

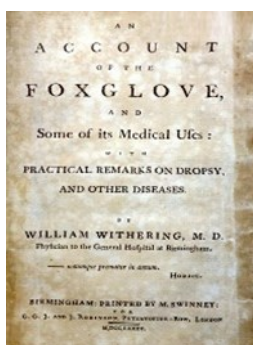
## VENENUM BUFONIS – PANACEA?\*

MICHAL JURÁŠEK<sup>a</sup>, LUBOMÍR OPLETAL<sup>b</sup>, EVA KMONÍČKOVÁ<sup>c</sup> a PAVEL DRAŠAR<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Ústav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, <sup>b</sup> Katedra farmaceutické botaniky, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, <sup>c</sup> Ústav farmakologie, 2. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5 drasarp@vscht.cz

Došlo 12.2.21, přijato 6.4.21.

Klíčová slova: ropuší jed, kardiotonické steroidy, bufadienolidy, glykosidy, konjugáty, Chan Su, tradiční čínská medicína



Anglický lékař William Withering se v roce 1775 nechal inspirovat tím, jak babka kořenářka (mytická „matka Huttonová“) léčila vodnatelnost nálevy z náprstníků, k rozsáhlému výzkumu. Již deset let na to publikoval vědeckou studii o účincích této rostliny<sup>1</sup>. Mnohem později byly z náprstníků izolovány a charakterizovány kardioglykosidy. Čínská literatura, počínaje

knihou Yao Xing Lun (藥性論) až po současný čínský lékopis<sup>2</sup> (Chinese Pharmacopoeia), však již o tisíc let dříve popisuje použití preparátu Ch'an Su (蟾酥, vyslov „čan su“, Chan Su, japonsky senso, korejsky Sumsu), preparátu získaného z kožních výměšků ropuch *Bufo gargarizans* Cantor nebo *Bufo melanostictus* Schneider a dalších, případně jeho vodného extraktu zvaného HuaChanSu (cinobufacini) k léčení celé řady chorob a neduhů. Někdy je používána samotná sušená kůže pod názvem Chanpi. Dlužno podotknout, že bufadienolidy (patřící mezi kardiotonické steroidy) jsou obsaženy nejen ve výměšku ropuch orientálních, ale že jsou ropuchy s obsahem uvedených látek rozšířeny po celém světě<sup>3</sup>.

Chan Su a jeho deriváty byly a jsou používány velmi široce, od takových chorob jako úžeh a mdloby, bolest břicha, bolest v krku a další, zvracení a průjem, srdeční

nedostatečnost, otoky, furunkly, plynatost, rachitis, leukemie až po omezení růstu některých zhoubných nádorů a jejich léčení, a dokonce proti toxickým látkám<sup>4</sup>. V japonském středověku si samurajové pro jeho anestetické účinky natírali rány masť z Chan Su. Za významnou se dnes považuje i aktivita imunomodulační<sup>5</sup>.

Podstatnou složkou Chan Su jsou kardiotonické steroidy. V Evropě lékařská věda, až na výjimky, zůstala u použití kardioglykosidů pro jejich pozitivně inotropní (zvyšující stažlivost srdečního svalu) a negativně chronotropní (snižující frekvenci srdečních stahů) účinek u léčení srdeční insuficience, arytmií a některých dalších srdečních chorob. Nicméně Evropa a také USA do velké míry opustily použití kardioglykosidů, protože se statisticky zjistilo, že stimulace srdce sice zlepšuje jeho činnost, ale nesnižuje mortalitu<sup>6</sup>. Navíc dávkování digoxinu vykazuje značnou interindividuální variabilitu<sup>7</sup>. V současnosti se zdá být účinnější druhý přístup: otevření periferního řečiště, a tím odlehčení srdci, tady je přežívání pacientů statisticky významnější.

Východní medicína odjakživa, jak již bylo řečeno, používala ropuší kardiotonické steroidy buď jako substanci Chan Su, nebo ve formě Chanpi, HuaChanSu, či ve směsi s jinými léčivými drogami, přehled přináší cit.<sup>8,9</sup>. Často jde o poměrně neobvyklé směsi, které vycházejí ze specifík tradičních asijských léčitelských systémů. Nicméně léčení rakoviny prsu použitím Chan Su bylo popsáno již v roce 1617 (cit.<sup>10</sup>).

Webová encyklopedie tradiční čínské medicíny TCM Wiki řadí Chan Su mezi „oživovací byliny“ (Resuscitative Herbs; jakkoli ropucha patří do jiné říše) a popisuje ho jako štiplavý, teplý, toxický s tím, že vyvolává resuscitaci a osvěžuje mysl, mírní toxicitu a bolest, léčí abscesy, rozsáhlý karbunkl, velké otoky a záněty, bolesti v krku a bolesti zubů. Jako jednotlivou dávku v pilulkách (*pilulae*) či prášku (*pulvis*) doporučuje 15 až 30 mg, přičemž nabádá dávku přísně dodržovat. Kontraindikuje drogu těhotným ženám<sup>11</sup>.

Hlavními projevy otravy Chan Su jsou křeče, zástava dýchání a zánět zažívacího traktu. Dávka LD<sub>50</sub> pro člověka při orálním podání Chan Su bývá uváděna 0,36 mg kg<sup>-1</sup>. Obecně bylo rozmezí terapeutických dávek 3–5 mg den<sup>-1</sup> a méně než 135 mg den<sup>-1</sup> (cit.<sup>8</sup>). Je logické, že podle modelu ACD/Labs Percepta je perorální letální dávka kardiotonik o dva řády vyšší než dávka intravenózní a o jeden řád vyšší než intraperitoneální<sup>12</sup>. Obvyklá udržovací dávka kardioglykosidů, konkrétně digoxinu, je 0,125–0,250 mg den<sup>-1</sup> a terapeutická hladina v plazmě v ustáleném stavu se pohybuje téměř v „homeopatickém“ řádu 10<sup>-9</sup> g ml<sup>-1</sup>.

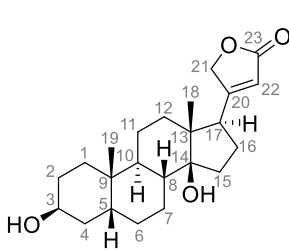
\* panacea, označení prostředku, který má být schopen léčit všechny choroby; *venenum bufonis*, ropuší jed

Lékaři za starých časů u pacientů postupně zvyšovali dávku kardiotionik tak, až pacient začal zvracet, a pak po uklidnění aplikovali dávku sníženou na polovinu.

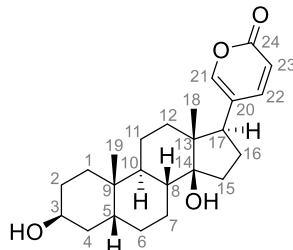
Terapeutické dávkování Chan Su pro posílení srdeční činnosti bylo 4–8 mg 2–3krát denně, i tak se ale projevila nevolnost. Dávka u léčení maligních tumorů byla 2 ml 2% Chan Su v sezamovém oleji, podaná nitrosvalovou injekcí. Toxické příznaky, pokud se mluví o Chan Su, které se mohou projevit již během 30 minut, jsou nevolnost, zvracení, necitlivost jazyka, bolesti břicha a průjem, pění v ústech, cyanóza prstů, rtů a samozřejmě poruchy srdeční činnosti. Pitevni nález zaznamenal ekchymózu, byl nalezen mozkový a plicní otok a také intersticiální edém myokardu. Mikroskopické vyšetření popsalo intersticiální kongesci myokardu, kongesci plic, edém a fokální krvácení, těžký mozkový edém, edém jater, kongesci ledviny a balonovou degeneraci. Kromě toho byla popsána oční toxicita při přímém zasažení očí<sup>8</sup>. Nutno vzít v úvahu, že otrava touto drogou má z hlediska pozorovatele poněkud jiný průběh než čistá otrava kardiotionickými steroidy.

