

センソ含有製剤「救心」の抗腫瘍作用

平井 康晴^{*,a}, 庄司 政満^a, 佐藤 仁美^a, 矢作 由加里^a
森下 信一^a, 竹谷 孝一^b, 糸川 秀治^b

^a救心製薬株式会社, ^b東京薬科大学

Antitumor Effect of "Kyushin" a Drug Containing Senso (Ch'an Su)

YASU HARU HIRAI,^{*,a} MASAMICHI SHOJI,^a HITOMI SATO,^a YUKARI YAHAGI,^a
SHIN-ICHI MORISHITA,^a KOICHI TAKEYA^b and HIDEJI ITOKAWA^b

^aKyushin Pharmaceutical Co., Ltd., 1-31-7, Wada, Suginami-ku, Tokyo 166, Japan

^bTokyo College of Pharmacy, 1432-1, Horinouchi, Hachioji, Tokyo 192-03, Japan

(Received February 8, 1995)

Antitumor effects of "Kyushin" (KY), a medicine containing Senso (Ch'an Su) were studied by using mice bearing Sarcoma 180 ascites tumor or solid tumor. By repeated oral administration of KY, the growth of the ascites was inhibited at a dose of 500 mg/kg/day for 15 days and the growth of the solid tumors at a dose of 1,000 mg/kg/day for 14 days. These inhibitory effects were considered to be caused by bufalin, a constituent of Senso reportedly having a differentiation- and apoptosis-inducing effect on human leukemia cell HL-60. Repeated oral administration of KY at a dose of 500 mg/kg/day, for 5 days, recovered the water-immersion stress-induced decrease of the rate of carbon clearance in mice, which suggests that KY activates the immune response system. This effect may partly contribute to the antitumor effect. Repeated oral administration of KY at a dose of 1,000 mg/kg/day for 18 weeks suppressed the growth of papillomas in the two-stage carcinogenesis induced by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) and 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) in mice.

Keywords—Ch'an Su; bufalin; Kyushin; antitumor activity; Sarcoma 180; carbon clearance; two-stage carcinogenesis

「救心」(KY)はセンソを含有する強心剤で、「動悸」、「息切れ」、「気つけ」の薬として古くから用いられている。KYは強心¹⁾,呼吸興奮²⁾,利尿³⁾,などの薬理作用を有することが報告されており,これらの薬理作用は主としてセンソ成分のbufadienolidesによることも知られている⁴⁾。bufadienolidesはdigitoxin等のcardenolidesと一部類似した薬理作用を示す⁵⁾が,その吸収,排泄は速やかで⁶⁾,連用によっても蓄積性を示さない⁷⁾ことが確認されている。センソおよびbufadienolidesには循環器系に対する作用の他に抗腫瘍作用^{8,9)}も以前より知られている。近年,bufadienolidesの一種であるbufalinにヒト白血病細胞に対する分化誘導作用¹⁰⁾,およびアポトーシス誘起作用¹¹⁾が見出され,センソの抗腫瘍作用のメカニズムが明らかにされつつある。このようにセンソ成分の抗腫瘍作用が注目されていることから,我々はKYの抗腫瘍活性を経口投与で確認するため,マウスにおけるSarcoma 180腹水腫瘍¹²⁾および固形腫瘍¹³⁾に対する作用を検討した。また,免疫系に対するKYの作用をみるため,ストレスを負荷したマウス網内系の食食活性に対する作用を検討した。更

に,イニシエーター,7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)とプロモーター,12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)によるマウス皮膚二段階発癌¹⁴⁾に対する作用も検討した。

実験の部

実験材料

1. 使用薬物

KY(救心製薬)は90 mg中に日局センソ5 mg,日局ゴオウ3 mg,日局ニンジン25 mg,ジャコウ1 mg,レイヨウカク6 mg,動物胆8 mg,シンジュ7.5 mg,およびリュウノウ2.7 mgを含有する。bufalinはカラムクロマトグラフィーを用いた岡野と小松¹⁵⁾の方法により,当研究所でセンソより単離精製したもの⁹⁾を使用した。別に,FT-207(和光),cyclophosphamide (Aldrich),carboxymethyl-cellulose (CMC, 国産化学),7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA, Sigma),12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA, 和光),quercetin (和光)およびzymosan (東京化成)を使用した。

