

數種 植物性 多糖類의 사염화탄소 및 D-Galactosamine 誘發 急性 肝損傷 保護作用

文昌奎·安美瑛·鄭鎮浩*

서울대학교 藥學大學·존스홉킨스대학교 衛生 및 公衆保健大學院*

(Received December 4, 1984)

Protective Effects of Some Phytobased Polysaccharides on the Acute Hepatic Damages of ICR-Mice Induced by the Administration of Carbon Tetrachloride and D-Galactosamine

Chang-kiu Moon, Mi-Young Ahn and Jin-Ho Chung*

College of Pharmacy, Seoul National University, San 56-1, Sinlim-Dong, Kwanak-Gu, Seoul, Korea

and *Toxicology division, School of Hygiene & Public Health, Johns Hopkins University,

615 N. Wolfe street, Baltimore MD 21205 U.S.A.

Abstract—Polysaccharides obtained from Sappan Lignum, Mori Radicis Cortex and Olibanum were examined for their liver protective effects against carbon tetrachloride-and D-galactosamine intoxication in ICR-mice. Hexobarbital sleeping time and serum transaminases (S-GOT and S-GPT) were measured as parameters for the evaluation of liver protective effects. All polysaccharides tested in this experiment showed remarkable positive effects on the prevention of hepatic intoxication with carbon tetrachloride-and D-galactosamine. Much better liver protective effects of polysaccharides were observed in D-galactosamine-liver injuries than in carbon tetrachloride-injuries.

Virus性 肝炎, 肝硬變症 等の 肝臟疾患 發生率이 韓國 國民들에 있어 매우 높은 것으로 報告되고 있어 公衆保健上 重大한 問題의 하나가 되고있다.^{1,2)} 現存하는 藥物로 肝臟疾患 治療效果가 臨床的으로 입증된 藥物은 없는 것으로 알려져 있으며 단지 肝毒性物質에 對한 保護作用이 動物實驗을 통해 有意한 것으로 silymarin이 報告되고 있다.³⁾

最近 *Ceriolus versicolor*로 부터 分離한 多糖類가 肝機能을 改善시키고 *Saccharomyces Cerevisiae*의 細胞膜으로부터 얻은 glucan이 murine viral hepatitis에 效果가 있음이 報告되어⁵⁾ 多糖類에 의한 肝保護 및 治療劑의 開發可能性이 시사되고 있다. 이에 著者等은 高等植物로부터 抽出한 多糖類를 對象으로 肝保護效果 및 治療效果를 광범위하게 檢索해 보려는 시도의 일환으로 于先 著者等の 研究室에서 抗腫瘍效果 檢索을 위해 抽出한 3종의 多糖類에 對하여 急性肝毒性物質로 類用되고 있는 四鹽化炭素와 化學物質로서 virus性 肝炎과 類似한 病態를 유발하는 D-galactosamine에 依한 肝毒性에 미치는 영향을 검토하여 얻은 知見을 發表하고자 한다.

實 驗 方 法

實驗動物—雄性 ICR-mice를 서울대학교 實驗動物 飼育場으로부터 분양받아 2週間 실험 환경에

적응시키고 實驗에 使用하였으며 이때의 體重은 約 20g이었다. 實驗動物에 對한 試料의 投與, 수면시간의 測定 및 採血等은 恒時 午後 9時부터 11時사이에 實施하였다.

植物材料—*Phellodendri Cortex*, *Olibanum*, *Mori Radicis Cortex*, *Ginseng Radix* 및 *Sappan Lignum*을 漢藥材料商으로부터 購入하여 專門家の 감별을 받은 後 使用하였다.

試藥—Anthrone (Sigma), carbon tetrachloride (E. Merck), D-galactosamine HCl(Sigma), hexobarbital sodium (Tokyo chemical), sodium acetate (Shinyo pure chemical), Na-CMC (Jansei chemical), sodium chloride (Wako pure chemical) 및 trichloroacetic acid (Shinyo pure chemical).

機器—Centrifuge (Beckman Model J-21 & Hanil Industry Co. Type HA-2), 생화학 자동 분석기 (Abbott ABA-200), UV-spectrophotometer (LKB 4050), 凍結건조기 (Edward Ep03), ultrafiltration set (Amicon 8200), sonicator (Dawe Soniclean automatic).

多糖類의 抽出, 分離 및 精製—各 植物材料 約 300g씩을 精稱한 後, Caldes等의 方法⁶⁾에 準하여 多糖類를 抽出, 分離 및 精製하였다.