Otrava léčivými drogami s obsahem bufadienolidů je poměrně vzácná a má lehčí průběh než u digitalisových glykosidů, protože bufadienolidy jsou resorbovány z trávicího traktu v menší míře (což je způsobeno tím, že resubufogenin a cinobufagin, hlavní složky Chan Su, nejsou glykosylovány, a mají tudíž menší biodostupnost), mají relativně nízký kardiotionický účinek, zato však je vystupňován účinek diuretický<sup>13</sup>.

V učebnicích najdeme rozdělení kardiotionických steroidů na kardenolidy (steroidní deriváty mající v poloze C-17 steroidu nenasycený pětičlenný lakton) a bufadienolidy (kde je tento lakton opět nenasycený, ale šestičlenný). Dále se dočteme, že kardenolidy nacházíme v říši rostlinné a bufadienolidy v říši živočišné, toto rozdělení je však dnes nutno považovat za „učebnicové“, protože neplatí na 100 % (cit.<sup>14,15</sup>).



kardenolid, 3 $\beta$ ,14-dihydroxy-5 $\beta$ -kard-20(22)-enolid (digitoxigenin)



bufadienolid, 3 $\beta$ ,14-dihydroxy-5 $\beta$ -bufa-20,22-dienolid (bufalin)

Ze všech biologických aktivit byl nejlépe prozkoumán pozitivně inotropní mechanismus účinku kardioglykosidů, jenž je založen na inhibici Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> dependentní ATPasy, zde odkazujeme na literaturu<sup>16,17</sup>. Pro dostatečnou biodostupnost u libovolně studované aktivity musí mít molekula

buď řadu polárních substituentů kolem steroidního skeletu, anebo šikovnou substituci aglykonu zejména v poloze C-3 $\beta$ . Mezi šikovné substituce patří zejména glykosidace, esterifikace několikasytnou organickou kyselinou, ale i anorganickou, potažmo kyselinou sírovou nebo fosforečnou. Cytotoxické účinky jednotlivých kardiotionických steroidů<sup>15,18</sup> jsou v současnosti předmětem intenzivního výzkumu, včetně SAR<sup>19</sup>, pro jejich využití v protinádorové léčbě. Další biologické aktivity jsou méně studovány a stejně tak i jejich možné uplatnění v „západní“ medicíně.

Chan Su připravené z vytlačených sušených výměšků ušních a kožních žláz ropuchy se, zejména v Číně, Koreji a Japonsku, prodává „od nepaměti“ ve formě koláčků (cake, disk-like) nebo destiček (thin-plate, flake). V současné době dodávají čínské farmaceutické firmy tento výrobek i v podobě prášku. Chan Su mívá hnědavou až tmavě (červeně)hnědou barvu, uvnitř vzorku bývá jakási opalescence, která se obvykle zachová i po rozpuštění ve vodě. Chan Su vodou bobtná. Bohužel bývá pančován zejména škrobem nebo dokonce mletými ropušími kůžemi<sup>8</sup>. Na internetovém tržišti Alibaba se dá koupit, podle kvality, za vcelku rozumnou cenu kolem 100 \$/kg EXW jako surový prášek. Lze jej ale koupit i v čínských lékárnách jako tablety, injekce (nemalobuněčný karcinom plic), roztok (na léčení hnisavých ran), kapky (na obnovení imunity, jako antiradiační prostředek) či náplast (proti revmatickým a jiným bolestem) a podobně. Řada prací se zabývá též kvalitou výroby tohoto preparátu (např.<sup>20</sup>). Přehled analytické chemie pro tradiční čínské léčivé přípravky uvádí i Chan Su<sup>21</sup>, hezký přehled se zabývá analytikou cytotoxických bufadienolidů<sup>22</sup>. V poslední době lze zaznamenat řadu udělených patentů na různá zlepšení výroby Chan Su (např.<sup>23</sup>).

Biologická účinnost Chan Su je vázána na tři hlavní přítomné skupiny látek: bufadienolidy, indolové alkaloidy a peptidy (i polypeptidy) s tím, že dále jsou obvykle přítomny též další komponenty jako adrenalin, steroly (tj. bez laktonu na C-17), cyklické amidy, polysacharidy, aminokyseliny, organické kyseliny a řada dalších látek. V Chan Su byl popsán i steroid s pětičlenným nenasyceným laktonem, kardenobufotoxin<sup>25,26</sup>.

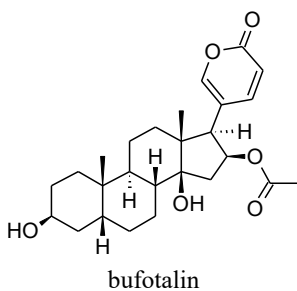
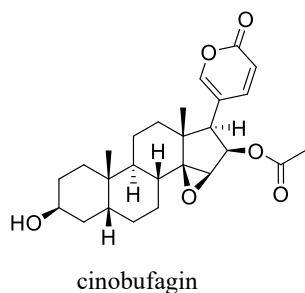
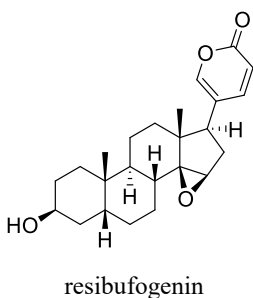
Z Chan Su bylo zatím izolováno více než 140 bufadienolidů a je jim připisována zodpovědnost za významné protinádorové, kardiotionické a anestetizující účinky<sup>8</sup>. Z nich je více než polovina „geninů“ (samotných aglykonů), 16 derivátů dikarboxylových kyselin, kde na druhém konci kyseliny může být připojena aminokyselina (arginin), a 8 esterů kyseliny sírové.

Steroidní skelet bufadienolidů může obsahovat celou řadu substituentů, včetně hydroxylových, epoxidových, acetylových, keto, mastných kyselin se středním a dlouhým řetězcem, thiosulfonovou kyselinu a jiné. Méně bývají zastoupeny formiáty nebo methylethery. Hydroxylová skupina může být v polohách 1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 5 $\beta$ , 11 $\beta$ , 12 $\alpha$ , 12 $\beta$ , 14 $\beta$ , 16 $\beta$  a 19. Kromě toho může být v polohách 3, 11, 12 a 19 karbonyl. Výjimečně může být methylová skupina na uhlíku C-10 nahrazena hydroxyskupinou, peroxoskupinou (19-norbufadienolidy) nebo oxidována na karboxylovou skupinu. Byly také izolovány norbufadienolidy, bufogar-

Obr. 1. Chan Su koláčkový a destičkový<sup>24</sup>

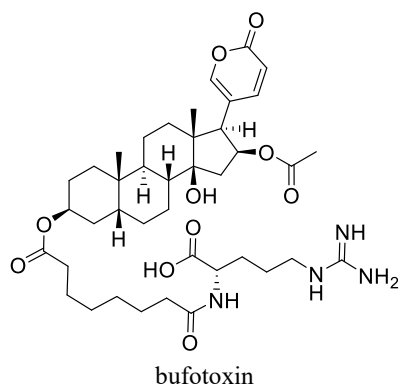
gariziny s obměněnými kruhy A a B: A-nor, B-homo a A-homo, B-nor<sup>27</sup>. Za zmínku stojí i 20,21-epoxybufadienolidy<sup>28</sup>.