2. 実験動物

ICR雄雄性(4週齢または5週齢)および雌性(6週齢)

マウスおよび ddY 系雄性マウス (5 週齢) は日本エスエルシーより購入し, 少なくとも 6 日間以上の予備飼育の後に実験に供した. 動物は温度 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 湿度 $40 \pm 10\%$, 照明 1 日 12 時間に設定した飼育室にて, 固形飼料 (F-2, 船橋農場または CE-2, 日本クレア) および水道水を自由に摂取させて飼育した.

実験方法

1. Sarcoma 180 移植腫瘍に対する作用

Sarcoma 180 細胞は当教室にて ICR 系マウスに継代されているものを移植 11 日目のマウスの腹水より細胞を採取し, 滅菌生理食塩水で用時目的の細胞密度として使用した.

1) 腹水腫瘍に対する作用: 腹水型の Sarcoma 180 を用いる総細胞容積法¹⁶⁾に従って行った. すなわち, ICR 系雄性マウスに蒸留水に懸濁した KY, あるいは 0.5% CMC 水溶液に懸濁した bufalin を 1 日 2 回, 15 日間経口投与した. 投与開始 8 日目に Sarcoma 180 細胞 $1 \times 10^6/0.05 \text{ ml/mouse}$ を腹腔内に移植し, その 8 日後に腹水を採取した. 腹水は 3,000 rpm で 5 分間遠心分離 (KR-702, 久保田商事) して腫瘍細胞を分離し, その容積 (packed cell volume: PCV) を測定した. 阻害率 (%) は以下の式により算出した.

$$\text{阻害率 (\%)} = (1 - \frac{\text{被験薬投与群の PCV の平均}}{\text{対照群の PCV の平均}}) \times 100$$

cyclophosphamide は 0.5% CMC 生理食塩水に懸濁し, 1 日 1 回, 15 日間腹腔内投与した. 各対照群には溶媒のみを被験薬投与群液の代わりに投与した.

2) 固形腫瘍に対する作用: ICR 系雄性マウスの背部皮下に Sarcoma 180 細胞 $2 \times 10^6/0.05 \text{ ml/mouse}$ を移植し, 移植日より, 1 日 2 回, 14 日間蒸留水に懸濁した KY, あるいは 0.5% CMC 水溶液に懸濁した bufalin を経口投与した. Sarcoma 180 移植 14 日後に腫瘍を摘出し, その重量を測定し, Ikeda ら¹³⁾の報告に基づき, 阻害率 (%) を以下の式より算出した.

$$\text{阻害率 (\%)} = (1 - \frac{\text{被験薬投与群の腫瘍重量の平均}}{\text{対照群の腫瘍重量の平均}}) \times 100$$

FT-207 は 0.5% CMC 水溶液に懸濁し, Sarcoma 180 移植 1, 5 および 9 日後に 1 日 1 回, 経口投与した. 各対照群には溶媒のみを被験薬液の代わりに投与した.

2. ストレス負荷マウス網内系の食生活性に対する作用

Okumura and Nigo¹⁷⁾の方法を参考にしてストレスを負荷した. すなわち, ddY 系雄性マウスを個々に金網ケージ (KN-469, 夏目製作所) に入れ, 1 日 20 時間, $23 \sim 24^\circ\text{C}$ の水槽に胸部まで水浸する処置を連続 2 日間繰り返した. なお, ストレス負荷中の動物は絶食絶水状態となるため, 正常対照群のマウスは, ストレスを負荷している間絶食絶水とした. KY は 1 日 2 回, 5 日間蒸留水に懸濁して

