dogliotti, 1990). Не только предменструальная масталгия, но также другие соматические и психические симптомы, такие как предменструальная депрессия, грусть, раздражительность, эмоциональная реактивность и сенсорная чувствительность, улучшились путем применения другого синтетического агониста дофамина – лизурида (Schwibbe et al., 1983). Отсюда, было выяснено, что также небольшая недостаточность других дофаминергических структур мозга, таких, как nigrostriарные и мезолимбические системы, могут быть причинно связаны с предменструальными симптомами.

Клинический опыт показал, что не только предменструальная масталгия, но также и нарушения цикла можно эффективно лечить при помощи экстракта *Vitex Agnus Castus* (AC) (Milewicz et al., 1993; Roeder, 1994; Lauritzen et al., 1997; Gerhard et al., 1998; Halaska et al., 1999). Следовательно, мы предложили, чтобы экстракты AC содержали дофаминергические соединения (Jarry et al., 1991; Jarry et al., 1994). В описанных ниже фармакологических и клинических исследованиях постоянно использовался специальный экстракт AC BNO 1095, стандартизованный по содержанию некоторых дитерпенов, обладающих дофаминергической активностью (Biopogica SE, Ньюмаркт, Германия). BNO 1095 является основной активной субстанцией доступных на рынке таблетированной формы и жидкого средства *Cyclodynon®*, *Mastodynon*.

Материал и методика, результаты и обсуждения

Ранее мы искали дофаминергические соединения в этом экстракте и, более того, были способны идентифицировать

некоторые доли, связывающие рекомбинантные дофаминовые рецепторы и подавляющие выделение гипофизарного пролактина. Дофаминергическая активность присутствовала в полярных и неполярных фракциях. Экстрагируемые дофаминергические соединения (этанол 50%) могут быть разделены по молекулярным массам и разделены на 3 фракции (P1, P2 и P3). Если в искусственных условиях дофаминовые рецепторы культивируются с радиоактивно мечеными лигандами, связывающимися с этими рецепторами, такими, как сульпирид, соединения во всех 3 фракциях замещают радиоактивный лиганд, связанный с рецептором в зависимости от дозы, и это достигает 3 пиков со связывающим действием допаминового рецептора, в котором P3 составляет наибольшее количество веществ (рис. 1). Во время экспериментов *in vitro* выращивались клетки гипофиза в суспензии, и они выделяли высокие количества пролактина (базальный уровень), поскольку питательная среда не содержала никаких дофаминергических субстанций. Когда к культуре добавляли дофамин или дофаминергические соединения, выделение пролактина лактотрофами ингибировалось в зависимости от концентрации, поскольку в радиорецепторном анализе P3 была самая активная фракция для ингибирования выделения пролактина (рис. 2).

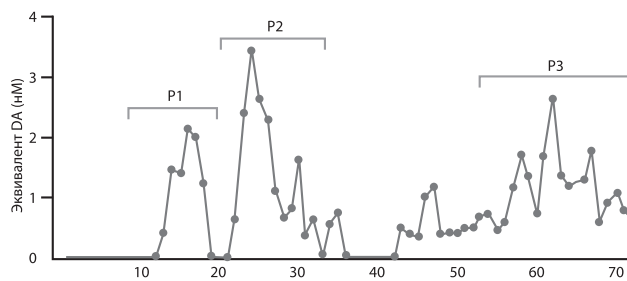


Рис. 1. Жидкостная экспресс-хроматография белков на 12-колонные супероры водного/спиртового экстракта (50/50 об.) показала 3 пика, связанных с дофаминовым рецептором 2-го типа. Доли под горизонтальными скобками были скомбинированы и составили пик 1, пик 2 и пик 3 (P1, P2 и P3 соответственно)

