

芫花及びこれを構成生薬とする十棗湯の薬理作用

甲斐久博, 古稻岳彦, 馬場正樹, 奥山 徹*

Pharmacological Effects of *Daphne genkwa* and Chinese Medical Prescription, “Jyu-So-To”

Hisahiro KAI, Takehiko KOINE, Masaki BABA, and Toru OKUYAMA*

Department of Natural Medicine and Phytochemistry, Meiji Pharmaceutical University,
2-522-1 Noshio, Kiyose City, Tokyo 204-8588, Japan

(Received January 26, 2004; Accepted April 2, 2004)

Daphne genkwa (Thymelaeaceae) has been used as a folk medicine in China. We investigated the effects of *D. genkwa* and Jyu-So-To on various pharmacologic models in mice including the azoxymethane (AOM)-induced colonic aberrant crypt focus formation assay, ornithine decarboxylase (ODC) activity assay, and two types of mouse ear swelling model. Administration of 236.3 ppm of Jyu-So-To in drinking water significantly suppressed AOM-induced colonic aberrant crypt focus formation ($p < 0.05$), with an inhibitory ratio of 46.7%. The effects of several extracts with organic solvents of *D. genkwa* on murine epidermal ODC activity were examined. In particular, the inhibitory ratio of the *n*-hexane extract was 30.8%. In the 12-*O*-Tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced ear edema model in mice, the methanol extract resulted in 56.3% inhibition compared with the control. On the other hand, there are two peaks of responses at 1 h (immediate-phase reaction; IPR) and 24 h (late-phase reaction) in biphasic cutaneous reactions, which are enhanced in the dinitrofluorobenzene model (DNFB). The water extract of *D. genkwa* clearly inhibited the IPR ear swelling. These results suggest that *D. genkwa* and Jyu-So-To should be a promising source of antitumor, antiinflammatory, and antiallergy agents.

Key words—*Daphne genkwa*; Jyu-So-To; antiinflammation; antiallergy; aberrant crypt focus formation; ornithine decarboxylase activity

緒 言

芫花はジンチョウゲ科 (Thymelaeaceae) のフジモドキ *Daphne genkwa* Sieb. et Zucc. の花蕾を基原とする生薬である。フジモドキは別名チヨウジザクラとも呼ばれる中国原産の落葉低木で、福建、浙江、江蘇、四川、山東の各省、揚子江流域と広く分布している。日本への伝来は奈良時代にまでさかのぼり、芫花は西暦 756 年に正倉院に献納された生薬の 1 つとして『種々薬帳』に記載されている。それには「芫花三百卅四斤二両」が献納されたと記載され、大量の芫花が献納されていたことが伺える。柴田、奥山らは、「正倉院薬物第二次調査」(平成 6 年 10 月 24—28 日, 平成 7 年 10 月 23—27 日) を通して、約 1250 年の間に、ニセセマルヒヨウホンムシに食い荒らされ、その虫骸とともに今なお芫花が現存していることや、¹⁻³⁾ 現代の芫花から単離報告さ

れている apigenin, genkwanin 等のフラボノイドが、⁴⁻⁶⁾ 正倉院の芫花にも存在していることを確認している。¹⁻³⁾

中国では、芫花が日本の『日本薬局方』に相当する『中華人民共和国薬典』に記載され、臨床においても用いられている。⁷⁾ 芫花を含む漢方方剤のうち臨床で用いられる代表例は、十棗湯である。十棗湯は『傷寒論』と『金匱要略』に記載されており、その構成生薬は芫花、甘遂、大戟、大棗である。本処方は浮腫、胸水、腹水、慢性腎炎などを適応とする。⁸⁾ 漢方医学において、浮腫、胸水などと言った疾患は、体液の停滞を意味し、“水”、“飲”、“痰”の 3 つに分類される。“水”の病証は浮腫であり、“飲”の病証は一般に胸腔 (胸水)、腹腔 (腹水)、胃内停水であり、そして“痰”は全身性の病的な水の貯蓄を意味する。そのうち、十棗湯を適応とする疾患は“飲”に分類されるものであり、特に、炎症感染症や悪性腫瘍などにより胸膜、胸腔に病的な水が停滞した病態に用いる。このような病態に用いる