経口投与し, zymosan は 1 日目のストレス負荷終了後に 1 回, 腹腔内に投与した. 2 回目のストレス負荷終了 2 日後にマウスの尾静脈に carbon 浮遊液 (Perican drawing ink 17 black 3 ml, 蒸留水 4 ml, 3% gelatin 4 ml からなる) $0.1 \text{ ml}/10 \text{ g}$ を投与し, その 5 分後, 10 分後, および 15 分後に眼窩からヘパリン処理したヘマトクリット毛細管で $25 \mu\text{l}$ の血液を採取し, 直ちに 2 ml の 0.1% Na_2CO_3 水溶液で希釈, 溶血させた後, 分光光度計 (220A, 日立) で 675 nm の吸光度を測定した. また, 15 分後の採血を終えたマウスから肝臓と脾臓を取り出し, その湿重量も測定した. carbon clearance は下記の式を用いて, 血中 carbon 半減期 ($t_{1/2}$), 食食指数 (K) および訂正食食指数 (α) として算出した.

なお, これらの値は carbon 浮遊液投与 5 分後と 10 分後, および 5 分後と 15 分後に採血された血液を用いて測定した吸光度から計算された 2 つの $t_{1/2}$, K および α の値の平均とした.

$$t_{1/2} = [(t_2 - t_1) \times \text{OD}_1] / [(\text{OD}_1 - \text{OD}_2) \times 2]$$

$$K = (\log \text{OD}_1 - \log \text{OD}_2) / (t_2 - t_1)$$

$$\alpha = \sqrt[3]{K} \times P_c / P_o$$

ただし, t_1 : 5, t_2 : 10 (10 分) あるいは 15 (15 分), OD_1 : 5 分後の吸光度, OD_2 : 10 分後あるいは 15 分後の吸光度, P_c : 全体重, P_o : 肝臓と脾臓の湿重量の和, とした.

3. 二段階発癌に対する作用

Boltman and Troll¹⁴⁾の方法を参考にして行った. すなわち, ICR 系雌性マウスの背部をエーテル麻酔下で剃毛し, 2 日後に acetone に溶解した DMBA $50 \mu\text{g}/100 \mu\text{l}$ を背部皮膚に塗布した. その 1 週間後より, 週 2 回 acetone に溶解した TPA $2.5 \mu\text{g}/100 \mu\text{l}$ を塗布した. KY は蒸留水に懸濁し, $1,000 \text{ mg/kg/day}$ を 2 回に分け, TPA 塗布開始日より祝祭日, 年末年始の 1 週間 (週 2 日投与) を除いて週 5 日, 18 週間強制的に経口投与した. quercetin は DMSO-acetone 溶液 (1:9) に溶解し, $10 \text{ mg}/100 \mu\text{l}$ を, TPA 塗布日に背部に塗布して投与した. 1 群につき 15 匹のマウスを用いた. TPA 塗布開始 3 週間後から毎週 1 回, 腫瘍発生匹数および 1 匹あたりの腫瘍数を観察した. なお, その直径が 2 mm 以上の腫瘍のみ記録し, 2 個以上の腫瘍が重なって観察された場合は, それぞれ別個の腫瘍として計数した. 本試験においては試験期間を通じて死亡例は認められず, 体重も対照群と KY 投与群で顕著な差を認めなかった.

4. 統計処理

二段階発癌における腫瘍発生匹数 (%) は Fisher の直接確率計算法を用いて, その他は全て F 検定の後, t 検定を用いて解析した. t 検定は Student の方法を用い, 分散が異なる場合は Welch の方法を用いた. これらは全て両側検定とした.

実 験 結 果

1. 移植腫瘍に対する作用

1) 腹水腫瘍に対する作用: KY は 500 mg/kg/day より Sarcoma 180 腹水腫瘍に対して用量依存的に抗腫瘍活性を示し, KY 500 mg/kg/day と 1,000 mg/kg/day においては cyclophosphamide 投与群と同様に有意に腫瘍細胞容積の増加を抑制させた (TABLE I). bufalin は KY 500 mg/kg/day に含まれる bufadienolides 量に相当する用量, 4 mg/kg/day にて有意に腫瘍細胞容積の増加を抑制させたが, その作用は KY のそれよりも弱いものであった (TABLE I).