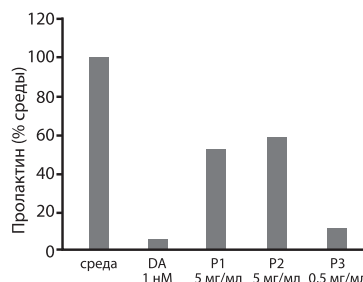


Рис. 2. P1, P2 и P3 (см. рис. 1) имели подавляющий эффект на выделение пролактина из клеток гипофиза крыс в суспензии. Для сравнения использовался дофамин в 10^{-6} М. При этом концентрация P3 была в 10 раз ниже, чем концентрация P1 и P2

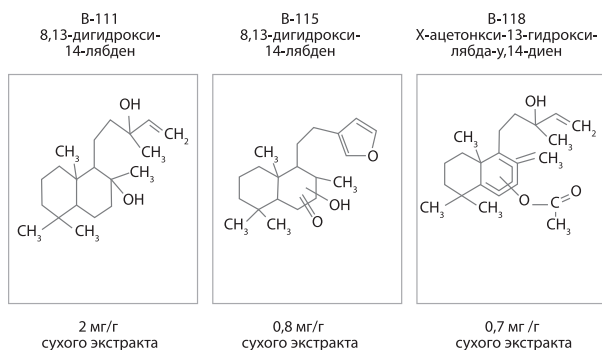


Рис. 3. Дитерпены с биологической активностью, выделенные из *Agnus castus*

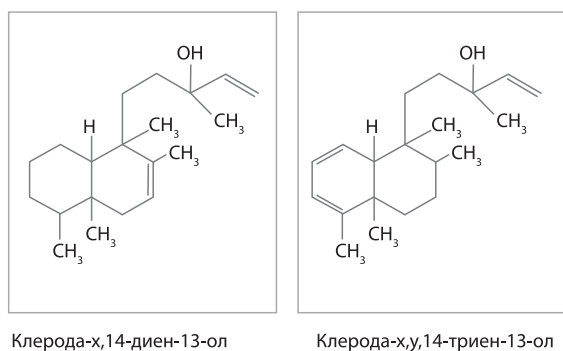


Рис. 4. Состав и структура выделенных BNO-дитерпенов, шесть тесно связанных дитерпенов со скелетом клеродана были выделены, пять из этих соединений имеют структуру клеродадиен-13-ол (MW 290), одно соединение имеет структуру клерода-триен-13-ол (MW 288)

Попытка очистить эту (эти) вещество (а) из РЗ окончились неудачей, поскольку любой этап очищения приводил к разрушению инактивации субстанции (й); дофаминергическая активность исчезала по причине высокой лабильности (Wuttke et al., 1995).

В более ранних попытках провести очистку дофаминергических соединений из экстрактов *Vitex Agnus Castus* (BNO1095) нам и другим авторам удалось идентифицировать количество дитерпенов (Christoffel et al., 1999; Hoberg et al., 1999).

Выраженные дитерпены, найденные в экстракте *Vitex Agnus Castus*, это ротундифуран (P-107) и 6β, 7β-диацетокси-13-гидрокси-лябда-8,14-диен (=B 110).

Эти два соединения также были описаны Hoberg et al., (1999). В дополнение к этим дитерпенам мы идентифицировали еще 3 соединения типа лябдена, структура и химические названия которых приведены на рис. 3. Не так давно нам удалось химически идентифицировать самые активные вещества в неполярной фракции BNO 1095. Предлагаемые структуры веществ показаны на рис. 4. Были идентифицированы шесть тесно связанных дитерпенов со скелетом клеродана, пять из которых имеют структуру клерода-х, 14-диен-13-ол и один имеет структуру клерода-х, у-14-триен-13-ол.

Окончательная структура этих соединений, включая абсолютную стереохимию, все еще нуждается в прояснении для проверки точного расположения двойных связей в кольце А или В, соответственно.

Активность этих веществ тестировалась в анализе дофаминового рецептора (рис. 5). Самым активным соединением оказался B115, из которого 1 мольМ имел связующее действие, эквивалентное 218 нм допамина (DA).