漢方方剤は2種あり、十棗湯ともう一つは控涎丹（白芥子、甘遂、大戟、大棗）であり、両者の構成は非常に類似している。⁹⁾

しかし、芫花及び十棗湯は、中国において利用されているものの、^{7,8)} 日本ではほとんど知られておらず、薬理効果に関する基礎的な実験報告が少ない。そこで、われわれはがんやアレルギーなど国民病の予防や治療において漢方方剤の利用が見直されるようになってきたことも踏まえ、azoxymethane (AOM) 誘発大腸異常腺窩巢 (Aberrant Crypt Foci: ACF) 試験, ornithine decarboxylase (ODC) 誘導抑制試験, 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) 誘発マウス耳介浮腫試験, マウス二相性アレルギー炎症耳介腫脹試験を行い、芫花及び十棗湯の有用性を検討した。

実験の部

1. 材料 生薬としての芫花 (Lot No. TUKMQ), 大棗 (Lot No. 223014) はウチダ和漢薬(株)より、甘遂 (Lot No. KYO10111), 大戟 (Lot No. WOC-QOC30C), 白芥子 (Lot No. C7FN7G23K) は株式会社紀伊國屋漢薬局よりそれぞれ購入し、文献¹⁰⁾ に従い自家製剤とした。各漢方方剤に用いられる生薬の8日分 (十棗湯は芫花 8.0 g, 大戟 8.0 g, 甘遂 8.0 g, 大棗 32.0 g, 控涎丹は白芥子 8.0 g, 大戟 8.0 g, 甘遂 8.0 g, 大棗 32.0 g) を精製水 600 ml を用いて3時間、1回環流抽出、乾燥して十棗湯 19.0 g, 控涎丹 20.0 g のエキスを得た。

2. 実験方法

2-1. AOM 誘発大腸異常腺窩巢 (Aberrant Crypt Foci: ACF) 試験 本試験は既に報告した定法に従って行った。¹¹⁾ 6週齢 ddY 系雄性マウス (日本エスエルシー(株)) を1群6匹で用いた。大腸のACFの誘発には azoxymethane (AOM) (SIGMA) を用いた。被験動物を1週間の予備飼育後、試験開始日とその1週間後の計2回、それぞれ 10 mg/kg 右下肢皮下に投与した。Sample 群には AOM の初回投与前日より、飲料水中に溶解した十棗湯、控涎丹の各エキスを試験期間中、自由摂取させた。また Control 群には水のみを、Positive Control 群には 15 ppm の piroxicam を飲料水として自由摂取させた。各漢方方剤のマウスに対する投与量は、次のように設定した。十棗湯の場合、得られたヒト8日

分のエキスは 19.0 g だったことより、ヒト1日分のエキス量は 2.375 g/day となる。ヒトの体重を 60 kg, マウスの体重を 40 g として比例計算によって求めると、マウス1日分のエキス量は約 1.58 mg/day となる。このマウスの1日当たりの平均飲水量が 6.7 ml であったことから、236.3 ppm に調製した。同様に、控涎丹はヒト8日分のエキスは 20.0 g であったため、248.8 ppm になるよう調製した。また、両方剤の5倍量の濃度についても検討した。