사염화 탄소 및 D-Galactosamine에 依한 ICR-mice의 急性 肝損傷 誘發, 試料 多糖類의 投與 및 수면시간의 測定—Table I에 提示한 바와 같이 Han 等의 方法⁷⁾을 약간 변경하여 實施하였다. 대조群, 사염화탄소(或은 D-galactosamine)群, silymarin 대조群 및 各多糖類 試料群에 對하여 實驗 제 1日에는 대조群과 사염화탄소 (D-galactosamine)群은 0.5% CMC 生理食鹽液만을 腹腔內 投與하고 silymarin 대조群과 多糖類 試料群은 各 silymarin 懸탁액과 多糖類懸탁액을 腹腔內 投與하였다. 제 2日과 제 3日에는 대조群에는 0.5% CMC 生理食鹽液만을, 사염화탄소 (D-galactosamine) 群에는 經口로 사염화탄소를 投與하였으며 多糖類 試料群에는 多糖類와 사염화탄소를 함께 投與하였다. 제 4일째에는 제 1日과 같은 요령으로 投與하고 제 5日째 各群의 各 마우스에 hexobarbital sodium 50mg/kg을 腹腔內 投與하고 수면시간을 測定하였다.

사염화탄소 및 D-Galactosamine에 依한 ICR-mice의 肝損傷 誘發, 試料 多糖類의 投與 및 血

Table I—Treatment of ICR-mice with some phytobased polysaccharides and carbon tetrachloride or D-galactosamine.

Group	Dose	Days				
		1	2	3	4	5
1. Control	0.5% CMC-saline		0.5% CMC-saline			
2. CCl ₄	0.13ml/kg/day	0.5% CMC-saline	CCl ₄ (or D-galactosamine)		0.5% CMC-saline	
3. Silymarin	25mg/kg/day	Silymarin	Silymarin + CCl ₄ (or D-galactosamine)		Silymarin	Sleeping time and serum
4. Sappan Lignum-polysaccharide	25mg/kg/day					transaminase activities were
5. Mori Radicis Cortex-polysaccharide	25mg/kg/day	Polysaccharide	Polysaccharide + CCl ₄ (or D-galactosamine)		Polysaccharide	measured.
6. Olibanum-polysaccharide	25mg/kg/day					

Each group consists of 10 mice (male ICR-mice weighing about 20g). Carbon Tetrachloride dissolved in olive oil was given orally. D-galactosamine-HCl dissolved in physiological NaCl solution was administered intraperitoneally. Each sample suspended in 0.5% CMC-saline was administered intraperitoneally.

清 Transaminase 活性的 測定—1번項과 동일하게 處理한 ICR-mice로부터 實驗 제 5 日째 血液을 採取하였다. 右側 armpit上 axillary vessel로부터 採取한 血液을 30分間 静止 後 3,000rpm에서 30分間 遠心分離하였다. 상층의 血清을 酵素活性的 測定에 使用하였으며 酵素活性的 測定은 ABA-200 Autoanalyzer (Abbott社)를 利用하였다.

Ultrafiltration 技法을 利用한 多糖類의 分劃은 Diaflo Ultrafiltration membrane을 利用하여 10psi 以下 질소氣壓下에서 교반하면서 分子量 300,000以上과 未滿으로 分離하고 分離된 分子量 300,000 以上の 分劃들은 少量의 물에 용해시킨 後 냉동건조시켜 다음 實驗에 使用하였다.

分子量 300,000 以上の 多糖類 分劃을 投與時 사염화탄소 및 D-galactosamine에 依한 ICR-mice의 肝損傷정도의 parameter로서의 血清 Transaminase의 活性測定은 전술한 바와 同一하게 遂行하였다.

統計 分析—모든 測定値는 平均표준편차로 表示하였고 測定値間의 有意性檢定은 Student t-test에 依해 實施하였다.

實驗 結果 및 考察

다당류의 收率—Caldes 등의 方法에 準하여 *Mori Radicis Cortex*, *Olibanum* 및 *Sappan Lignum*을 대상으로 다당류의 추출, 분리 및 정제를 실시하여 본 結果 其收率은 各 1.30, 0.84, 및 0.06%이었다.