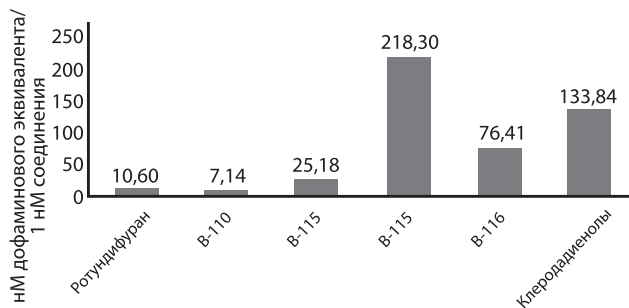


Рис. 5. Удельная активность соединений АС в анализе D2-дофаминового рецептора. Каждое соединение тестировалось при концентрации 1 пмол. Цифры сверху каждого столбика указывают свойства выделения дофамина, данные в нмолях и стандартные ошибки среднего (S.E.M.) приведены сверху каждого столбика

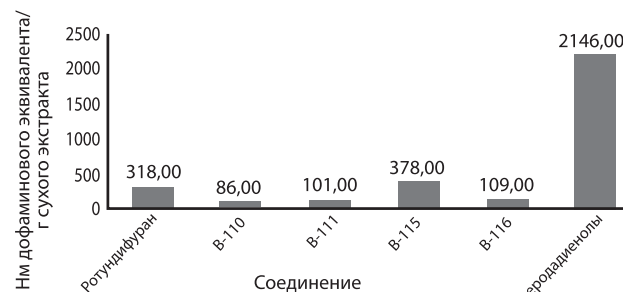


Рис. 6. Общая дофаминергическая активность различных дитерпенов в анализе дофаминового рецептора (эквивалент нмоль дофамина/г сухого экстракта) и стандартные ошибки среднего (S.E.M.) приведены сверху каждого столбика

Итак, дофамин оказался приблизительно в 4–5 раз активнее по замещению своего радиоактивного лиганда в D2-рецепторных препаратах, чем B115. Клеродадиенолы были несколько менее активны, чем B115 (активность составила прилб. 1/8 от активности дофамина), но как показано на рис. 6, их количество на один грамм сухого экстракта *Vitex Agnus Castus* было настолько высоким, что их общая дофаминергическая активность была прилб. в 5,7 раз выше, чем активность B115.

Фактически, общая дофаминергическая активность клеродадиенолов составила более 50% от всей дофаминергической активности других соединений. Отсюда, самыми основными дофаминергическими соединениями в специальном экстракте BNO1095 являются клеродадиенолы.

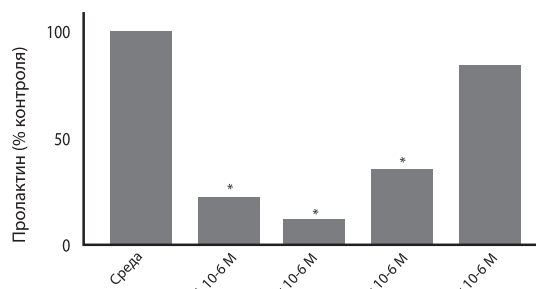


Рис. 7. Результаты действия клеродадиенолов на выделение пролактина in vitro. Базальная концентрация пролактина в надосадочной жидкости составила 100%. Стандартные ошибки среднего (S.E.M.) приведены сверху каждого столбика. Звездочка указывает, что P<0,05

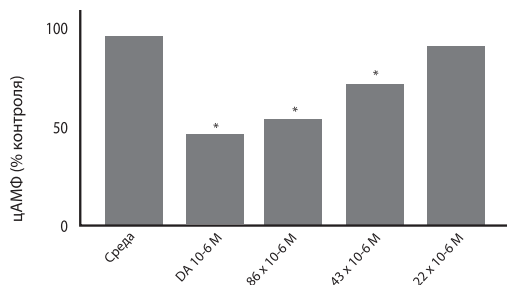


Рис. 8. Результаты действия клеродадиенолов на циклический аденозинмонофосфат in vitro при стимуляции при помощи 1 pM форсколина. Стандартные ошибки среднего (S.E.M.) приведены сверху каждого столбика. Звездочка указывает, что P<0,05

