

# INVESTIGATION ANTITUMOR ACTIVITY OF THE ALLERGEN-REMOVED EXTRACT FROM THE RHUS VERNICIFLUA

*Choi WonCheol<sup>1</sup>, Z.S. Smirnova<sup>2</sup>, I.Y. Kubasova<sup>2</sup>, A.Y. Baryshnikov<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> *K.H.W. Academician Zhu Institute, Incheon, Korea*

<sup>2</sup> *N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS*

## ABSTRACT

Our study is devoted to investigation of antitumor activity of allergen-removed extract from Rush verniciflua tree named as ACM909Q. There were used three- and nine - percent extract concentrations of ACM909Q at per os administration during 5 or 10 days. It was shown that nine - percent extract of ACM909Q in 600 mg/kg dose exerts antitumor effect causing growth inhibition of uterine cervix cancer RShM-5 to 86%. Antitumor effect of ACM909Q was maintained during two weeks after treated. Life span of treatment animals was increased by 51% in comparison with control mice. Lower antitumor efficacy three - percent extract of ACM909Q in 300 and 600 mg/kg doses at per os administration during 5 possesses on breast carcinoma Ca-755 (TGI = 45% and 36%). Life span of mice with Ca-755 in comparison with control animals was not observed in this scheme of administration of ACM909Q. In colon adenocarcinoma AKATOL antitumor efficiency of 3 % Rhus verniciflua extract was observed only at 600 mg/kg dose daily during 5 days (TGI = 46%).

## ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ БЕЗАЛЛЕРГЕННОГО ЭКСТРАКТА ИЗ RHUS VERNICIFLUA

*Цой Вончель<sup>1</sup>, З.С. Смирнова<sup>2</sup>, И.Ю. Кубасова<sup>2</sup>, А.Ю. Барышников<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> *K.H.W. Academician Zhu Institute, Incheon, Korea*

<sup>2</sup> *Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН*

## РЕЗЮМЕ

Данная работа посвящена исследованию противоопухолевой активности безаллергенного экстракта из *Rhus verniciflua*, названного соединением ACM909Q. Установлено, что 3 и 9% экстракты ACM909Q из *Rhus verniciflua* в дозе 600 мг/кг вызывают торможение роста перевиваемого рака шейки матки РШМ-5 на 86% при ежедневном введении внутрь в течение 5 дней. Терапевтический эффект на РШМ-5 сохраняется в течение двух недель после окончания лечения. На этой модели опухоли также выявлено увеличение продолжительности жизни опытных мышей по сравнению с контрольными животными на 51%. Более низкий, но статистически достоверный, противоопухолевый эффект 3% экстракт из *Rhus verniciflua* проявляет на аденокарциноме молочной железы Ca-755 в дозе 300 мг/кг (ТРО = 45 %) и аденокарциноме толстой кишки АКАТОЛ в дозе 600 мг/кг (ТРО = 46%) при ежедневном введении внутрь в течение 5 дней.

**Введение.** В настоящее время препараты растительного происхождения нашли широкое применение при лечении злокачественных новообразований. Это ингибиторы митоза: винкаалколоиды и таксаны, а также ингибиторы топоизомераз ДНК [3]. Поиск новых агентов природного происхождения, обладающих противоопухолевой активностью, является актуальной задачей.

Восточное лаковое дерево *Rhus verniciflua* зарегистрировано в фармакопее трех стран: Корея, Китай и Япония как лечебное средство. При использовании в медицине одного вещества из лакового дерева без каких-либо добавок в 0,01% случаев развивается аллергическая реакция в виде высыпаний и волдырей на коже.

К настоящему времени получен безаллергенный экстракт из *Rhus verniciflua*, названный как препарат ACM909Q. Установлено, что IC<sub>50</sub> безаллергенного экстракта на клеточных линиях опухолей PC-3, SRB, SW-620, ACHN, A459 и MOLT-4F составляет свыше 2000 мг/кг.