2-2. ODC 誘導抑制試験 本試験は Rune Djurhuus の方法¹²⁾ を参考に当研究室で行われている方法により測定した。^{13,14)} 6週齢 ICR 系雄性マウス (日本クレア(株)) を用い、1群5匹で行った。マウスの背部体毛を除き、TPA-acetone 溶液 200 μ l (TPA 16.2 nmol) に先の漢方方剤エキス及び芫花エキス各 1 mg を溶解し、これを塗布した。4時間後、背部皮膚上皮を摘出、ODC を抽出し、³H ラベルした L-[2,3-³H] ornithine に対する酵素活性を、脱炭酸により生成した L-[1,2-³H] putrescine の放射活性を測定した。漢方方剤は先の試験で用いたものと同じエキスを用いた。芫花の水エキスについては、芫花 1.4 kg に精製水 10 l を用いて、4時間加熱抽出を3回行い、279.9 g を得た。一方、芫花 100 g を *n*-hexane, AcOEt, MeOH 各 2 l を用いて順次冷浸抽出をオーバーナイトで行い、対応するエキスを 69 mg, 56 mg, 448 mg ずつ得た。同様に芫花 100 g を *n*-hexane, AcOEt, MeOH 各 2 l で順次加熱抽出を4時間ずつ行い、対応するエキスをそれぞれ 132 mg, 159 mg, 1153 mg ずつ得た。

2-3. TPA 誘発耳介浮腫試験 本試験は奥山らの方法に従って行った。¹⁵⁾ 6週齢 ddY 系雄性マウス (日本エスエルシー(株)) を用い、1群3匹で行った。試料は各エキスの 1 mg を acetone (nacalai tesque) を用いて 1 mg/20 μ l の濃度に、TPA (SIGMA) は同様に 2 μ g/20 μ l の濃度に各々調製した。各エキスをマイクロピペットにてマウスの右耳の内側と外側にそれぞれ 0.5 mg (10 μ l) 塗布し、その30分後に TPA を同様に 1 μ g (10 μ l) ずつ塗布した。最高腫脹時間とされる5時間後にシクネス・ゲージ (OKAZAKI MFG. Co. Ltd.) にて耳介の厚さを測定し、Control 群と比較して抑制率を算出した。試料は以下のように作製した。芫花 1 kg について MeOH 15 l を用いて室温で 48 時間、2回抽出し

MeOH エキス 45 g を得た. これを *n*-Hexane : MeOH=1 : 1 で 6 回分配操作を行い, *n*-Hexane 可溶部 11 g と, MeOH 可溶部 24 g を得た. 次に, MeOH 可溶部は AcOEt : H₂O=1 : 1 で 6 回分配操作を行い AcOEt 可溶部 11 g, H₂O 可溶部 8 g を得た.

2-4. マウス二相性アレルギー炎症耳介腫脹試験
本試験は永井らの方法¹⁶⁾に基づいて行った. 6 週齢 BALB/c 雌性マウス (日本チャールス・リバー(株)) を各群 6 匹構成とした. 1 週間予備飼育後, 5 µg/ml に Dulbecco's modified phosphate-buffered saline (D-PBS(-)) (SIGMA) で調製した anti-dinitrophenyl (DNP) IgE モノクローナル抗体 (生化学工業; Lot No. 0710J) を 200 µl ずつ尾静脈投与した. 22 時間後, 陽性対照群は 0.5% methylcellulose (SIGMA) 溶液で調製した prednisolone-21-acetate (SIGMA) を 10 mg/kg 腹腔内投与し, サンプル群は注射用水 (第一製薬) で芫花水エキスを調製し 5.0 g/kg, 0.5 g/kg を経口投与した. 2 時間後, エタノール (nacalai tesque) で 0.05% に調製した 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB) (東京化成) を右耳の内側と外側に各々 10 µl ずつ塗布した. DNFB 塗布を 0 時間として 0, 1, 4, 24, 48 時間後の耳の腫脹をシクネス・ゲージ (OKAZAKI MFG. Co. Ltd) で測定し, 0 時間との差をそれぞれ求めた. 本試験では 1 時間後に即時反応 (immediate phase reac-

tion; IPR) のピークが, 24 時間後に遅発反応 (late phase reaction; LPR) のピークがそれぞれ現れることが報告されている.¹⁶⁾ 試料は, ODC 誘導抑制試験のものと同じ芫花水エキスをを用いた.

結 果

十棗湯, 控涎丹について, マウスの大腸の ACF に対する効果を検討したところ, 十棗湯 (236.3 ppm) は大腸当たりの ACF 数で Control 群に対し 53.3%, 合計 Crypt 数では 48.6%, また, 控涎丹 (248.8 ppm) ではそれぞれ 50.7%, 47.5% といずれの漢方方剤も, 有意な抑制を示した (Table 1). しかし, focus 当たりの crypt 数においては, Control 群とそれほど差が見られなかった. また, 5 倍投与量についてはいずれの漢方方剤も等用量より活性が低下した.