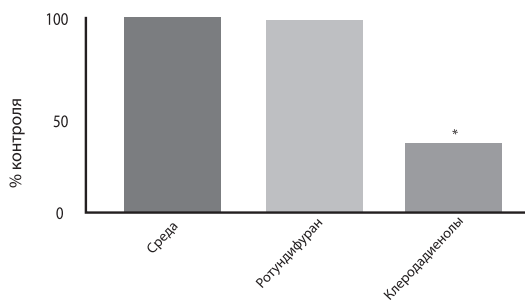


Рис. 9. Подавление выделения пролактина при помощи клеродадиенолов, выделенных из Vitex agnus castus в концентрации 20 моль/мл.

Отмечаем, что на данном рабочем месте ротундифуран был неэффективен, тогда как клеродадиенолы значительно подавляли выделение пролактина. Стандартные ошибки среднего (S.E.M.) приведены сверху каждого столбика. Звездочка указывает, что P<0,05

Клеродадиенолы также являются активными ингибиторами выделения пролактина. При концентрации в 86 раз выше молярности, чем у дофамина, они ингибируют выделение пролактина более основательно, чем 10⁻⁶ М дофамин.

Половина концентрации (в 43 раза больше, чем у дофамина на основе молярности) клеродадиенолов были несколько менее эффективны, чем 10⁻⁶ М дофамина (рис. 7).

Выделение пролактина стимулировалось высокими внутриклеточными уровнями циклического аденозинмонофосфата. Дофамин действует посредством аденилциклазы дофаминингибирования, поэтому он ингибирует производство циклического аденозинмонофосфата. Форсколин – это стимулятор производства циклического аденозинмонофосфата и, следовательно, стимулирует выделение гипофизарного пролактина. Как показано на рис. 8, это выделение циклического

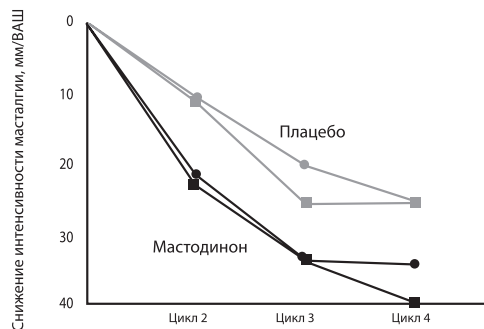


Рис. 10. Снижение интенсивности масталгии при применении препарата Мастодинон – сравнение результатов Wuttkeetal., 1997 and Halaskaetal., 1999

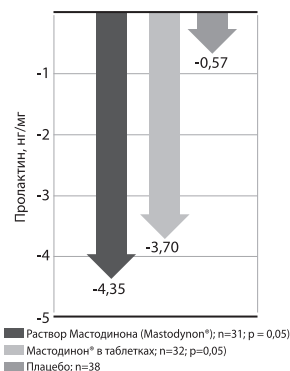


Рис. 11. Лечение циклической масталгии: изменение выделения базального пролактина после трех циклов. По сравнению с плацебо, уровни базального пролактина значительно снизились в основных группах (Wuttke et al.,1997)

ского аденозинмонофосфата при стимуляции форсколином может эффективно подавляться дофамином и клеродадиенолами. Кроме того, клеродадиенолы были приблизительно одинаково активны по сравнению с дофамином при концентрации приблизительно в 50 раз выше.

Рис. 9 детально демонстрирует, что ротундифуран, первый из опубликованных дитерпенов с дофаминергической активностью (Hoberg et al., 1999) при концентрациях, когда клеродадиенолы были очень активными в подавлении выделения пролактина, не оказывал никакого действия на секрецию этого гормона лактотрофами.