Aglykony můžeme rozdělit na klasické bufadienolidy s 14 $\beta$ -hydroxyskupinou a látky odvozené od resibufogeninu obsahujícího v molekule  $\beta$ -orientovaný 14,15-epoxidový kruh. Podle čínského lékopisu by mělo být v Chan Su ne méně než 6 % resibufogeninu a cinobufaginu, což jsou steroidy vyskytující se v nejvyšší koncentraci.

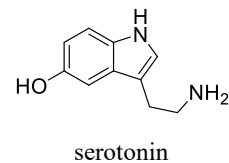
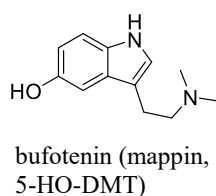


Další nekonjugovanou složkou je též bufotalin, který byl recentně navržen m.j. jako prostředek k léčení lidského zhoubného melanomu<sup>29</sup>.

Někdy je jako samostatná skupina bufadienolidů oddělena skupina tzv. toxinů, ve kterých je aglykon substituován na hydroxyly v poloze 3 $\beta$  jako hemiester dvousytné organické kyseliny (nejčastěji kyselina suberová), která má opačný karboxyl substituován aminokyselinou (nejčastěji arginin).



Indolové alkaloidy bufoteninového typu jsou v Chan Su obsaženy v množství téměř 8 % a zahrnují dosud identifikovaných 15 ve vodě rozpustných sloučenin tohoto typu, včetně samotného serotoninu. Nesou neurotoickou a halucinogenní aktivitu a ta vedla drogové experimentátory až tak daleko, že olizovali ropuchy<sup>30</sup>. Samotný bufotenin, 5-hydroxy-*N,N*-dimethyltryptamin, je coby psychomimetická látka zpochybňován samotným Shulginem<sup>31</sup>, který jej připravil synteticky z 5-hydroxyindolu.



Třetí podstatnou složkou Chan Su jsou peptidy a proteiny. Zde není mnoho dat o biologické aktivitě, ale jsou zmínky, že jde o látky cytostatické, antimikrobiální, antioxidační, ovlivňující imunitní a metabolické procesy<sup>32</sup>, omezující proliferaci nádorových buněk a angiogenezi, dále proteiny ovlivňující apoptózu, mající co do činění s buněčnými strukturami, katalytickými a transportními procesy či se zvýšením transdermální penetrace<sup>33</sup>. Byla publikována analýza 153 peptidů<sup>34</sup> z Chan Su. Připomeňme, že v kožním sekretu čínské žáby *Odorrana tormota* byly též nalezeny a charakterizovány peptidy podporující hojení ran<sup>35</sup>. Navíc byly nalezeny antimikrobiální peptidy i v kožních sekretech dalších žab<sup>36</sup>.

V literatuře se objevuje popis různorodého působení Chan Su. Tak například v době koronavirové pandemie bylo zjištěno<sup>37</sup>, že Chan Su zlepšuje dýchací funkce pacientů těžce zasažených infekcí COVID-19. Patentováno bylo použití Chan Su k léčení AIDS<sup>38</sup> i jako adjuvans pro zvýšení imunity<sup>39</sup>. Chan Su má vliv na úzkost a deprese<sup>40,41</sup>, a to i ve farmakopunkturní aplikaci do definovaných akupunkturních bodů<sup>42</sup>, je popsána i anestezie pomocí Chan Su ve farmakopunkturní aplikaci<sup>43</sup>. Chan Su byl použit k výrobě přípravku na léčení drogové závislosti<sup>44</sup>. Jakkoli to vypadá zvláštně, lze najít práce, kde je popsán pozitivní vliv Chan Su na zánět způsobený radiací<sup>45</sup>, což může souviset s tím, že bufalin ovlivňuje opravu poruch DNA způsobených rentgenovým zářením<sup>46</sup>. Méně výhodnou vlastností z hlediska farmakoterapie je fakt, že bufalin inhibuje CYP3A4 *in vitro* i *in vivo*<sup>47</sup>.

Za zmínku jistě stojí patenty, které uvádějí Chan Su jako lék na erektilní impotenci a předčasnou ejakulaci<sup>48,49</sup>. K zamyšlení vede ale zpráva, že použití topického přípravku obsahujícího bufadienolidy vedlo v letech 1993–1995 k onemocnění a smrti pěti mužů<sup>50</sup>, podobné afrodiziakum s názvem „Kámen lásky“<sup>51</sup> nebo „Jamajský kámen“<sup>52</sup> zahubilo další muže<sup>53</sup>.

Jako příklad alchymických směsí, které pro „západní medicínu“ budou vypadat přinejmenším zvláštně, uveďme Liu-Shen-Wan (směs pižma, bezoáru, Chan Su, perel a realgaru), přípravek s protizánětlivou, protinádorovou, antivirovou, analgetickou, antibakteriální a imunomodulační aktivitou se používá též při infekčních onemocněních (chřipka)<sup>54</sup> a m.j. i při polybakteriální sepsi vyvolané perforací slepého střeva<sup>55</sup>. She-Xiang-Bao-Xin (směs pižma, žlučových kamenů, Chan Su a čtyř rostlinných drog) se používá při ischemické chorobě srdeční a hypertenzi<sup>56</sup>. Směs z Chan Su, broskvového semene, gardénie, mandlí, lepkavé rýže, bílého pepře a vaječného bílku byla patentována jako léčivý přípravek na epilepsii<sup>57</sup>. Jiná směs Chan Su a arsenu byla patentována jako léčivý přípravek na prasečí virovou horečku<sup>58</sup>. Čínský lékopis uvádí několik desítek takových léčivých přípravků, soudobá patentová literatura o řád více. Podle časopisu Forbes se těchto přípravků prodají miliony dávek ročně<sup>59</sup>.

Významný zástupce biologicky aktivních přírodních látek Chan Su je v poslední době středem velkého zájmu vědeckého zkoumání založeného na důkazech. Zatímco do roku 1994 byly publikovány ročně nanejvýš jednotky prací na toto téma, v mezidobí 1995–2010 desítky, tak

v posledních letech desítek několik. Svědčí to m.j. o velkém zájmu odborníků o obsahové látky Chan Su, potažmo o bufadienolidy a zejména o jejich vliv na různé typy nádorů. Léčivá droga, používaná již několik tisíc let, je tak stále oprávněně ve středu zájmu. V ropuším jedu (*venenum bufonis*) stvořila příroda pravou knihovnu biologicky účinných látek, kterou se v Orientu naučili lidé používat již před tisícovkami let a kterou vyrábějí, používají a zkoumají dodnes.