사염화탄소에 依한 ICR-mice의 급성 肝손상 유발時 식물성 다당류 투여가 Hexobabital-수면 시간에 미치는 영향—Table II에 제시한 바와 같이 silymarin 처리群보다는 그정도가 약하나 시료군 모두가 현저한 수면시간의 단축을 보여주고 있다. 사염화탄소만의 처리군(51.50±1.75)에 比하여 *Mori Radicis Cortex* 다당류(以下 Mori-ps)가 (37.29±1.59)로써 68.0%, *Sappan Lignum* 다당류(以下 Sappan-ps)가 40.35±1.73으로써 53.4%, 그리고 *Olibanum* 다당류(以下 Olibanum-ps)가 40.68±1.61로써 51.8%의 수면시간의 단축을 보여주고 있다.

사염화탄소에 의한 ICR-mice의 급성간손상 유발時 시료 다당류 투여가 S-GOT 및 S-GPT 활성화에 미치는 영향—Table III에서 보는 바와 같이 S-GOT의 경우는 Mori-ps, Sappan-ps 및 Olibanum-ps 모두가 사염화탄소 단독투여군에 비해 현저하게 낮은 효소활성을 나타내고 있으며 특히 Sappan-ps와 Olibanum-ps 처리군은 대조군(평균활성치 132.10±12.88)과 silymarin 처리군(평균활성치 131.11±10.10)에 접근하는 효소활성을 보여주고 있다. Sappan-ps와 Olibanum-ps군의 평균 S-GOT치는 각 128.28±12.88과 138.67±12.92였다. S-GOT의 경우도 사염화탄소 단독투여군에 비해 현저하게 낮은 효소 활성을 나타내고 있으나 그 수준이 대조군(평균활성치 28.26±2.58)이나 silymarin 처리군(36.45±1.06)에는 이르지 못하는 Sappan-

Table II—Effects of some phytobased polysaccharides on the duration of sleeping time induced by hexobarbital in carbon tetrachloride intoxicated mice.*

Group	Duration of Sleep (minutes)
1. Control	30.61±0.91
2. CCl ₄	51.50±1.75 ^{a)}
3. Silymarin	33.73±1.52 ^{b)}
4. Sappan-ps**	40.35±1.73 ^{b)}
5. Mori-ps**	37.29±1.59 ^{b)}
6. Olibanum-ps**	40.68±1.61 ^{c)}

a) p<0.001 vs. control group. b) p<0.001 vs. CCl₄ group. c) p<0.1 vs. CCl₄ group. *Values are expressed as mean+SD. **Sappan-ps: Polysaccharide from Sappan. Lignum. Mori-ps: Polysaccharide from Mori Radicis Cortex. Olibanum-ps: Polysaccharide from Olibanum.

Table III—Influences of polysaccharides on the activities of S-GOT and S-GPT in carbon tetrachloride intoxicated mice.*

Groups	Enzymes	S-GOT (IU/L)	S-GPT (IU/L)
Control		132.10 ± 12.88	28.86 ± 2.58
CCl ₄		232.52 ± 12.00 ^{a)}	117.40 ± 12.90 ^{a)}
Silymarin		131.11 ± 10.10 ^{b)}	36.45 ± 1.06 ^{b)}
Sappan-ps**		127.28 ± 9.41 ^{b)}	46.91 ± 3.80 ^{b)}
Mori-ps**		168.37 ± 15.37 ^{c)}	48.78 ± 6.50 ^{b)}
Olibanum-ps**		138.67 ± 12.92 ^{b)}	53.28 ± 2.70 ^{b)}

^{a)} p<0.01 vs. control group.^{b)} p<0.01 vs. CCl₄ group.^{c)} p<0.05 vs. CCl₄ group.

* Values are expressed as mean±SD.

** For group abbreviations, See Table II.

Table IV—Effects of some phyto-based polysaccharides on the duration of sleeping time induced by hexobarbital in D-galactosamine intoxicated mice.*

Group	Duration of Sleep (minutes)
1. Control	26.30±1.22
2. D-Galactosamine	45.60±3.22 ^{a)}
3. Silymarin	32.17±1.89 ^{b)}
4. Sappan-ps**	33.20±1.35 ^{b)}
5. Mori-ps**	41.75±1.49 ^{b)}
6. Olibanum-ps**	30.50±2.11 ^{b)}

^{a)} p<0.01 vs. control group. ^{b)} p<0.01 vs. D-galactosamine group. * Values are expressed as mean±SD. ** For group abbreviations, see Table II.

ps군 46.91±3.80, Mori-ps군 48.78±6.50, Olibanum-ps 53.28±2.70이었다.