Поскольку клеродадиенолы очень стабильны и стойки почти к любому воздействию, это контрастирует со стабильностью дофамина и других дофаминергических соединений. Следовательно, можно сделать вывод, что основную дофаминерги-

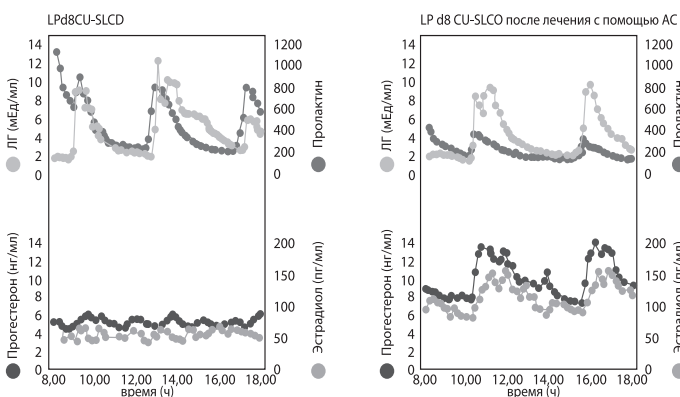


Рис. 12. Пример женщины, страдающей от латентной гиперлактинемии, связанной с недостаточностью желтого тела.

В первые 12 ч периода исследования (без лечения левой стороны) она реагировала на стресс венопункции временной гиперпролактинемией, также импульс высвобождения ЛГ, связанный с импульсами пролактина, был очень высоким. Во время этого цикла уровни прогестерона были в пределах недостаточности желтого тела, и импульсы ОГ не привели к повышению выделения прогестерона. В то же время, через 3 мес после лечения препаратами специального экстракта АС (Мастодинон*), были понижены стресс-индуцированные импульсы секреции пролактина и пролактина, связанного с импульсом ЛГ. Средний уровень сывороточного прогестерона был выше, и каждый импульс ОГ вызывал повышенное выделение лютеинового прогестерона и эстрадиола

ческую активность в специальном экстракте BNO 1095 составляют дитерпены, из которых клеродадиенолы выполняют наиболее заметную роль дофаминергической активности.

Основные клинические данные по эффекту, оказываемому препаратами *Agnus Castus* на предменструальные синдромы или на выделение гипофизарного пролактина, имеются в недостаточном количестве. Большинство опубликованных на эту тему исследований были или неслепые и/или неplacebo-контролируемые.

В двух недавних клинических исследованиях была установлена эффективность доступного на рынке специального экстракта *Vitex Agnus Castus* – BNO 1095 по действенному снижению предменструальной мастодинии. Соответственно, пациентки должны были заполнить визуальную аналоговую шкалу (ВАШ), в которой можно было оценить имеющуюся у них боль в груди по шкале от 0 мм (самая незначительная масталгия) до 10 мм (очень сильная).

Результаты самооценки показаны на рис. 10. Оба препарата (Мастодинон в таблетированной форме и растворе) понизили показатели масталгии на 35–40%, что означает значительно более сильный эффект, чем у placebo (25%) (Wuttke et al., 1997; Halaska et al., 1999).

В одном из таких исследований (Wuttke et al., 1997) также приводилась информация о том, что препарат АС понижает уровень выделения сывороточного пролактина (рис. 11).

Недавно нам удалось взять повторяющиеся заборы образцов крови у пациенток, страдающих от предменструальной мастодинии. Этим пациенткам был поставлен катетер в латеральную подкожную вену руки, и заборы образцов крови производились непосредственно после этого с интервалом в 10 мин на протяжении 10 ч. Информация относительно одной из таких пациенток показана на рис. 12. В результате стресса от венопункции гипофиз этой пациентки выделял большое количество пролактина, который достиг такого уровня, который, несомненно, входит в рамки патологического. Во время фазы лютеинизации импульсы ЛГ появлялись регулярно с интервалом от 3 до 4 ч, что также наблюдалось у этой пациентки.