2) 固形腫瘍に対する作用: KY は 250 mg/kg/day より Sarcoma 180 固形腫瘍に対して用量依存的に抗腫瘍活性を示し, 1,000 mg/kg/day においては FT-207 投与群と同様に有意に腫瘍重量の増加を抑制させた (TABLE I). 一方,

bufalin は KY 500 mg/kg/day に含まれる bufadienolides 量に相当する用量, 4 mg/kg/day によっても, 腫瘍重量の増加を有意に抑制させなかった (TABLE I).

2. ストレス負荷マウス網内系の食食活性に対する作用

KY は 500 mg/kg/day, 1 日 2 回, 5 日間の経口投与により, 有意にストレス負荷により延長した血中 carbon の消失半減期を短縮させ, 食食指数の低下を改善し, 訂正食食指数の低下も抑制させた (TABLE II). zymosan は 50 mg/kg の腹腔内投与により KY 500 mg/kg/day と同様の作用を示し, さらにストレス負荷による相対肝湿重量の低下も抑制させた (TABLE II).

3. 二段階発癌に対する作用

KY は 1,000 mg/kg/day, 1 日 2 回の経口投与により, マウス 1 匹当たりの腫瘍数を TPA 塗布開始 14 週後より有意に減少させた (Fig. 1). quercetin は 1 回 10 mg, 週 2 回の背部への塗布により, TPA 塗布開始 6 週後より 9

TABLE I. Antitumor Effects of KY, Bufalin, Cyclophosphamide and FT-207 in Sarcoma 180 Implanted Mice

Drug	Dose (mg/kg/day, p.o.)	Ascites tumor			Solid tumor		
		N	PCV (ml)	Inhibition (%)	N	Tumor weight (g)	Inhibition (%)
Control		12	1.68±0.24		12	0.993±0.131	
KY	250	12	1.83±0.23	-8.9	12	0.786±0.206	20.8
Control		12	2.33±0.11		12	1.596±0.266	
KY	500	12	1.35±0.30*	42.1	11	1.187±0.380	25.6
Control		12	1.99±0.27		12	1.391±0.209	
KY	1,000	12	1.12±0.31*	43.7	12	0.675±0.089*	51.5
Control		12	2.53±0.11		12	0.957±0.262	
Bufalin	4	12	1.75±0.29*	30.8	12	0.944±0.172	1.4
Control (i.p.)		12	1.28±0.44			N.T.	
Cyclophosphamide (i.p.)	(34)	12	0.30±0.17*	76.6		N.T.	
Control			N.T.		12	0.982±0.208	
FT-207	500		N.T.		12	0.204±0.039*	79.2

The data are expressed as the mean±S.E.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ as compared with each control group using the t -test.

KY and bufalin were dosed 2 times a day for 15 days (ascites tumor) or 14 days (solid tumor), cyclophosphamide was dosed once a day for 15 days and FT-207 was dosed once a day on 0, 4 and 8 days after the implantation of Sarcoma 180. N. T.: not tested, PCV: packed cell volume.

TABLE II. Effects of KY and Zymosan on Phagocytic Activity of Reticuloendothelial System in Stressed Mice

Drug	Dose (mg/kg/day, 5 days, p.o.)	Carbon clearance rate ($t_{1/2}$, min)	Phagocytic index ($K, \times 10^{-3}$)	Corrected phagocytic index (α)	Liver weight (% body weight)	Spleen weight (% body weight)
Normal control		15.2±1.0	17.5±1.5	4.08±0.21	6.13±0.18	0.25±0.01
Control		25.1±3.5	11.0±0.8	3.89±0.14	5.46±0.13	0.22±0.02
KY	125	26.8±4.0	10.5±1.2	3.88±0.11	5.32±0.12	0.23±0.01
Control		24.8±2.5	10.8±0.8	3.72±0.13	5.69±0.20	0.23±0.02
KY	250	20.0±2.1	13.6±1.5	3.94±0.11	5.76±0.11	0.21±0.01
Control		32.4±5.2	9.2±1.2	3.60±0.18	5.49±0.17	0.23±0.01
KY	500	17.9±1.2*	14.7±1.3**	4.13±0.12*	5.68±0.15	0.22±0.02
Control ^{a)}		23.2±1.6	11.1±0.7	4.00±0.11	5.33±0.09	0.20±0.01
Zymosan ^{a)}	(50 mg/kg)	16.1±1.5**	17.2±1.8**	4.39±0.14*	5.57±0.06*	0.25±0.02

The data are expressed as the mean±S.E. ($N=10$).