D-Galactosamine에 의한 ICR-mice의 급성간독성 유발時 시료다당류 투여가 Hexobarbital 수면시간에 미치는 영향—Table IV에 제시된 바와같이 Sappan-ps가 33.20±1.35, Mori-ps가 41.75±1.49 그리고 Olibanum-ps가 30.50±2.11로써 그 수준이 대조군(26.30±1.22)에는 미치지 못하나 silymarin 투여군(32.17±1.89)과는 유사하며 D-galactosamine 단독투여군에 비해서는 현저하고 유의성있는 수면시간의 단축을 나타내고 있다. silymarin 군이 69.6%, Sappan-ps군이 64.2%, Mori-ps군이 19.9% 그리고 Olibanum-ps군이 78.2%의 단축을 나타내고 있다.

Table V—Influences of polysaccharides on the activities of S-GOT and S-GPT in D-galactosamine intoxicated mice.*

Groups	Enzymes	S-GOT (IU/L)	S-GPT (IU/L)
control		133.72 ± 7.56	39.17 ± 3.38
D-galactosamine		209.52 ± 8.79 ^{a)}	81.78 ± 8.53 ^{a)}
Silymarin		154.00 ± 5.18 ^{b)}	46.95 ± 5.33 ^{c)}
Sappan-ps**		128.70 ± 19.26 ^{b)}	28.89 ± 3.79 ^{b)}
Mori-ps**		115.70 ± 10.73 ^{b)}	29.69 ± 5.79 ^{b)}
Olibanum-ps**		138.60 ± 19.28 ^{b)}	39.23 ± 10.09 ^{c)}

^{a)} p<0.01 vs. control group. ^{b)} p<0.01 vs. D-galactosamine group. ^{c)} p<0.05 vs. D-galactosamine group.

* Values are expressed as mean±SD.

** For group abbreviations, see Table II.

D-Galactosamine에 의한 ICR-mice의 급성간손상 유발時 시료다당류 투여가 S-GOT 및 S-GPT 활성에 미치는 영향—Table V에서 보는 바와 같이 S-GOT의 경우는 Sappan-ps군이 128.70±19.26, Mori-ps군이 115.70±10.73, 그리고 Olibanum-ps가 138.60±19.28로써 silymarin 처리군보다 더 대조군(133.72±7.56)에 접근하는 낮은 활성치를 보여주고 있다.

S-GPT의 경우는 D-galactosamine 단독투여군 81.78±8.53의 경우에 비해 시료군은 현저하게 낮은 치료 Sappan-ps 28.89±3.79, Mori-ps 29.69±5.79, Olibanum-ps 39.23±10.09로 모두 정상범위내에 있으며 silymarin처리군(46.95±5.33)보다도 좋은 결과를 나타내고 있다.

분자량 300,000이상의 다당류가 CCl₄ 및 D-Galactosamine의 간독성에 미치는 예방효과—S-GOT와 S-GPT의 활성수준으로 평가하고 실험방법은 Caldes 방법에 의해 얻은 다당류에 대해 실시할 前項들의 방법과 동일하게 실시하였다. 실험결과는 Table VI에 제시한 바와 같이 사염화탄소에 의한 간독성 유발時 S-GOT의 경우나 S-GPT의 경우 모두 Caldes 방법에 준하여 얻은 總粗다당류의 경우에 비해 간보호작용이 현저하게 미약함을 볼 수 있다.

Sappan-ps, Mori-ps, Olibanum-ps로 부터 分割한 300,000 이상의 분자량을 가진 다당류分割을 각 Sappan-ps-I, Mori-ps-I 은 각 154.10±9.23, 180.40±10.55로 특히 Mori-ps-I의 경우는 사염화탄소 단독처리군과 전혀 差가 없고 S-GPT의 경우는 Sappan-ps-I이 72.42±5.94, Mori-ps-I이 87.11±0.86 Olibanum-ps-I이 72.92±5.99로 사염화탄소 단독처리군 88.92±3.02에 비해 유의할 만한 差가 인정되고 있지 않아 Caldes 등의 방법에 따라 얻은 總粗다당류의 경우와 상이한 결과를 나타내고 있다. D-galactosamine에 의한 肝독성 유발의 경우도 S-GOT의 효소활성수준은 사염화탄소의 경우와 유사하게 Sappan-ps-I이 147.70±0.77, Mori-ps-I이 155.90±22.80, Olibanum-ps-I이 156.70±27.21이나 사염화탄소의 경우와는 달리 Sappan-ps-I가 가장 낮은 효소활성을 나타내고 역시 대조군 120.41±7.09에 비하면 유의할만한 효과로 평가 될 수 없다. S-GPT의 경우는 Sappan-ps-I이 48.88±6.02로써 Olibanum-ps-I의 경우는 처리군 40.74±1.47에 많이 접근하는 효소활성을 나타내었고 이와 같은 결과는 S-ALT에 거의 陽性的인 효과를 미치지 못하고 있는 사염화탄소의 경우와는 상이하다.