Целью нашего исследования являлось изучение противоопухолевой активности экстракта из *Rhus verniciflua* (ACM909Q) на перевиваемых моделях опухолей мышей.

**Материалы и методы.** Работа выполнена на 610 мышцах - разных линий: C<sub>57</sub>BL/6, CBA, BALB/c, а также гибридах BDF<sub>1</sub> (C<sub>57</sub>BL/6 x DBA/2) массой 18-25 гр.

Животных получали из отдела экспериментальных животных РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН и содержали в виварии на обычном рационе питания.

Противоопухолевая активность экстракта из *Rhus verniciflua* изучена на 5 моделях перевиваемых солидных опухолей: аденокарциноме молочной железы Са-755 [4], меланоме В-16 [5], аденокарциноме толстой кишки АКАТОЛ [2] и раке шейки матки РШМ-5 [1], а также лимфоцитарной лейкемии Р-388 [5].

Для перевивки солидных опухолей, выделенную опухолевую ткань измельчали ножницами до гомогенной консистенции, добавляли среду 199 в соотношении 1:10 и 0,5 мл полученной суспензии (приблизительно 50 мг опухолевой массы) вводили подкожно в область правой подмышечной впадины мышам.

Клетки лимфоцитарной лейкемии Р-388 вводили внутрибрюшинно по  $5 \times 10^5$  клеток в 0,3 мл среды 199.

Лечение солидных опухолей начинали через 48 часов, а лейкоза Р-388 через 24 часов после перевивки опухоли. Лечение проводили ежедневно в течение 5 или 10 дней при введении экстракта из *Rhus verniciflua* внутрь. Наблюдение за мышами проводили до их гибели.

В опытах использовали 3% и 9% экстракты из *Rhus verniciflua*. Для сравнения противоопухолевого эффекта экстрактов разной концентрации вычисляли дозы активного начала - препарата АСМ909Q в мг/кг.

Противоопухолевое действие экстракта из *Rhus verniciflua* на перевиваемых опухолях мышей оценивали по двум критериям: торможению роста опухоли (ТРО, %) и увеличению продолжительности жизни опытных животных по сравнению с контрольными (УПЖ, %).

Торможение роста опухоли вычисляли по формуле:

$$TPO = \frac{V_k - V_0}{V_k} \times 100\%,$$

где  $V_k$  - средний объем опухоли в контрольной группе на определенный срок измерения ( $\text{мм}^3$ );

$V_0$  - средний объем опухоли в опытной группе на определенный срок измерения ( $\text{мм}^3$ ).

Увеличение продолжительности жизни вычисляли по формуле:

$$UPJ = \frac{СПЖ_0 - СПЖ_k}{СПЖ_k} \times 100\%,$$

где СПЖ<sub>к</sub> - средняя продолжительность жизни животных в контрольной группе (дни);

СПЖ<sub>0</sub> - средняя продолжительность жизни животных в опытной группе (дни).

Группы формировали с учетом получения статистически достоверных результатов: контрольная группа состояла не менее чем из 12 мышей, опытная группа - 8 животных.

При статистической обработке результатов опытов применяли метод Стьюдента-Фишера. Результаты считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и обсуждение.

1. *Зависимость противоопухолевой активности 3% экстракта из Rhus verniciflua (препарат АСМ909Q) от дозы и длительности введения.*

Показано, что 3% экстракт из *Rhus verniciflua* - препарат АСМ909Q в дозах 300 и 600 мг/кг при ежедневном введении внутрь в течение 5 дней оказывает на аденокарциному молочной железы Са-755 статистически достоверный противоопухолевый эффект: ТРО = 45 - 36% (табл. 1). Следует заметить, что при увеличении длительности лечения препаратом АСМ909Q в дозе 300 мг/кг с 5 до 10 дней терапевтический эффект его несколько снижается по критерию торможения роста опухоли (45 → 26%) и увеличивается по критерию УПЖ (91 → 111%).