TPA を惹起物質とした ODC 誘導抑制試験においては, Control 群と比較し, 十棗湯は ODC 活性を亢進させたのに対し, 控涎丹はその活性を抑制した. また, それと同時に様々な溶媒で作製した芫花エキスをを用いて同じように試験を行った. その結果, Control 群に比べて, 冷浸抽出した *n*-Hexane エキスが最も活性が強かった. 加熱順抽出では溶媒によって活性の大きな差は認められなかった (Table 2).

また, 抗炎症効果, 抗アレルギー効果を調べる目的で 2 種のマウス耳介モデルを用いた assay を行っ

Table 1. Inhibitory Effect of Kampo-prescription on AOM-induced Aberrant Crypt Foci in Mouce Colon

Sample	No. of mouse with AC	No. of ACF/colon	No. of ACFs	Mean no. of ACs/focus
Control	6/6	37.8±11.4 (100.0%)	60.3±17.1 (100.0%)	1.62±0.18 (100.0%)
Piroxicam (15.0 ppm in DW)	5/5	22.8±11.6 (60.3%)	36.8±21.4 (61.0%)	1.58±0.28 (97.5%)
“Jyu-So-To” (十棗湯) (236.3 ppm in DW)	6/6	20.2±10.9* (53.3%)	29.3±16.1** (48.6%)	1.46±0.33 (90.0%)
“Jyu-So-To” (十棗湯) (1181.5 ppm in DW)	6/6	30.7±13.8 (81.1%)	43.8±22.2* (72.2%)	1.40±0.15 (86.2%)
“Ko-Zen-Tan” (控涎丹) (248.8 ppm in DW)	6/6	19.2±5.5*** (50.7%)	28.7±9.3*** (47.5%)	1.49±0.15* (91.9%)
“Ko-Zen-Tan” (控涎丹) (1244.0 ppm in DW)	6/6	28.0±8.3* (74.0%)	41.5±9.4 (68.8%)	1.53±0.23 (94.4%)

Mice were treated with 10 mg/kg bw of AOM once a week for two weeks. Four weeks after the first AOM injection, all mice were sacrificed and the colons were fixed in 10% phosphate buffered formaldehyde solution. Fixed colons were stained by methylene blue and the ACF were counted under microscopically. The low dose of each prescription was decided by proportionality calculation of a human (weight 60 kg) and a mouse (weight 40 g). mean±S.D.; * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.005$, by student's *t*-test.

Table 2. Effects on TPA-induced ODC Activity

Sample	% to Control
Control	100.0%
“Jyu-So-To” (十棗湯)	114.6%
“Ko-Zen-Tan” (控涎丹)	80.0%
<i>Daphne genkwa</i> (H ₂ O hot extr.)	104.3%
<i>Daphne genkwa</i> (<i>n</i> -Hexane extr.)	69.2%
<i>Daphne genkwa</i> (AcOEt extr.)	111.4%
<i>Daphne genkwa</i> (MeOH extr.)	88.2%
<i>Daphne genkwa</i> (<i>n</i> -Hexane hot extr.)	86.4%
<i>Daphne genkwa</i> (AcOEt hot extr.)	89.6%
<i>Daphne genkwa</i> (MeOH hot extr.)	89.0%

Mice were treated with each 1 mg of sample and/or 16.2 nmol of TPA in 200 μ l acetone. Control was treated with TPA and vehicle in acetone. Mice were sacrificed 4 h after TPA treatment, and the epidermis cells were collected to determine ODC activity. Data are mean value of five mice.