## LITERATURA

1. Withering W.: *An Account of the Foxglove and Some of Its Medical Uses: With Practical Remarks on Dropsy and Other Diseases*. Swiney, Birmingham 1775.
2. China Pharmacopoeia Committee, *2015 Edition of Chinese Pharmacopoeia*. Chemical Industry Press, Beijing 2015.
3. Pantanowitz L., Naude T. W., Leisewitz A.: *S. Afr. Med. J.* 88, 1408 (1998).
4. Wei Z.: *Linchuang Junyi Zazhi* 44, 105 (2016).
5. Wang X. L. a 9 spoluautorů: *J. Asian Nat. Prod. Res.* 13, 383 (2011).
6. Rathore S. S., Curtis J. P., Wang Y., Bristow M. R., Krumholz H. M.: *JAMA, J. Am. Med. Assoc.* 289, 871 (2003).
7. Muzzarelli S., Stricker H., Pfister O., Foglia P., Moschovitis G., Mombelli G., Brunner-La Rocca H.: *Q. J. Med.* 104, 309 (2011).
8. Wei W.-L. a 9 spoluautorů: *J. Ethnopharm.* 237, 215 (2019).
9. Patočka J.: *Voj. Zdrav. Listy* 77, 160 (2008).
10. Chen S.: *Wai Ke Zheng Zong: A Compendium on External Diseases in Traditional Chinese Medicine*, Ren Min Wei Sheng Chu Ban She, Beijing 1956.
11. <https://tcmwiki.com/wiki/chan-su>, staženo 13. 2. 2021.
12. ACD/Labs: *Percepta*, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, verze 2018.2.5.
13. Melichar B. a 4 spoluautoři: *Chemická léčiva*, 3. vyd., str. 380. Avicenum, Praha 1987.
14. Gwaltney-Brant S. M., v knize: *Small Animal Toxicology*, 2. vyd., str. 643. Elsevier Saunders, St. Louis 2006.
15. Aronson J. K., v knize: *Manson's Tropical Infectious Diseases*, 23. vyd., str. 1128. Elsevier Saunders, St. Louis 2014.
16. Bejček J., Spiwok V., Kmoníčková E., Ruml T., Rimpelová S.: *Chem. Listy* 115, 4 (2021).
17. Kršiak M.: *Remedia* 24, 486 (2014).
18. Zhan X., Wu H., Wu H., Wang R., Luo C., Gao B., Chen Z., Li Q.: *J. Ethnopharmacol.* 246, 112178 (2020).
19. Yue-Zhong, Chao-Zhao, Wu W. Y., Fan T. Y., Li N. G., Min-Chen, Duan J. A., Shi Z. H.: *Eur. J. Med. Chem.* 189, 112038 (2020).
20. Fang Y.-G., Wang P.-F., Zhu H., Chen L.-M., Wang Z.-M., Gao H.-M., Fu X.-T., Nie J.: *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 45, 1726 (2020).

21. Drašar P., Moravcová J.: *J. Chromatogr. B* 812, 3 (2004).
22. Ye M., Guo H., Guo H., Han J., Guo D.: *J. Chromatogr. B* 828, 86 (2006).
23. Yan Q., Bu S., Hua Y.: CN210814181-U (2020); Derwent Primary Accession Number: 2020-603454.
24. <http://www.teacher.aedocenter.com/mywebB/nb-10/ko-32.htm>, staženo 11. 2. 2021.
25. Fujii Y., Shimada K., Niizaki Y., Nambara T.: *Tetrahedron Lett.* 34, 3017 (1975).
26. Ro J. S., Lee K. S., Park W. Y., Oh K. J., Ahn B. T., Eo K. C., Jeong D. R., Nambara T.: *Saengyak Hakhoechi* 21, 130 (1990).
27. Tian H. Y. a 9 spoluautorů: *Chem. Eur. J.* 16, 10989 (2010).
28. Kamano Y., Nogawa T., Ayano Y., Hayashi M., Inoue M., Drašar P., Pettit G. R.: *J. Nat. Prod.* 65, 1001 (2002).
29. Pan Z. a 10 spoluautorů: *Oncol. Rep.* 41, 2409 (2019).
30. <https://www.addictioncenter.com/news/2019/10/trendy-psychedelic-toad-venom/>, staženo 12. 2. 2021.
31. Shulgin A., Shulgin A., v knize: *Tikhal*, str. 473. Transform Press, Berkeley 1997.
32. Huo Y. G., Xv R. X., Ma H. Y., Zhou J., Xi X. P., Wu Q. A., Duan J. A., Zhou M. N., Chen T. B.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 157, 156 (2018).
33. Ma H., Zhou J.: CN112007167-A (2020); Derwent Primary Accession Number: 2020-C2163S.
34. Mariano D. O. C., Messias M. D. G., Spencer P. J., Pimenta D. C.: *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* 25, e20190029 (2019).
35. He X. a 10 spoluautorů: *Front. Immunol.* 10, 2421 (2019).
36. Gomes A., Teixeira C., Ferraz R., Prudêncio C., Gomes P.: *Molecules* 20, 1743 (2017).
37. Hu F., Chen J., Chen H., Zhu J., Wang C., Ni H., Cheng J., Cao P., Hu X.: medRxiv preprint, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.20.20107607>.
38. Du W.: CN102727529-A (2013); Derwent Primary Accession Number: 2013-B04004.
39. Shimizu Y., Ito C., Inoue E.: JP2005082504-A, JP4606715-B2 (2005); Derwent Primary Accession Number: 2005-257374.
40. Shirzad S., Neamati A., Vafae F., Ghazavi H.: *Res. Pharm. Sci.* 15, 571 (2020).
41. Ma H., Tao W., Li N., Duan J., Zhou J.: CN112138028-A (2021); Derwent Primary Accession Number: 2021-03178G.
42. Choi M., Kim K., Lee J.-E., Suh J.-W., Kim S.-C., Kwon K. R., Cho S.-H.: *J. Pharmacopunct.* 17, 27 (2014).
43. Kwon K., Seo H.-S.: *J. Korean Med. Ophthalmol. Otorhinolaryngol. Dermatol.* 30, 165 (2017).
44. Yuan B., Sun B.: CN101011476-A; CN101011476-B (2008); Derwent Primary Accession Number: 2008-B61751.
45. Li Y., Lin J. M., Xiao J., Li Z. X., Chen J. S., Wei L., Wang X. W.: *Exp. Anim.* 69, 354 (2020).
46. Pastor N., Cortes F.: *DNA Repair* 2, 1353 (2003).
47. Li H. Y., Xu W., Zhang X., Zhang W. D., Hu L. W.: *Acta Pharmacol. Sin.* 30, 646 (2009).
48. Ji J. W., Kang J. K., Kim Y. H., Jung S. H., Cho H. J., Lee K. H.: US 6726935 (2004).
49. Shin G. H.: KR2003030978-A (2003); Derwent Primary Accession Number: 2003-613704.
50. Centers for Disease Control and Prevention: *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 44, 853 (1995).
51. Sandroni P.: *Clin. Auton. Res.* 11, 303 (2001).
52. Diaz-Anton B., Alonso-Deniz G., Perez-Vela J. L., de Nicolas J. M. M., Rubio-Alonso B., Jurado-Roman A., Miguel-Gutierrez A., Martin-Asenjo R.: *Rev. Port. Cardiol.* 36, 143 (2017).
53. Barry T. L., Petzinger G., Zito S. W.: *J. Forensic Sci.* 41, 1068 (1996).
54. Ma Q., Huang W., Zhao J., Yang Z.: *J. Ethnopharm.* 252, 112584 (2020).
55. Ma H., Kou J., Zhu D., Yan Y., Yu B.: *Int. Immunopharm.* 6, 1355 (2006).
56. Lu L., Sun X., Chen C., Qin Y., Guo X.: *Frontiers Pharmacol.* 9, 1161 (2018).
57. Lu J.: CN111658734-A (2020); Derwent Primary Accession Number: 2020-92255T.
58. Zhu T., He G., Wu Q.: CN101194915-A (2008); Derwent Primary Accession Number: 2008-M15869.
59. Dolan K. A.: *Forbes* May 11 (2007); <https://www.forbes.com/global/2007/0521/052.html?sh=7d173b8659e4>, staženo 12. 2. 2021.