На аденокарциноме толстой кишки АКАТОЛ изучена противоопухолевая активность 3% экстракта из *Rhus verniciflua* при введении препарата АСМ909Q внутрь в дозах 300, 600 и 1200 мг/кг в течение 5 и 10 дней (табл.2). Из данных таблицы видно, что препарат АСМ909Q в дозе 600 мг/кг при ежедневном введении в течение 5 дней тормозит рост опухоли на 43 - 46%. Увеличение длительности введения препарата до 10 дней не приводит к увеличению его терапевтического эффекта. Установлено также, что при увеличении дозы препарата АСМ909Q до 1200 мг/кг при ежедневном введении в течение 5 и 10 дней терапевтический эффект снижается до полного его исчезновения.

При изучении противоопухолевой активности 9% экстракта из *Rhus verniciflua* на лимфоцитарной лейкемии Р-388 препарат АСМ909Q вводили в широком диапазоне доз от 300 до 3300 мг/кг ежедневно внутрь в течение 5 и 10 дней (табл. 3). Из данных таблицы 3 видно, что на этой модели опухоли не выявлено ни противоопухолевой активности, ни токсичности экстракта. Продолжительность жизни опытных мышей с Р-388 не отличается от продолжительности жизни животных в контроле.

2. *Зависимость противоопухолевой активности экстракта из Rhus verniciflua (препарат АСМ909Q) от его концентрации.*

Как было показано выше препарат АСМ909Q в дозах 300 и 600 мг/кг при ежедневном пероральном введении в течение 5 дней оказывает на аденокарциному молочной железы Са-755 статистически достоверный противоопухолевый эффект (ТРО = 45%). Разведение 3% экстракта из *Rhus verniciflua* в 2 и 5 раз и введение его в течение 5 и 10 дней в разных дозах активного начала приводит к резкому снижению терапевтического эффекта (табл. 4). Однако снижение противоопухолевой активности 1,5% и 0,6% экстрактов по критерию ТРО не приводит к уменьшению продолжительности жизни опытных животных по сравнению с контрольными.

На меланоме В-16 была изучена противоопухолевая активность 3% и 9% экстракта из *Rhus verniciflua* (табл. 5). Как видно из таблицы, независимо от концентрации экстракта, длительности его введения (5 или 10 дней) препарат АСМ909Q ни в одной дозе не проявил противоопухолевой активности на меланоме В-16.

На раке шейки матки РШМ-5 изучена противоопухолевая активность 3 и 9% экстракта из *Rhus verniciflua* в широком диапазоне доз активного начала от 150 мг/кг до 3300 мг/кг. Данные, суммированные в таблице 6, показывают, что 3% экстракт из *Rhus verniciflua* в дозе 30 мл/кг (750 мг/кг активного начала) проявляет умеренный противоопухолевый эффект непосредственно после окончания ежедневного, перорального введения

в течение 5 дней: ТРО = 55% ( $p < 0,05$ ). В то же время, 9% экстракт препарата АСМ909Q в дозе 600 мг/кг вызывает длительный, в течение 2 недель, достаточно высокий противоопухолевый эффект, который проявляется торможением роста опухоли (84% → 65%) и увеличением на 51% продолжительности жизни опытных животных по сравнению с контрольными. Увеличение дозы препарата АСМ909Q до 2700 и 3300 мг/кг приво-

Таблица 1

**Изучение противоопухолевой активности 3% экстракта из *Rhus verniciflua* на аденокарциноме молочной железы мышей Ca-755 при приеме внутрь в течение 5 и 10 дней**

Доза (мг/кг)	Курсовая доза (мг/кг)	Дни введения	ТРО, %	
			Дни от начала	
			7	
600	3000	2 – 6	36*	
300	1500	2 – 6	45*	
	3000	2 – 11	26**	

Примечание: \* -  $p = 0,01$ ; \*\* -  $p = 0,05$  по отношению к контролю; \*\*\* - знак “+” – означает уменьшение продолжительности жизни опытных мышей по сравнению с контролем.