Эти импульсы ЛГ связаны с импульсами пролактина, пиковые значения которого также четко находились в рамках патологических значений. У этой пациентки уровни прогестерона и эстрадиола были в диапазоне, указывающем на недостаточность желтого тела. После трехмесячного лечения при помощи доступного на рынке препарата АС Мастодинон, супрафизиологическое выделение пролактина вследствие стресса и импульсы пролактина, связанного с импульсами ЛГ, нормализовались и, как результат, импульсы ЛГ не вызвали повышение уровней прогестерона и эстрадиола, также уровни базального прогестерона и эстрадиола были в пределах нормы.

Детальная информация про пульсирующую секрецию ЛГ с параллельными циклами и важность ЛГ и пульсирующую секрецию пролактина были недавно рассмотрены Wuttke et al. (2001).

Тот факт, что эти дитерпены связываются с допаминовыми рецепторами 2 типа и таким образом подавляют выделение гипофизарного пролактина и что они являются высоко липофильными, говорит о том, что они могут легко проходить через гематоэнцефалический барьер. Таким образом, у них появляется доступ к другим дофаминергическим системам головного мозга и их постсинаптическим рецепторам, которые формируют nigrostriарную и мезолимбическую дофаминергическую системы (рис. 13). Эти системы участвуют в регулировании опорно-двигательной и поведенческой активности.

Таким образом, положительное влияние NBO 1095 – специального экстракта *Vitex Agnus Castus*, в особенности найденных там дитерпенов, – может стимулировать эти постсинаптические рецепторы и посредством этого модулировать часто наблюдаемые опорно-двигательную и поведенческую нестабильность.

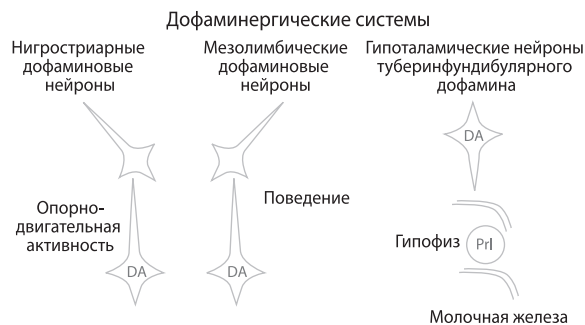


Рис. 13. Изображены три важнейшие дофаминергические системы головного мозга. Нигростриарная система участвует в регулировании опорно-двигательной активности. Мезолимбическая дофаминергическая система регулирует поведение. Тубероинфундибулярная дофаминергическая система гипоталамуса выделяет дофамин в воротные кровеносные сосуды и, таким образом, подавляет выделение гипофизарного пролактина

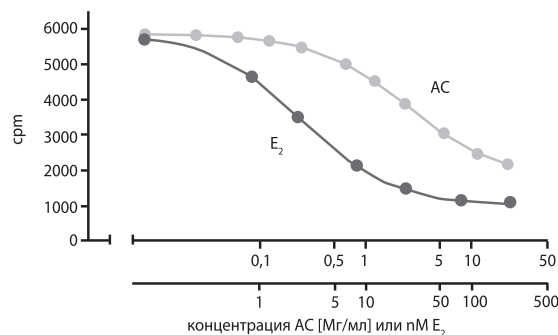


Рис. 14. Специальный экстракт *Vitex Agnus Castus* вымещает радиоактивно меченный эстрадиол из препарата цитозольного эстрогена, приготовленного из эндометрия человека. Таким образом, вещества, присутствующие в данном препарате, конкурируют с эстрадиолом за активные центры (рецепторы) эстрогена

Клинические наблюдения показывают, что экстракт VAC может иметь положительное влияние на лечение при жалобах климактерического периода.