**M. Jurásek<sup>a</sup>, L. Opletal<sup>b</sup>, E. Kmoníčková<sup>c</sup>, and P. Drašar<sup>a</sup>**

*(<sup>a</sup> Department of Chemistry of Natural Products, University of Chemistry and Technology, Prague, <sup>b</sup> Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University, Hradec Králové, <sup>c</sup> Department of Pharmacology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague): Venenum Bufonis – Panacea?*

An important representative of biologically active natural substances, Chan Su, has recently been the focus of great interest in evidence-based scientific research. While until 1994 no more than single papers on this topic were published annually, in the period 1995–2010 there appeared tens, and in recent years several tens. This indicates a great interest of experts in the components of Chan Su, and thus in bufadienolides and especially in their influence on various types of tumours. The corresponding medicinal drug, being used for several thousand years, is still rightly in the centre of attention. In the toad venom (*Venenum bufonis*), nature has created a real library of biologically active substances, which people in the Orient learned to use thousands of years ago and which they produce, use and examine to this day.

Full text English translation is available in the on-line version.

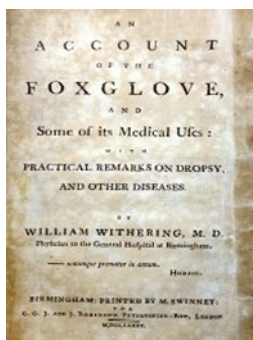
**Keywords:** toad venom, cardiotonic steroids, bufadienolides, glycosides, conjugates, Chan Su, traditional Chinese medicine

**VENENUM BUFONIS – PANACEA?\*****MICHAL JURÁŠEK<sup>a</sup>, LUBOMÍR OPLETAL<sup>b</sup>,  
EVA KMONÍČKOVÁ<sup>c</sup>, and PAVEL DRAŠAR<sup>a</sup>**<sup>a</sup> Department of Chemistry of Natural Products, University of Chemistry and Technology, Prague, <sup>b</sup> Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University, Hradec Králové,<sup>c</sup> Department of Pharmacology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University, Prague  
drasarp@vscht.cz

---

 Keywords: toad venom, cardiotoxic steroids, bufadienolides, glycosides, conjugates, Chan Su, traditional Chinese medicine
 

---



In 1775, the English physician William Withering was inspired by the extensive study of curing dropsy by foxglove infusions of the herbwoman (the mythical "Mother Hutton"). After ten years, he has published a scientific study on the effects of this plant<sup>1</sup>. Much later, cardioglycosides were isolated and characterized from foxglove. However, Chinese literature, from Yao

Xing Lun (藥性論) to the current Chinese Pharmacopoeia<sup>2</sup>, describes the use of Ch'an Su (蟾酥, Chan Su, Japanese senso, Korean Sumsu), a preparation obtained from the skin secretions of the toad *Bufo gargarizans* Cantor or *Bufo melanostictus* Schneider and other toads, or its aqueous extract called HuaChanSu (cinobufacini) for the treatment of a wide range of diseases and ailments. Sometimes the dried skin itself is used under the name Chanpi. It should be noted that bufadienolides (belonging to cardiotoxic steroids) are contained not only in the secretion of oriental toads, but that toads containing these substances are widespread throughout the world<sup>3</sup>.

Chan Su and its derivatives have been and are used very widely, for diseases such as sunburn and fainting, abdominal pain, sore throat and others, vomiting and diarrhoea, heart failure, swelling, furuncles, flatulence, rickets, leukaemia, and to restrict the growth of some malignancies tumours and their treatment, and even against toxic sub-

stances<sup>4</sup>. In the Japanese Middle Ages, samurai used wound ointment from Chan Su for its anaesthetic effects. Immunomodulatory activity is also considered important today<sup>5</sup>.

Cardiotonic steroids are an essential component of Chan Su. Medical science in Europe, with a few exceptions, used cardioglycosides for their positive inotropic (increasing cardiac contractility) and negative chronotropic (decreasing heart rate) in the treatment of heart failure, arrhythmias and some other heart diseases. However, Europe, as well as the United States, has largely abandoned the use of cardioglycosides because it has been statistically found that stimulation of the heart improves heart function but does not reduce mortality<sup>6</sup>. In addition, digoxin dosing shows considerable interindividual variability<sup>7</sup>. At present, the other approach seems to be more effective: opening the peripheral bloodstream and thus relieving the heart, here survival is statistically more significant.

Eastern medicine has always, as already mentioned, used toad cardiotoxic steroids either as a substance in Chan Su, or in the form of Chanpi, HuaChanSu, or in a mixture with other components drugs the literature brings an overview<sup>8,9</sup>. These are often relatively unusual mixtures that are based on the specifics of traditional Asian medicine. However, the treatment of breast cancer using Chan Su was described as early as 1617 (ref.<sup>10</sup>).

The TCM Wiki, the Chinese Encyclopedia of Traditional Chinese Medicine, ranks Chan Su among the "Resuscitative Herbs" (however, the toad belongs to another kingdom) and describes them as pungent, warm, toxic, causing resuscitation and refreshing the mind, mild toxicity and pain. Treats abscesses, extensive carbuncle, large swelling and inflammation, sore throat, and toothache. TCM Wiki recommends 15 to 30 mg as a single dose in pills (*pilulae*) or powder (*pulvis*), while encouraging strict adherence to the dose. Contraindicates the drug to pregnant women<sup>11</sup>.

The main manifestations of Chan Su poisoning are convulsions, respiratory arrest, and gastrointestinal inflammation. The human LD<sub>50</sub> dose for oral administration of Chan Su is reported to be 0.36 mg kg<sup>-1</sup>. In general, the therapeutic dose range was 3–5 mg day<sup>-1</sup> and less than 135 mg day<sup>-1</sup> (ref.<sup>8</sup>). It is logical that according to the ACD/Labs Percepta model, the oral lethal dose of cardiotoxics is two orders of magnitude higher than the intravenous dose and one order of magnitude higher than the intraperitoneal dose<sup>12</sup>. The usual maintenance dose of cardioglycosides, specifically digoxin, is 0.125–0.250 mg day<sup>-1</sup> and the steady-state plasma therapeutic level is almost in the

---

\* panacea, remedy able to treat all diseases; *venenum bufonis*, toad venom

"homeopathic" order of  $10^{-9}$  g mL<sup>-1</sup>. In the old days, physicians gradually increased the dose of cardiotonics in patients until the patient began to vomit and then, after sedation, applied the dose reduced by half.