Таблица 2

**Изучение противоопухолевой активности 3% экстракта из *Rhus verniciflua* на аденокарциноме толстой кишки мышей AKATOL при приеме внутрь в течение 5 и 10 дней**

Доза (мг/кг)	Курсовая Доза (мг/кг)	Дни введения	Дни от	
			7	15
300	1500	2 - 6	9	15
	3000	2 - 11	+12*	+5*
600	3000	2 - 6	19	46**
	6000	2 - 11	+3*	6
1200	6000	2 - 6	+3*	+7*
	12000	2 - 11	+7*	+9*

Примечание: \* - знак “+” - означает стимуляцию роста опухоли, но  $p > 0,05$ ; \*\* -  $p = 0,02$  и \*\*\* -  $p = 0,01$  по отношению к контролю.

Таблица 3

**Изучение противоопухолевой активности 9% экстракта из *Rhus verniciflua* на лимфоцитарной лейкемии P-388 при приеме внутрь в течение 5 и 10 дней**

Доза (мг/кг)	Курсовая доза (мг/кг)	Дни введения	Средняя продолжительность жизни (д)
300	1500	1 – 5	10,4 ± 0
	3000	1 – 10	9,7 ± 0
600	3000	1 – 5	10,1 ± 0
	6000	1 – 10	9,3 ± 0
900	4500	1 – 5	10,3 ± 0
	9000	1 – 10	9,0 ± 0
1200	6000	1 – 5	10,0 ± 0
	12000	1 – 10	10,7 ± 0
1500	7500	1 – 5	10,7 ± 0
2100	10500	1 – 5	9,7 ± 0
2700	13500	1 – 5	10,2 ± 0
3300	16500	1 – 5	10,5 ± 0

Примечание: \* - СПЖ мышей в контрольной группе - 10,0 ± 0,3 дня.

дит к снижению терапевтического эффекта на РШМ-5. Эти данные свидетельствуют о том, что нами выявлена высокочувствительная опухоль - РШМ-5 к экстракту из *Rhus verniciflua*, а также, что терапевтический эффект на этой модели зависит от концентрации экстракта.

Кроме того, данные по противоопухолевой активности экстракта из *Rhus verniciflua* дают основание предполагать, что в клинике препарат АСМ909Q будет обладать терапевтическим действием лишь в отношении некоторых видов опухолей.

Таблица 4

**Изучение противоопухолевой активности экстракта из *Rhus verniciflua* разной концентрации на аденокарциноме молочной железы Ca-755 при приеме внутрь в течение 5 и 10 дней**

Концентрация экстракта, %	Доза (мг/кг)	Курсовая доза (мг/кг)	Дни введения	Дни
				7
3	600	3000	2 – 6	36
3	300	1500	2 – 6	4
		3000	2 - 11	26
1,5	150	750	2 - 6	+7
		1500	2 - 11	+3
0,6	120	20	2 - 11	10
0,6	60	300	2 - 6	1
		600	2 - 11	+15

Примечание: \* -  $p < 0,05$  по отношению к контролю; \*\* - знак “+” означает стимуляцию роста опухоли и уменьшение продолжительности жизни опытных животных по сравнению с контрольными,  $p > 0,05$ .