Table 3. Effects of Extract and Components of *D. genkwa* on TPA-induced Mouse Ear Edema

Sample	% to Control
Control	100.0%
Piroxicam (0.5 mg/ear)	13.5% **
MeOH extr. (1.0 mg/ear)	43.7% **
<i>n</i> -Hex. layer (1.0 mg/ear)	65.9% *
AcOEt layer (1.0 mg/ear)	58.8% *
H ₂ O layer (1.0 mg/ear)	46.0% *
Apigenin (1) (1.0 mg/ear)	20.6% *

* $p < 0.005$, ** $p < 0.0005$ by student's *t*-test

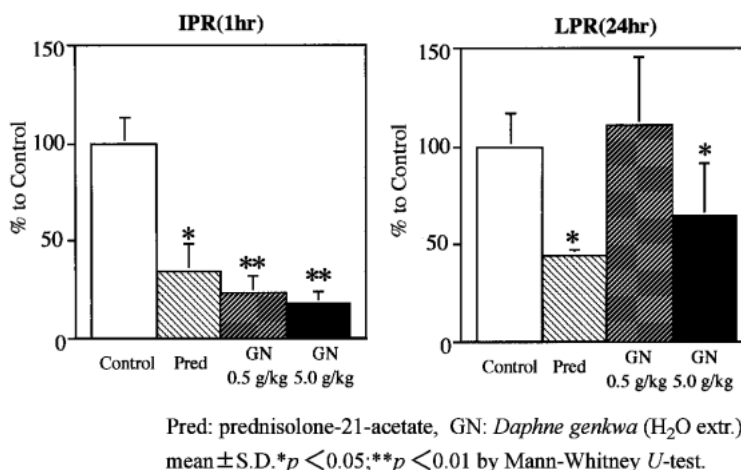
Each sample was applied topically for 30 min before TPA (2 μ g/ear) treatment. Ear thickness was determined 5 h after TPA treatment. Data were mean value of 3 mice.

た. TPA 誘発耳介浮腫試験では, 芫花の MeOH エキス及びいずれの画分も Control 群に対して有意な抑制を示した. また, 正倉院薬物との同定に用いた芫花の成分の1つである apigenin (1) は有意な比較的強い抑制を示した (Table 3).

DNFB 誘発マウス 2 相性耳介腫脹試験において, 芫花水エキスは IPR では 0.5 g/kg, 5.0 g/kg いずれの濃度でも有意な抑制が認められ, LPR においては 5.0 g/kg 投与群に有意な抑制が認められた (Fig. 1). また, 本エキスから apigenin (1) を 66.8 mg, (-)-pinoselinol (2) を 15.5 mg, uracil (3) を 112.0 mg 単離し (Fig. 2), 同様に試験を行った. Sample は 2 時間前に 10 mg/kg を腹腔内投与した. その結果, 化合物 1—3 ともに IPR 及び LPR において有意な抑制効果が見られ, 特に, 2 は IPR の抑制が顕著であった (Table 4).

考 察

十棗湯, 控涎丹の大腸がん予防効果の検討をするために, AOM 誘発大腸 ACF 試験, ODC 誘導抑制試験を行った. 前者の活性試験は, focus 数が initiation の強さを, focus 当たりの aberrant crypt 数が promotion の強さを表していると言う報告があることから,^{17,18)} これら漢方方剤は発生した病変の進展よりは, 病変形成を主に抑制する可能性が示唆された. 十棗湯, 控涎丹ともに等倍量に比べ 5 倍投与量の活性が低下した点は, 今後, 至適濃度について詳

Fig. 1. Effect of H₂O Extract of *D. genkwa* on IgE-Mediated Biphasic Cutaneous Reaction in Mice

Mice were given 5 μ g/ml/*i.v.* injection of anti-DNP IgE fluid 24 h before DNFB challenge. Prednisolone 21-acetate were administered 10 mg/kg *i.p.* to the passively sensitized mice 2 h before DNFB challenge. Ear swelling was assessed 1 h (IPR) and 24 h (LPR) after the challenge. Each value represents the mean of 6 mice.