The therapeutic dose of Chan Su to strengthen the heart was 4–8 mg 2–3 times a day, but still caused nausea. The dose for the treatment of malignant tumors was 2 mL of 2% Chan Su in sesame oil, given by intramuscular injection. Toxic symptoms in regard to Chan Su, which can manifest as early as in 30 minutes, are nausea, vomiting, tongue numbness, abdominal pain and diarrhea, foaming in the mouth, cyanosis of the fingers, lips and, of course, heart disorders. An autopsy finding showed ecchymosis, cerebral and pulmonary edema were found too, as well as interstitial myocardial edema. Microscopic examination described interstitial myocardial congestion, lung congestion, edema and focal hemorrhage, severe cerebral edema, liver edema, renal congestion, and ballooning degeneration of the renal tubules. In addition, ocular toxicity in direct contact with the eyes has been reported<sup>8</sup>. It must be taken into account that, from the observer's point of view, poisoning with this drug has a slightly different course than pure poisoning with cardiotoxic steroids.

Poisoning with bufadienolide-containing drugs is relatively rare and milder than with digitalis glycosides because bufadienolides are less absorbed from the gastrointestinal tract (due to the fact that resibufogenin and cino-bufagin, the main components of Chan Su, are not glycosylated and therefore have lower bioavailability) have a relatively low cardiotoxic effect, but the diuretic effect is increased<sup>13</sup>.

In the textbooks we find the division of cardiotoxic steroids into cardenolides (steroid derivatives having an unsaturated five-membered lactone in the C-17 position of the steroid) and bufadienolides (where this lactone is again unsaturated but six-membered). Furthermore, we read that cardenolides are found in the plant kingdom and bufadienolides in the animal kingdom, but this division must now be considered "textbook" because it does not apply to 100% (ref.<sup>14,15</sup>).

Out of all biological activities of the positive inotropic mechanism of action of cardioglycosides, which is based on the inhibition of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> dependent ATPase, was investigated in deeper detail, here we rely on the litera-

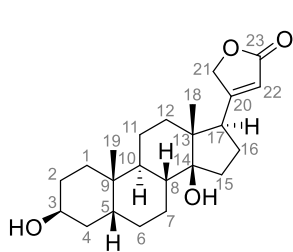
ture<sup>16,17</sup>. For sufficient bioavailability in any of the biological activity studied, the molecule must have either a series of polar substituents around the steroid backbone or a clever substitution of the aglycone mainly at the C-3 $\beta$  position. Handy substitutions include, in particular, glycosidation, esterification with polyfunctional organic acid, but also inorganic acids, i.e., sulfuric acid or phosphoric acid. Inhibition of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> dependent ATPase is, of course, associated with the treatment of heart disease, blood circulation, edema, and related diseases. The cytotoxic effects of individual cardiotoxic steroids<sup>14,18</sup> are currently the subject of intensive research, including SAR<sup>19</sup> and their use in anti-cancer therapy. Other biological activities are less common, as well as their possible application in "Western" medicine.

Chan Su prepared from extruded dried exudates of the ear and skin glands of toads, especially in China, Korea, and Japan, has been sold "since the old times" in the form of cakes (disk-like) or thin-plate (flake). At present, Chinese pharmaceutical companies also supply this product in powder form. Chan Su tends to be brownish to dark (red) brown, there is a kind of opalescence inside the sample, which usually persists even after dissolving in water. Chan Su swells with water. Unfortunately, it is often adulterated with starch or even ground toad skins<sup>8</sup>. At Alibaba internet marketplace, it can be bought, depending on the quality, for a reasonable price of around \$ 100/kg EXW as a raw powder. However, it can also be bought in Chinese pharmacies as tablets, injections (non-small cell lung cancer), solution (for the treatment of purulent wounds), drops (for restoring immunity, as an anti-radiation agent), or a patch (for rheumatic and other pain) and the like. Many publications also deal with the quality of production of this preparation (e.g.<sup>20</sup>). An overview of analytical chemistry for traditional Chinese medicinal products also lists Chan Su<sup>21</sup>, and a nice overview deals with the analysis of cytotoxic bufadienolides<sup>22</sup>. Recently, there have been a number of patents granted for various improvements in Chan Su's production (e.g.<sup>23</sup>).

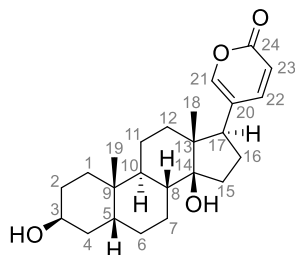
The biological activity of Chan Su is linked to the three main groups of substances present: bufadienolides, indole alkaloids, and peptides (including polypeptides), there are also other components present such as adrenaline, sterols (i.e. without lactone at C-17), cyclic amides, polysaccharides, amino acids, organic acids and many other substances. In Chan Su was also found a steroid with a five-membered unsaturated lactone, cardenobufotoxin<sup>25,26</sup>.

Thus far, more than 140 bufadienolides have been isolated from Chan Su. They are found responsible for significant antitumor, cardiotoxic, and anesthetic effects<sup>8</sup>. Of these, more than half are "genins" (aglycones alone), 16 dicarboxylic acid derivatives, where an amino acid (arginine) can be attached at the other end of the acid, and 8 sulfuric acid esters.

The steroid skeleton of bufadienolides can contain a variety of substituents, including hydroxyl, epoxide, acetyl, keto, medium and long chain fatty acids, thiosulfonic acid, and others. Formates or methyl ethers are less



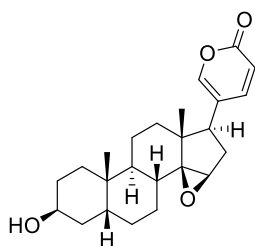
cardenolide, 3 $\beta$ ,14-dihydroxy-5 $\beta$ -card-20(22)-enolide (digitoxigenin)



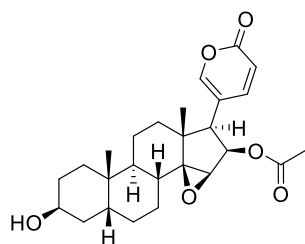
bufadienolide, 3 $\beta$ ,14-dihydroxy-5 $\beta$ -bufa-20,22-dienolide (bufalin)

Fig. 1. Chan Su disc-like and thin-plate<sup>24</sup>

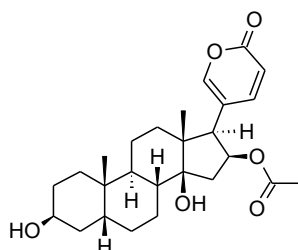
common. The hydroxyl group may be in positions 1 $\beta$ , 3 $\beta$ , 5 $\beta$ , 11 $\beta$ , 12 $\alpha$ , 12 $\beta$ , 14 $\beta$ , 16 $\beta$ , and 19. In addition, there may be carbonyl in positions 3, 11, 12, and 19. Exceptionally, the methyl group on carbon C-10 may be replaced by hydroxy, peroxy (19-norbufadienolides), or oxidized to a carboxyl group. Norbufadienolides, bufogargarizins with modified rings A and B were also isolated: A-nor, B-homo and A-homo, B-nor<sup>27</sup>. There are also worth mentioning 20,21-epoxybufadienolides<sup>28</sup>.



resibufogenin



cinobufagin

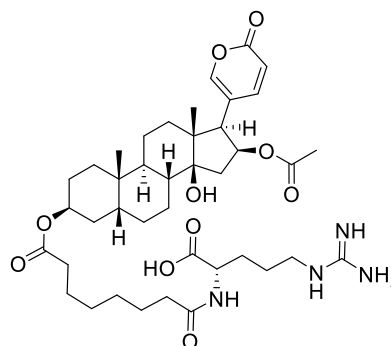


bufotalin

Aglycones can be divided into classical bufadienolides with a 14 $\beta$ -hydroxy group and substances derived from resibufogenin containing a  $\beta$ -oriented 14,15-epoxide ring in the molecule. According to the Chinese Pharmacopoeia, Chan Su should contain not less than 6% resibufogenin and cinobufagin, which are the steroids found in the highest concentrations.