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ as compared with each control group using the t -test.

$t_{1/2}$, K and α values were the average of the values calculated using the absorbance of 5 min and 10 min, and the values calculated using the absorbance of 5 min and 15 min after the injection of carbon.

^{a)} Injected intraperitoneally at the 2 days before the injection of carbon.

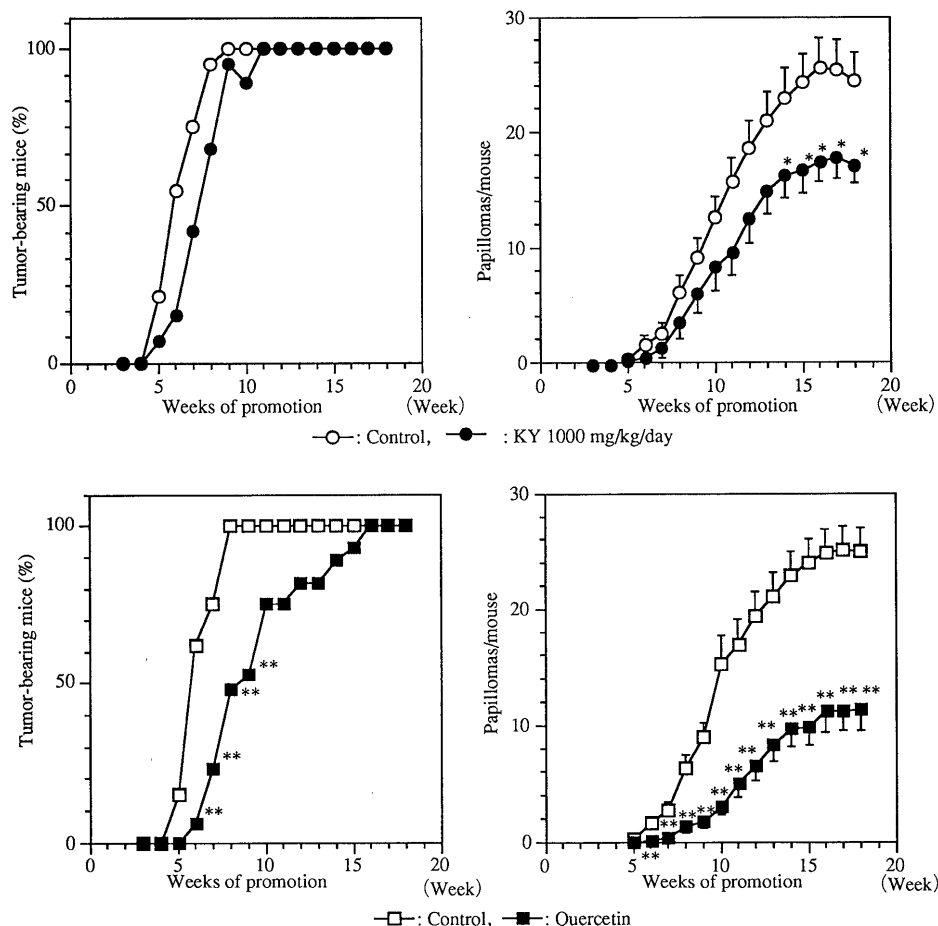


Fig. 1. Effect of KY and Quercetin on the Skin Papillomas Promoted by TPA in DMBA-Initiated Mice
Papillomas/mouse data are expressed as the mean $\pm$ S.E. ($N=15$).
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ as compared with each control group.