Следовательно, мы изучали экстракт BNO1095 на предмет гипотетической эстрогенной активности. Более того, экстракты VAC содержали вещества, которые вытесняют радиоактивно меченный эстрадиол из препарата цитозольного рецептора эстрогена (рис. 14). Внутриклеточные рецепторы, два из которых – клонированные, получили соединение с «эстрогеном». Старый, хорошо изученный эстрогеновый рецептор теперь носит название «эстрогенный рецептор α» (ЭРα). Новый эстрогенный рецептор – это ЭРβ (Kuiper et al., 1996). Функции ЭРα относительно хорошо определены: стимулирование пролиферации миометрия и эндометрия; на уровне скелета, воздействие эстрадиола, предотвращающее развитие остеопороза, что достигается посредством ЭРα. Предположительно, защитное влияние на сердечно-сосудистую систему также, видимо, достигается посредством ЭРα (критическую статью см. у Couse and Korach, 1999). Менее известно о физиологическом значении ЭРβ. Согласно работам Gustafsson и его коллег (Makela et al., 1999; Weihua et al., 2000), влияние ЭРα и ЭРβ противодействуют друг другу (так называемая теория инь-ян).

Таким образом, вещество, связанное исключительно с ЭРβ, вызывает пострецепторную транскрипционную активацию, может стать желанным инструментом для изучения физиоло-

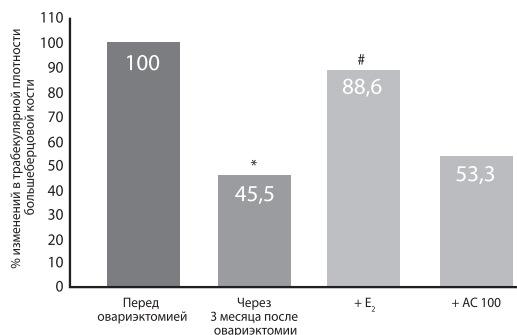


Рис. 15. Для определения степени развития остеопороза у крыс в течение 3 мес после овариэктомии использовалась компьютерная томография. В этом эксперименте проводилось измерение трабекулярной плотности большеберцовой кости (МО). Эстрадиол показал способность почти полностью предотвращать остеопороз, тогда как экстракт АС имел незначительный положительный эффект на степень остеопороза.

* $p < 0,05$ в сравнении с периодом до овариэктомии;
$p < 0,05$ в сравнении с 3 мес после овариэктомии

гии ЭРβ и, возможно, применимости агонистов ЭРβ при лечении эстрогензависимых опухолей.

При попытке более детально охарактеризовать гипотетические эстрогенные вещества в специальном экстракте прутняка BNO 1095 использовались рекомбинантные белки эстрогенного рецептора-α и эстрогенного рецептора-β. Хотя эстрогенные компоненты в экстракте АС не связаны с белком ЭРα, однако, было очевидным наличие специфического связывания для эстрогенного рецептора подтипа β. Недавно мы идентифицировали апигенин, флавоноид, в качестве основного компонента, с четко агонистической активностью по отношению к эстрогенному рецептору подтипа β.

Апигенин хорошо известен как растительный компонент, но впервые он был определен в составе экстракта *Vitex agnus castus*. В более ранней публикации *Kuiper et al. (1998)* уже демонстрировали высокую активность апигенина по связыванию ЭРβ. Удивительно, однако, хотя IC50 для ЭРα невозможно было определить из-за слабой связи с ЭРα, способность апигенина к трансактивации в ЭРα-трансфицированных клетках была

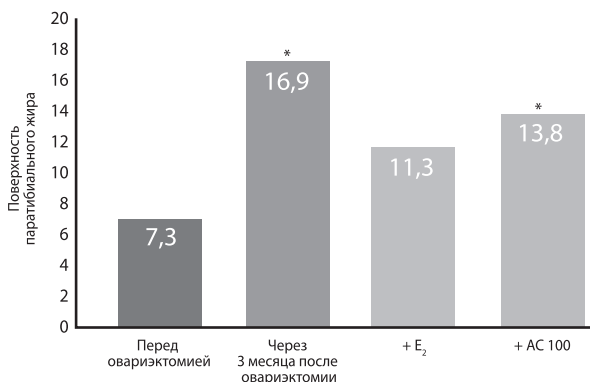


Рис. 16. Компьютерная томография позволяет определить размер паратибяльных жировых отложений, который становится большим через 3 мес после овариэктомии и значительно меньше до овариэктомии, а также у животных, проходящих лечение при помощи E2 или АС.