Another nonconjugated component is also bufotalin, which was suggested i.a. as a remedy for human melanoma<sup>29</sup>.

Sometimes a group of so-called toxins is described as a separate group of bufadienolides, in which the aglycone is substituted on the hydroxyl in position 3 $\beta$  as a hemiester of a bifunctional organic acid (usually suberic acid) which has the opposite carboxyl substituted by an amino acid (most often arginine).

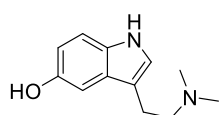
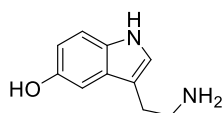


bufotoxin

Indole alkaloids of the bufotenine type are present in Chan Su in an amount of almost 8% and include the 15 water-soluble compounds of this type identified so far, including serotonin itself. They carry neurotoxic and hallucinogenic activity, and this has led drug experimenters so far that they have licked toads<sup>30</sup>. Bufotenine itself, 5-hydroxy-*N,N*-dimethyltryptamine, is challenged as a psychomimetic substance even by Shulgin<sup>31</sup>, who prepared it synthetically from 5-hydroxyindole.

The third essential component of Chan Su are peptides and proteins. There is not much data on their biological activity, but it is mentioned that they are cytostatic,



bufotenine (mappin,  
5-HO-DMT)

serotonin

antimicrobial, antioxidant, immune and metabolic<sup>32</sup>, limiting tumour cell proliferation and angiogenesis, as well as proteins affecting apoptosis, which have to do with cell structure, catalytic and transport processes, or with an increase in transdermal penetration<sup>33</sup>. An analysis of 153 peptides from Chan Su was published<sup>34</sup>. Recall that in the skin secretion of the Chinese frog *Odorrana tormota*, peptides promoting wound healing were also found and characterized<sup>35</sup>. In addition, antimicrobial peptides were found in the skin secretions of other frogs<sup>36</sup>.

There are listed in the literature very different activities of Chan Su. For instance, at the time of the coronavirus pandemic, Chan Su was found<sup>37</sup> to improve respiratory function in patients severely affected by COVID-19 infection. The use of Chan Su for the treatment of AIDS<sup>38</sup> and as an adjuvant to increase immunity<sup>39</sup> has been patented. Chan Su affects anxiety and depression<sup>40,41</sup>, even in the pharmacopuncture application to defined acupuncture points<sup>42</sup>, anesthesia with Chan Su in the pharmacopuncture application is also described<sup>43</sup>. Chan Su was used to cure a drug dependence<sup>44</sup>. Strange as it may seem, publication can be found describing the positive effect of Chan Su on radiation-induced inflammation<sup>45</sup>, which may be related to the fact that bufalin affects the repair of DNA defects caused by X-rays<sup>46</sup>. A less advantageous property for pharmacotherapy is the fact that bufalin inhibits CYP3A4 *in vitro* and *in vivo*<sup>47</sup>.

There are certainly worth mentioning the patents, which present Chan Su as a remedy for erectile impotence and premature ejaculation<sup>48,49</sup>. However, a report suggests<sup>50</sup> that the use of a topical preparation containing bufadienolides led to the illness and death of five men in 1993–1995; a similar aphrodisiac called "Stone of Love"<sup>51</sup> or "Jamaican Stone"<sup>52</sup> killed other men<sup>53</sup>.

Examples of alchemical mixtures that will look at least strange for "Western medicine" are: Liu-Shen-Wan (a mixture of musk, bezoar, Chan Su, pearls, and realgar), a product with anti-inflammatory, anti-tumor, antiviral, analgesic, antibacterial and immunomodulatory activity. It is also used in infectious diseases (influenza)<sup>54</sup> and e.g. even in polybacterial sepsis caused by appendix perforation<sup>55</sup>. She-Xiang-Bao-Xin (a mixture of musk, gallstones, Chan Su, and four herbal drugs) is used in coronary heart disease and hypertension<sup>56</sup>. A mixture of Chan Su, peach seeds, gardenia, almonds, sticky rice, white pepper, and egg white has been patented as a remedy for epilepsy<sup>57</sup>. Another mixture of Chan Su and arsenic has been patented as a drug for swine virus fever<sup>58</sup>. The Chinese Pharmacopoeia lists several dozen of these preparations; contemporary patent literature has an order of magnitude more. Ac-

ording to Forbes magazine, millions of doses of preparations with Chan Su are sold each year<sup>59</sup>.

## REFERENCES

1. Withering W.: *An Account of the Foxglove and Some of Its Medical Uses: With Practical Remarks on Dropsy and Other Diseases*. Swiney, Birmingham 1775.
2. China Pharmacopoeia Committee, *2015 Edition of Chinese Pharmacopoeia*. Chemical Industry Press, Beijing 2015.
3. Pantanowitz L., Naude T. W., Leisewitz A.: *S. Afr. Med. J.* 88, 1408 (1998).
4. Wei Z.: *Linchuang Junyi Zazhi* 44, 105 (2016).
5. Wang X. L., and 9 co-authors: *J. Asian Nat. Prod. Res.* 13, 383 (2011).
6. Rathore S. S., Curtis J. P., Wang Y., Bristow M. R., Krumholz H. M.: *JAMA, J. Am. Med. Assoc.* 289, 871 (2003).
7. Muzzarelli S., Stricker H., Pfister O., Foglia P., Moschovitis G., Mombelli G., Brunner-La Rocca H.: *Q. J. Med.* 104, 309 (2011).
8. Wei W.-L., 9 co-authors: *J. Ethnopharm.* 237, 215 (2019).
9. Patočka J.: *Voj. Zdrav. Listy* 77, 160 (2008).
10. Chen S.: *Wai Ke Zheng Zong: A Compendium on External Diseases in Traditional Chinese Medicine*, Ren Min Wei Sheng Chu Ban She, Beijing 1956.
11. <https://tcwiki.com/wiki/chan-su>, downloaded February 13, 2021.
12. ACD/Labs: *Percepta*, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, release 2018.2.5.
13. Melichar B. and 4 coauthors: *Chemická léčiva*, third edition, p. 380. Avicenum, Prague 1987.
14. Gwaltney-Brant S. M., in the book: *Small Animal Toxicology (Second Edition)*, p. 643. Elsevier Saunders, St. Louis 2006.
15. Aronson J. K., in the book: *Manson's Tropical Infectious Diseases (Twenty-third Edition)*, p. 1128. Elsevier Saunders St. Louis, 2014.
16. Bejček J., Spiwok W., Kmoníčková E., Ruml T., Rimpelová S.: *Chem. Listy* 115, 4 (2021).
17. Kršiak M.: *Remedia* 24, 486 (2014).
18. Zhan X., Wu H., Wu H., Wang R., Luo C., Gao B., Chen Z., Li Q.: *J. Ethnopharmacol.* 246, 112178 (2020).
19. Yue-Zhong, Chao-Zhao, Wu W. Y., Fan T. Y., Li N. G., Min-Chen, Duan J. A., Shi Z. H.: *Eur. J. Med. Chem.* 189, 112038 (2020).
20. Fang Y.-G., Wang P.-F., Zhu H., Chen L.-M., Wang Z.-M., Gao H.-M., Fu X.-T., Nie J.: *Zhongguo Zhongyao Zazhi* 45, 1726 (2020).
21. Drašar P., Moravcová J.: *J. Chromatogr. B* 812, 3 (2004).
22. Ye M., Guo H., Guo H., Han J., Guo D.: *J. Chromatogr. B* 828, 86 (2006).
23. Yan Q., Bu S., Hua Y.: CN210814181-U (2020); Derwent Primary Accession Number: 2020-603454.
24. <http://www.teacher.aedocenter.com/mywebB/nb-10/>