Table VI—Influences of the polysaccharide fraction(≥300,000 M. Wt) on the transaminases activities in carbon tetrachloride and galactosamine-intoxicated ICR-mice.*

Enzyme(IU/L)	Control	CCl ₄	Sappan-ps- I **	Mori-ps- I **	Olibanum-ps- I **
S-GOT	120.41±7.09	177.90±8.25 ^{a)}	154.10±9.23	180.40±10.55	136.60±7.05 ^{c)}
S-GPT	40.74±1.47	88.92±3.02 ^{d)}	72.42±5.94 ^{b)}	87.11±0.86	72.92±5.99 ^{b)}

Enzyme(IU/L)	Control	D-galactosamine	Sappan-ps- I	Mori-ps- I	Olibanum-ps- I
S-GOT	120.41±7.09	173.60±12.80 ^{e)}	147.70±0.77 ^{f)}	155.90±22.80	156.70±27.21
S-GPT	40.74±1.47	77.05±5.43 ^{a)}	61.89±8.55	57.13±11.62	48.88±6.02 ^{g)}

a) : p<0.001 vs. control group. b) : p<0.01 vs. CCl₄ group. c) : p<0.5 vs. CCl₄ group. d) : p<0.001 vs. control group. e) : p<0.01 vs. control group. f) : p<0.1 vs. D-galactosamine group. g) : p<0.02 vs. D-galactosamine group. *Values are expressed as mean±SD. **Sappan-ps- I : polysaccharide fraction (≥300,000 M. wt) from Sappan Lignum. Mori-ps- I : polysaccharide fraction (≥300,000 M. wt) from Mori Radicis cortex. Olibanum-ps- I : polysaccharide fraction (≥300,000 M. wt) from olibanum.

以上の結果들을 綜合해 보면 總粗多糖類의 경우 hexobarbital 수면시간에 미치는 영향은 사염화탄소 肝毒性的의 경우는 Mori-ps가 68%의 수면시간 短縮效果를 보이며 3種의 시료다당류중 으뜸이었고 D-galactosamine肝毒性的의 경우는 Olibanum-ps가 78%로 가장 많은 수면시간 短縮率을 보이고 있다. 이와같은 결과는 사염화탄소 中毒 mice와 D-galactosamine中毒 mice 間에 肝에서의 藥物代謝能의 差에 기인하는 것으로 사료된다.^{8,9,10)} 肝毒性 藥物의 種類에 따라 3種 多糖類 試料에 對한 反應에는 程度의 差가 있으나 모두 유의할만한 結果가 수면시간 측정시험에서 입증됨으로써 이들 化學物質들에 對한 肝毒性 豫防效果가 있을 것으로 豫測하고 特히 肝機能 測定에 가장 빈번하게 利用되고 있는 指標인 S-GOT와 S-GPT를 이용하여 Sappan-ps, Mori-ps 및 Olibanum-ps의 肝保護效果를 시험한 결과 사염화탄소에 의해 肝毒性 誘發의 경우 S-GOT, S-GPT의 活性이 정상수준에 접근하는 경향이 3種의 시료 다당류의 처리군에서 관찰되고 있으나 S-GOT의 경우 Sappan-ps 처리군과 Olibanum-ps 처리군이 정상치를 보이고 있는 반면 Mori-ps는 정상처리군보다 높은 酵素活性值를 나타내어 가장 肝保護效果가 미약한 것으로 보이나 hexobarbital 수면시간 측정시험에서는 오히려 Mori-ps가 가장 수면시간을 단축시키고 있고 S-GPT는 시료처리군 모두에서 정상보다 높은 酵素活性值를 나타내고 있어 各 파라메타間의 定量的인 關係가 성립되고 있지 않음을 알 수 있으며 따라서 수면시간 측정만으로 간보호작용물질의 검색을 수행하는 것은 적절하지 못한 것으로 사료된다. S-GPT의 活性은 試料群 모두에서 정상보다 높이나 나타내고 있는데 S-GOT가 이때 부응하는 酵素活性을 보이고 있지 않는 것은 두 酵素間의 현저한 生物學的 半減期의 差¹¹⁾, 肝세포손상의 정도등이 복합적으로 관여 될 것으로 고려되나 정확한 이유는 차후 실험을 통해 밝히고자 한다. D-galactosamine 肝毒性的의 경우는 수면시간 측정시 olibanum-ps가 78%의 단축을 나타내어 陽性對照群(positive control)으로 설정한 silymarin 70%보다 肝保護作用이 좋은 것으로 시준되었으나 Mori-ps는 수면시간 단축율이 20%로 간보호작용이 극히 미약한 것으로 보여지나 S-GOT와 S-GPT 두 효소활성을 측정해 본 결과 3種의 試料多糖類 처리군 모두에서 정상으로 측정되고 있어 D-galactosamine에 의한 肝毒性的은 Sappan-ps, Mori-ps 및 Olibanum-ps 각 25mg/kg/day의 用量에서 거의 안전하게 보호되는 것으로 酸素測定 試驗結果는 시사하고 있으나 수면시간측정 결과와 부합되지 않고 있어 차후 조직학적 검사를 시행할 필요가 있다고 사료된다.