Таким образом, экстракт АС имеет заметное воздействие на предотвращение аккумуляции жира вследствие проведения овариэктомии. * $p < 0,05$

идентичной ее способности к трансактивации ЭРβ (*Kuiper et al., 1998*).

В соответствии с теорией инь-ян Густафссона (*Gustafsson*), ЭРα и ЭРβ имеют противоположные функции.

Таким образом, чистый агонист ЭРβ не должен воздействовать на матку, поскольку матка содержит, главным образом, ЭРα. Более того, нам удалось показать, что экстракт VАС, принимаемый при острых (6 ч), подострых (7 дней) или хронических течениях заболевания (3 мес) в 2 различных дозах не имел влияния на вес матки или на регулирование любых генов матки, известных как эстроген-контролируемые.

После 3 мес орального применения, нам удалось наблюдать небольшой, статистически незначительный эффект защиты от остеопороза (рис. 15) и заметное, схожее на эстрадиол, влияние на паратибяльные жировые отложения при использовании компьютерной томографии (рис. 16).

Как результат сниженного накопления жира в ответ на хроническое (3 мес) лечение при помощи эстрадиола или *Vitex Agnus Castus*, уровень сывороточного лептина (гормон, вырабатываемый липоцитами) также значительно понизился по сравнению с уровнем у крыс, которых кормили пищей, не содержащей фитоэстроген (рис. 17).

В соответствии с небольшим, незначительным антиостеопоротическим влиянием, оказываемым ЭРβ – под действием экстракта *Vitex Agnus Castus* не наблюдались значительного влияния на маркеры костного метаболизма в сыворотке, такие как остеокальцин и костно-специфическая щелочная фосфатаза.

Таким образом, мы показали, что экстракт *Vitex agnus castus* BNO 1095 содержит дофаминергические вещества, которые подавляют выделение гипофизарного пролактина, одно из которых является несколько менее активным, чем дофамин, при подавлении выделения пролактина в культивируемых клетках гипофиза. Это вещество было идентифицировано химически как клеродадиенол.

Доступный на рынке препарат специального экстракта АС – BNO 1095, протестированный клинически, был успешно использован у пациенток, страдающих от предменструальной масталгии. Кроме того, данный экстракт содержит вещества с агонистической селективностью относительно подтипа β эстрогенного рецептора, который оказался вовлеченным в регулирование жировой ткани, но который не оказывает эстрогенного влияния на матку и имеет минимальное влияние на скелет.

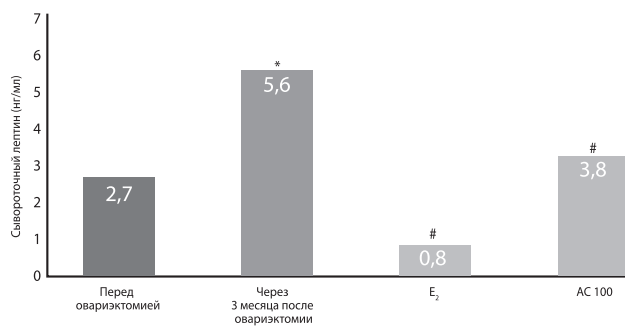


Рис. 17. Лептин – это гормон, вырабатываемый липоцитами, и их концентрация является высокой у животных через 3 месяца после проведения овариэктомии.

Значительно более низкие концентрации лептина были обнаружены у животных, проходящих лечение E2 и BNO 1095. * $p < 0,05$ в сравнении с периодом до овариэктомии; # $p < 0,05$ в сравнении с E2 и АС 100