Таблица 5

**Изучение противоопухолевой активности 3% и 9% экстракта из *Rhus verniciflua* на меланоме В-16 при приеме внутрь в течение 5 и 10 дней**

Концентрация экстракта, %	Доза (мг/кг)	Курсовая доза (мг/кг)	Дни введения
3	300	1500	2 - 6
		3000	2 - 11
3	600	3000	2 - 6
		6000	2 - 11
3	1200	6000	2 - 6
		12000	2 - 11
9	300	3,3	2 - 6
	600	6,7	2 - 6
	1200	13,3	2 - 6

Таблица 6

**Изучение противоопухолевой активности 3% и 9% экстракта из *Rhus verniciflua* на раке шейки матки РШМ-5 при приеме внутрь в течение 5 дней**

Концентрация экстракта, %	Доза (мг/кг)	Курсовая доза (мг/кг)	ТРО <sub>2</sub> , %	
			Дни от начал	
			7	13
3	150	750	+8	9
	300	1500	21	16
	450	2250	29	17
	600	3000	21	6
	750	3750	55*	35
9	300	1500	20	20
	600	3000	84*	86*
	900	4500	89	49
	2100	10500	63*	16
	2700	13500	63*	+16**
	3300	16500	39	+17

Примечание: \* -  $p < 0,05$  по отношению к контролю; \*\* - знак “+” – означает стимуляцию роста опухоли.

**Выводы.**

1. На аденокарциноме молочной железы Са-755 и аденокарциноме толстой кишки АКАТОЛ выявлен кратковременный, но статистически достоверный противоопухолевый эффект 3% экстракта из *Rhus verniciflua* (ТРО = 45 и 46%, соответственно) в дозах 300 и 600 мг/кг при ежедневном введении внутрь в течение 5 дней. На этих моделях не выявлено зависимости терапевтического эффекта от длительности введения экстракта.

2. Не выявлен противоопухолевый эффект 3% и 9% экстракта из *Rhus verniciflua* на меланоме В-16 и 9% экстракта на лимфоцитарной лейкемии Р-388.

3. Установлена высокочувствительная опухоль - РШМ-5 к 9% экстракту из *Rhus verniciflua*, на которой препарат АСМ909Q в дозе 600 мг/кг проявляет достаточно высокий противоопухолевый эффект в течение двух недель: ТРО = 84 - 65% и УПЖ = 51%.

4. Установлена зависимость противоопухолевого эффекта экстракта из *Rhus verniciflua* от его концентрации. Уменьшение концентрации 3% экстракта из *Rhus verniciflua* в 2 и 5 раза на Са-755 приводит к резкому снижению его терапевтического эффекта. Увеличение концентрации экстракта из *Rhus verniciflua* на РШМ-5 с 3% до 9% вызывает более высокий и длительный, в течение двух недель, терапевтический эффект.

5. Не выявлены проявления токсичности (гибели опытных мышей раньше контрольных) экстракта из *Rhus verniciflua* при введении внутрь максимально возможного объема 9% суспензии (0,7 мл/мышь), что составляет дозу активного соединения - 3300 мг/кг.

6. Терапевтическая доза препарата АСМ909Q на чувствительных к нему перевиваемых опухолях мышей составляет 600 мг/кг при ежедневном введении внутрь в течение 5 дней.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Аманджолов Б.С., Ирб Е.А., Софьина З.П. Характеристика перевиваемого рака шейки матки (РШМ-5). // Вопр. онкологии, 1972, **18**, № 5, С. 96-98.
2. Зинзар С.Н., Лейтина Б.И., Туляев Б.Г. Злокачественные опухоли, возникшие из сингенных трансплантатов эмбрионального желудочно-кишечного тракта. // Вопр. онкологии, 1972, **18**, № 4, С. 89-92.
3. Химиотерапия опухолевых заболеваний. Под ред. Н.И. Переводчиковой, 2000, С. 12-25.
4. Dunham L.J., Stewart H.L. A survey of transplantable and transmissible animal tumors. // J.Nat. Cancer Inst., 1953, **13**, № 5, P. 1299-1377.
5. Geran R.S., Greenberg N.H., Macdonald M.M. Protocols for screening chemical agents and natural products against animal tumors and other biological systems. // Cancer Chemother. Rep., 1972, Part 33, **3**, № 2, P. 9-11.