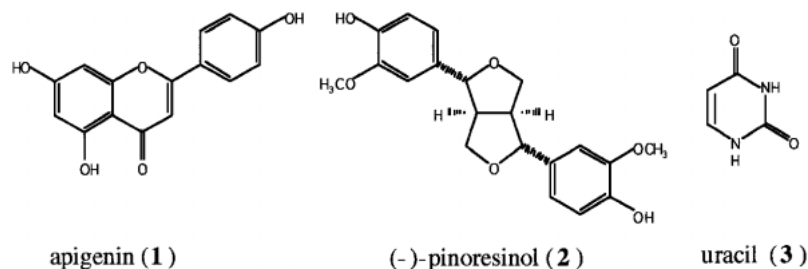
Fig. 2. Isolated Compounds from *Daphne genkwa*

Table 4. Effect of Isolated Compounds on Ear Swelling of IgE-Mediated Biphasic Cutaneous Reaction

Sample	IPR (% to Control)	LPR (% to Control)
Control	100.0%	100.0%
Prednisolone	36.1% **	36.4% **
Apigenin (1)	58.5% **	53.8% **
(-)-pinoresinol (2)	20.2% **	38.0% **
Uracil (3)	75.0% **	69.9% *

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ by Mann-Whitney *U*-test.

Mice were given 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ *i.v.* injection of anti-DNP IgE fluid 24 h before DNFB challenge. Each compounds were administered 10 mg/kg *i.p.* to the passively sensitized mice 2 h before DNFB challenge. Ear swelling was assessed 1 h (IPR) and 24 h (LPR) after the challenge. Each value represents the mean of 6 mice.

細な検討が必要である。しかし、いずれの方剤も等用量で有意な抑制が認められたことは、漢方医学分類上の“飲”の病症に用いられる方剤が、現代医学上の悪性腫瘍等による症状に有用であることを示すものと考えられる。後者の活性試験の ODC とは、がんのバイオマーカーとして注目されてきたポリアミン代謝系における律速酵素であり、ornithine から putrescine を生成する反応を触媒する。ODC の誘導は核酸やタンパク質合成の増加と言った細胞や組織の増殖を来す条件下で誘導され易く、多くの腫瘍組織において、この活性が著しく上昇するとされている。¹⁹⁾ 前者の試験において、十棗湯と控涎丹の活性の違いが見られなかったのに対し、後者の試験では控涎丹の活性が強かった。これにより、十棗湯の大腸がん抑制の効果には、ODC 非依存性のパラメータが関与している可能性があると思われる。また、芫花の冷浸順次抽出では対照群に比べ、*n*-Hexane エキス部では抑制、AcOEt エキス部では亢進、それとは別に水のみで加熱抽出したエキスでは亢進したと言う結果から、芫花に含まれる低極性化合物には ODC 活性を抑制する傾向が、高極性化合

物には逆に亢進する傾向を持つ可能性が示唆された。なお、有機溶媒による加熱順次抽出では、各々のエキスに活性の明確な差が見られなかったことについては、冷浸抽出と加熱抽出で各々のエキスに含まれる化合物が違うことが考えられ、詳細については、現在、検討中である。

また、芫花の抗炎症、抗アレルギー効果を 2 種のマウス耳介モデルを用いて検討を行った。TPA 誘発耳介浮腫試験は再現性の高い *in vivo* 実験であり、薬物の抗炎症作用の初期評価にも広く用いられている。本モデルは、炎症のケミカルメディエーターの中でもロイコトリエン類の関与が深く、ロイコトリエン産生酵素である lipoxigenase (LOX) の阻害薬などの薬効評価に有用であると言われている。²⁰⁾ このことから、本試験において、有意な抑制効果が認められた芫花は、ロイコトリエン類の産生を抑えることが考えられる。また、DNFB 誘発マウス 2 相性耳介腫脹試験において、芫花エキスは IPR の抑制が顕著であった。IPR においては主にヒスタミンが、LPR においては主にロイコトリエンなどがアレルギー性疾患を起こす引き金になっていると言われている。¹⁶⁾ IPR と LPR を同時に抑制する物質は肥満細胞の膜安定化作用を持つことが考えられる。本試験において、芫花エキスのロイコトリエンの活性が前試験に比べ低下したことは、膜安定化作用の時間が陽性対照に比べ短いものだと考えられる。