- ko-32.htm, downloaded February 11, 2021.
25. Fujii Y., Shimada K., Niizaki Y., Nambara T.: *Tetrahedron Lett.* *34*, 3017 (1975).
  26. Ro J. S., Lee K. S., Park W. Y., Oh K. J., Ahn B. T., Eo K. C., Jeong D. R., Nambara T.: *Saengyak Hakhoechi* *21*, 130 (1990).
  27. Tian H. Y., and 9 co-authors: *Chem. - Eur. J.* *16*, 10989 (2010).
  28. Kamano Y., Nogawa T., Ayano Y., Hayashi M., Inoue M., Drašar P., Pettit G. R.: *J. Nat. Prod.* *65*, 1001 (2002).
  29. Pan Z., and 10 co-authors: *Oncol. Rep.* *41*, 2409 (2019).
  30. <https://www.addictioncenter.com/news/2019/10/trendy-psychedelic-toad-venom/>, downloaded February 12, 2021.
  31. Shulgin A., Shulgin A.: *Tikhhal*, p. 473. Transform Press, Berkeley 1997.
  32. Huo Y. G., Xv R. X., Ma H. Y., Zhou J., Xi X. P., Wu Q. A., Duan J. A., Zhou M. N., Chen T. B.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* *157*, 156 (2018).
  33. Ma H., Zhou J.: CN112007167-A (2020); Derwent Primary Accession Number: 2020-C2163S.
  34. Mariano D. O. C., Messias M. D. G., Spencer P. J., Pimenta D. C.: *J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.* *25*, e20190029 (2019).
  35. He X., and 10 co-authors: *Front. Immunol.* *10*, 2421 (2019).
  36. Gomes A., Teixeira C., Ferraz R., Prudêncio C., Gomes P.: *Molecules* *20*, 1743 (2017).
  37. Hu F., Chen J., Chen H., Zhu J., Wang C., Ni H., Cheng J., Cao P., Hu X.: medRxiv preprint, doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.20.20107607>.
  38. Du W.: CN102727529-A (2013); Derwent Primary Accession Number: 2013-B04004.
  39. Shimizu Y., Ito C., Inoue E.: JP2005082504-A, JP4606715-B2 (2005); Derwent Primary Accession Number: 2005-257374.
  40. Shirzad S., Neamati A., Vafae F., Ghazavi H.: *Res. Pharm. Sci.* *15*, 571 (2020).
  41. Ma H., Tao W., Li N., Duan J., Zhou J.: CN112138028-A (2021); Derwent Primary Accession Number: 2021-03178G.
  42. Choi M., Kim K., Lee J.-E., Suh J.-W., Kim S.-C., Kwon K. R., Cho S.-H.: *J. Pharmacopunct.* *17*, 27 (2014).
  43. Kwon K., Seo H.-S.: *J. Korean Med. Ophthalmol. Otorhinolaryngol. Dermatol.* *30*, 165 (2017).
  44. Yuan B., Sun B.: CN101011476-A; CN101011476-B (2008); Derwent Primary Accession Number: 2008-B61751.
  45. Li Y., Lin J. M., Xiao J., Li Z. X., Chen J. S., Wei L., Wang X. W.: *Exp. Anim.* *69*, 354 (2020).
  46. Pastor N., Cortes F.: *DNA Repair* *2*, 1353 (2003).
  47. Li H. Y., Xu W., Zhang X., Zhang W. D., Hu L. W.: *Acta Pharmacol. Sin.* *30*, 646 (2009).
  48. Ji J. W., Kang J. K., Kim Y. H., Jung S. H., Cho H. J., Lee K. H.: US 6726935 (2004).
  49. Shin G. H.: KR2003030978-A (2003); Derwent Primary Accession Number: 2003-613704.
  50. Centers for Disease Control and Prevention: *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* *44*, 853 (1995).
  51. Sandroni P.: *Clin. Auton. Res.* *11*, 303 (2001).
  52. Diaz-Anton B., Alonso-Deniz G., Perez-Vela J. L., de Nicolas J. M. M., Rubio-Alonso B., Jurado-Roman A., Miguel-Gutierrez A., Martin-Asenjo R.: *Rev. Port. Cardiol.* *36*, 143 (2017).
  53. Barry T. L., Petzinger G., Zito S. W.: *J. Forensic Sci.* *41*, 1068 (1996).
  54. Ma Q., Huang W., Zhao J., Yang Z.: *J. Ethnopharm.* *252*, 112584 (2020).
  55. Ma H., Kou J., Zhu D., Yan Y., Yu B.: *Int. Immunopharm.* *6*, 1355 (2006).
  56. Lu L., Sun X., Chen C., Qin Y., Guo X.: *Frontiers Pharmacol.* *9*, 1161 (2018).
  57. Lu J.: CN111658734-A (2020); Derwent Primary Accession Number: 2020-92255T.
  58. Zhu T., He G., Wu Q.: CN101194915-A (2008); Derwent Primary Accession Number: 2008-M15869. Dolan K. A.: *Forbes* May 11 (2007); <https://www.forbes.com/global/2007/0521/052.html?sh=7d173b8659e4>, downloaded February 12, 2021.

## Abstract

An important representative of biologically active natural substances, Chan Su, has recently been the focus of great interest in evidence-based scientific research. While until 1994 no more than single papers on this topic were published annually, in the period 1995–2010 there appeared tens, and in recent years several tens. This indicates a great interest of experts in the components of Chan Su, and thus in bufadienolides and especially in their influence on various types of tumours. The corresponding medicinal drug, being used for several thousand years, is still rightly in the centre of attention. In the toad venom (*Venenum bufonis*), nature has created a real library of biologically active substances, which people in the Orient learned to use thousands of years ago and which they produce, use and examine to this day.