週後までの腫瘍発生匹数と、TPA 塗布開始 6 週後からのマウス 1 匹当たりの腫瘍数を有意に減少させ、本実験が正しく行われていることが確認された (Fig. 1)。

考 察

センソ含有製剤である KY は、経口投与でマウスの Sarcoma 180 移植腹水腫瘍および固形腫瘍の双方に対して抗腫瘍作用を示し、ストレス下のマウス網内系の食食能を亢進し、さらにイニシエーターとして DMBA、プロモーターとして TPA を用いたマウスの皮膚二段階発癌に対して腫瘍数の増加抑制作用を示した。

KY の構成生薬、センソに含まれる bufadienolides には KB 組織細胞 (ヒト鼻咽頭組織腫瘍細胞)、HeLa-S3 細胞および Walker 256 carcinosarcoma などの腫瘍細胞の増殖を抑制する作用⁸⁾が、ニンジンには Ehrlich 腹水腫瘍および Sarcoma 180 移植腫瘍に対する抑制作用¹⁸⁾が報告されている。これらのことから、KY の抗腫瘍作用には少なくともセンソおよびニンジンが関与しているものと考え

られた。今回、Sarcoma 180 腹水腫瘍の実験において、KY に含まれる bufadienolides に相当する量の bufalin で KY と同程度の抗腫瘍作用が認められ、センソの関与が支持されている。

近年、センソ成分の bufadienolides の一種である bufalin に分化誘導促進¹⁰⁾、および癌細胞のアポトーシス誘起¹¹⁾作用が報告されており、センソの抗腫瘍作用の機序が解明されつつある。*in vitro* の試験において bufalin は 100 nM でヒト白血病細胞を約 60% 死滅させ¹⁰⁾、10 nM 以上でアポトーシス誘起作用を¹¹⁾、10 nM で分化誘導促進作用を¹⁰⁾発現すると報告されている。このことから、腫瘍細胞を直接殺傷させる作用はかなり高濃度の bufalin で発現するものと思われる。KY を服用した時のヒトにおける bufalin の血中濃度を、抗 bufalin IgG を用いたエンザイムイムノアッセイによる血漿中抗 bufalin IgG 反応性物質 (BRS) 濃度⁷⁾から類推すると、用法用量に従って KY を服用した時の定常状態の BRS 濃度は約 2 ng eq./ml であることから、その濃度は約 5 nM と算出される。すなわち、

KYの抗腫瘍作用がすべて bufalin によるものと仮定すると、アポトーシス誘起作用は通常の用量の2倍以上の、分化誘導作用には2倍の用量が必要になることを示唆している。

今回、我々はストレスを負荷したマウスの網内系食能低下をKYが改善することを認めた。これにより、KYの抗腫瘍作用には分化誘導作用やアポトーシス誘起作用の他に免疫系の活性化作用も関与している可能性が示唆された。劉⁹⁾はセンソの抗腫瘍作用の機序の一つに非特異性免疫担当細胞の活性化が関与することを報告しており、我々の予測とも一致している。

細胞の癌化は正常細胞のDNAに傷害をおこすイニシエーションと、イニシエーションにより形成された潜在的腫瘍細胞を腫瘍細胞へと変化、増殖させるプロモーションという2つの過程より起こるという発癌二段階仮説¹⁹⁾があり、化学物質による発癌過程においてはその仮説が実験的に証明されている²⁰⁾。正常細胞が癌化するこの過程にKYはどのような作用を有しているか興味を持たれた。そこで、イニシエーターとしてDMBA、プロモーターとしてTPAを用いたマウス皮膚二段階発癌モデルに対するKYの作用を検討したところ、KYが腫瘍数の増加抑制作用を示すことが認められた。代表的な強心薬であり、bufalinと同様にNa⁺、K⁺-ATPase阻害作用²¹⁾を有するdigitoxinにDMBA-TPAによる二段階発癌実験において抗プロモーション作用²²⁾が認められていることから、KYのこの作用についても、KYに含まれるbufadienolidesが関与している可能性が考えられた。