以上のことから、芫花の正倉院薬物としての歴史的な背景に加え、今回明らかにした生物活性の結果は、単味生薬としてだけではなく、芫花を構成生薬とする十棗湯も非常に有用な医薬品の 1 つであると考えられる。

謝辞 第二次正倉院薬物調査を通して本研究を

行うに当たり、貴重な御助言並びに御指導を賜りました東京大学名誉教授、明治薬科大学名誉教授 柴田承二先生に心より感謝申し上げます。第二次正倉院薬物調査の機会を与えていただきました、前宮内庁正倉院事務所長 米田雄介氏に感謝申し上げます。

REFERENCES

- 1) Shibata S., "Shosoin Medicaments" Chuokoron-shinsha Press, Japan, 2000, pp. 84-87.
- 2) Shibata S., "Annual report of office of the Shosoin treasure house" No. 20, Office of the Shosoin treasure house Nara, Japan, 1998, pp. 41-58.
- 3) Asahina Y., "Shosoin Yakubutsu", Benrido Press, Japan, 1955, pp. 250-251.
- 4) Nakao M., Tseng K., *Yakugaku Zasshi*, **52**, 341-352 (1932).
- 5) Nakao M., Tseng K., *Yakugaku Zasshi*, **52**, 903-912 (in English 148-154), (1932).
- 6) Tseng K., *Yakugaku Zasshi*, **55**, 132-145 (1935).
- 7) "Chuka-jinmin-kyowakoku-yakuten", Chemical Industry Press, China, 2000, pp. 125-126.
- 8) "Cyuyaku-daijiten" Shanghai Technology, Shogakukan Press, Japan, 1985, pp. 661-664.
- 9) Sone K. "Tozaiigaku-Kisotorinsyooyo-" Nanzando Press, Japan, 1993, pp. 43-52.
- 10) Nakayama Igakuin, Kobe Chuigaku Kenkyukai, "Kanyakunorinsyooyo" Ishiyaku Publishers Press, Japan, 1991, pp. 62-64.
- 11) Baba M., Asano R., Takigami I., Takahashi T., Ohmura M., Okada Y., Sugimoto H., Arika T., Nishino H., Okuyama T., *Biol. Pharm. Bull.*, **25**, 247-250 (2002).
- 12) Djurhuus R., *Anal. Biochem.*, **113**, 352-355 (1981).
- 13) Baba M., Jin Y., Mizuno A., Suzuki H., Okada Y., Takasuka N., Tokuda H., Nishino H., Okuyama T., *Biol. Pharm. Bull.*, **25**, 244-246 (2002).
- 14) Baba M., Takasuka N., Onozuka M., Masuda M., Murakoshi M., Sugimoto H., Satomi Y., Tokuda H., Okuyama T., Nishino H., *J. Traditional Med.*, **16**, 102-107 (1999).
- 15) Okuyama T., Matsuda M., Masuda Y., Baba M., Masubuchi H., Adachi M., Okada Y., Hashimoto T., Zou Li-Bo, Nishino H., *Chinese Pharm. J.*, **47**, 421-430 (1995).
- 16) Watanabe C., Satoh T., Tahara E., Murakami K., Hayashi K., Hase K., Andoh T., Kuraishi Y., Kadota S., Nagai H., Saiki I., *Biol. Pharm. Bull.*, **22**, 26-30 (1999).
- 17) Pretlow T. P., Barrow B. J., Ashton W. S., O'Riordan M. A., Pretlow T. G., Jurcisek J. A., Stellato T. A., *Cancer Res.*, **51**, 1564-1567 (1991).
- 18) McLellan E. A., Bird R. P., *Cancer Res.*, **48**, 6183-6186 (1988).
- 19) Inoue H., Takeda Y., *Tanpakushitsu Kakusan Koso*, **26**, 1462-1470 (1981).
- 20) Chang J., Blazek E., Skowronek M., Marinari L., Carlson R.P., *Eur. J. Pharmacol.*, **142**, 197-205 (1987).