肝毒性 誘發物質, S-GOT, S-GPT 및 수면시간 등을 綜合的으로 고려할 때 Sappan-ps와 Olibanum-ps가 비슷한 수준으로 Mori-ps보다 좋은 肝保護作用을 갖는 것으로 評價된다.

肝保護作用 活性物質을 추적하는 제 1 차 시도로 수행한 분자량 300,000 以上の 多糖類에 對한 肝保護作用을 S-GOT와 S-GPT를 指標로 實驗을 수행한 결과 Table V에서 보는 바와같이 有意할 만한 肝保護活性이 인정되고 있지 않아 分子量 300,000 以下の 다당류에 대한 보다 세분된 분석과 肝保護活性 검색이 필요하다고 사료되고 이에 대한 실험이 현재 진행중에 있다.

結 論

1. *Sappan Lignum*, *Mori Radicis Cortex* 및 *Olibanum*으로부터 다당류를 추출 분리, 정제하여 얻어진 總다당류의 ICR-mice에 있어서 CCl₄ 및 D-galactosamine에 의한 肝손상에 대한 보호작용을 검사하였다.

2. 上記 3種 생약으로부터 얻은 總 다당류들은 사염화탄소 및 D-galactosamine에 의한 肝독성에 유의할 만한 보호작용이 있는 것으로 관찰되었으며 특히 D-galactosamine에 의한 肝독성에 더

유효한 것으로 확인되었으며 이들 다당류들은 D-galactosamine 肝독성에 대해서는 positive control로 起因한 silymarin보다 보호작용이 더 강한 것으로 밝혀졌다.

3. 간 보호활성 다당류는 분자량 300,000 이하의 비교적 저분자량의 다당류일 것으로 추정된다.

文 獻

1. R.D. Woodson, and K.M. Cahill, *J. Am. Med. Assoc.* **219**, 1191 (1972).
2. Advances in Viral Hepatitis, Technical Report Series, **602**, (1977), W.H.O.
3. A. Bindoli, L. Cavallini and N. Silirandi, *Biochem. Phakmaol.* **26**, 2405.
4. K. Ito, H. Hidaka, *Jpn. Kokai Tokkyo* 80-76818 10 Jun. 1980.
5. D.L. Williams and N.R. DiLuzio, *Science* **208**, 67 (1980).
6. Caldes, G., *J. Gen. Appl. Microbiol.* **27**, 157 (1981).
7. V.G. Han, H.D. Lehmann, M. Kurten, H. Uebel and G. Vogel, *Arzneim. Forsch.* **18**, 698 (1968).
8. E. Tanaka, H. Kinoshita, T. Yoshida and Y. Kurowia, *Jpn. J. Pharmacol.* **32**, 1182 (1982).
9. A.H. Conny, C. Davision, R. Gastel and J.J. Burns, *J. Pharmacol. Exptl. Therp.* **130**, 1 (1960).
10. J.T. Wilson and L.A. Prohman, *J. Pharmacol. Exptl. Therp.* **189**, 255 (1974).
11. E. Buddecke, *Pathobiochemie*, 2 Auf. Walter de Gruyter, Berlin, New York (1983), p. 15.