KYの抗腫瘍作用は対照薬として用いたFT-207に比べ非常に弱く、いわゆる抗癌剤の作用とKYの作用には大きな開きがある。この実験結果から、少なくともKYは癌を悪化させないこと、癌化した組織を縮小するのではなく、細胞の癌化を抑制したり、正常細胞への分化を誘導する可能性があることが考えられた。以上まとめると、KYの抗腫瘍作用は、主にセンソやニンジンなどによるものと考えられ、細胞毒によって腫瘍細胞を殺傷するのではなく、

免疫系細胞の活性化等が関与するものと考えられた。また、KYはマウス皮膚二段階発癌モデルにおいて腫瘍数の増加を抑制する作用を示した。

引用文献

- 1) M. Sakanashi, K. Noguchi, T. Shibata, Y. Ojiri, M. Shoji, *Am. J. Chin. Med.*, **21**, 7 (1993).
- 2) M. Shoji, Y. Oguni, H. Sato, S. Morishita, C. Ito, M. Higuchi, M. Sakanashi, *Am. J. Chin. Med.*, **21**, 17 (1993).
- 3) S. Morishita, M. Shoji, Y. Oguni, C. Ito, M. Higuchi, M. Sakanashi, *Am. J. Chin. Med.*, **20**, 245 (1992).
- 4) 須賀俊郎, 代謝, **10**, 762 (1973).
- 5) 森下信一, 齋藤 隆, 三島泰宏, 水谷 睦, 平井康晴, 川上 萬里, 日薬理誌, **86**, 269 (1985).
- 6) 東間章二, 平井康晴, 杉本智潮, 庄司政満, 小国泰弘, 森下信一, 伊藤千尋, 堀江正信, 薬誌, **111**, 687 (1991).
- 7) 遠藤任彦, 加納節夫, 酒井信彦, 方波見恵子, 東医大誌, **50**, 569 (1992).
- 8) 釜野徳明, 化学の領域, **27**, 984 (1973).
- 9) 劉 正才, “中医免疫学入門”, 東洋学術出版社, 千葉, 1993, p. 73.
- 10) L. Zhang, K. Nakaya, T. Yoshida, Y. Kuroiwa, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **178**, 686 (1991).
- 11) 川副伸子, 大泉秀和, 増田 豊, 橋本幸子, 中条茂男, 中谷一泰, 日本薬学会第114年会講演要旨集, No. 3, p. 78 (1994).
- 12) 糸川秀治, 渡辺謹三, 三橋 進, 生薬, **33**, 95 (1979); 糸川秀治, 渡辺謹三, 三原和彦, 竹谷孝一, *ibid.*, **36**, 145 (1982); 糸川秀治, 平山総良, 鶴岡俊志, 水野謙治, 竹谷孝一, 新田あや, *ibid.*, **44**, 58 (1990).
- 13) H. Ikeda, S. Yamagata, T. Toge, T. Hattori, *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, **68**, 233 (1977).
- 14) S. Boltman, W. Troll, *Cancer Res.*, **32**, 450 (1972).
- 15) 小松曼蒼, 岡野定輔, 薬誌, **87**, 712 (1967).
- 16) 星 昭夫, 樽谷和男, ファルマシア, **9**, 464 (1973).
- 17) T. Okumura, Y. Nigo, *Jpn. J. Pharmacol.*, **40**, 505 (1986).
- 18) 上海学術出版社編, “中薬大辞典”, 1版, 講談社, 東京, 1985, p. 4126.
- 19) 伊東信行, 立松正衛, “続がん征圧への化学”, ファルマシアレビュー No. 23, 日本薬学会, 東京, 1987, p. 3.
- 20) I. Berenblum, *Cancer Res.*, **1**, 807 (1941).
- 21) T. Akera, T. M. Brody, *Pharmacol. Rev.*, **29**, 187 (1978).
- 22) A. Inada, T. Nakanishi, T. Konoshima, M. Kozuka, H. Nishio, A. Iwashima, *Biol. Pharm. Bull.*, **16**, 930 (1993).