動物生薬の指標成分の探索 (第5報) 感冒薬中の地竜の
確認のための指標成分

橋本晶夫,* 西 博行, 国仙谷良男, 佐藤忠司
田辺製薬株式会社分析研究所

Study on the "Signal" Constituents for the Evaluation of Animal
Crude Drugs. V. The "Signal" Constituents for the
Identification of Lumbricus in Cold Medicines

Akio HASHIMOTO,* Hiroyuki NISHI, Yoshio KOKUSENYA,
and Tadashi SATO

Analytical Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd., 3-16-89
Kashima, Yodogawa-ku, Osaka 532-0031, Japan

(Received January 5, 1998)

Lumbricus has been widely used as an antifebrile agent in cold medicines. The identification of each agent, especially crude drugs in formulations, is very important from the viewpoint of quality control. In this paper, the contents of amino acids, organic acids, nucleic acid components and cholesterol were investigated to evaluate the "signal" constituents of Lumbricus and Lumbricus extracts in the medicines. It was found that the content pattern of these components of Lumbricus extracts was almost the same as those in Lumbricus itself. However, most of other crude drugs used in cold medicines, also contain some of these components. It was difficult to identify Lumbricus through the difference in the content pattern of these components. Therefore, we focussed on such five constituents as cholesterol, lombricine, lactic acid, inosine and hypoxanthine, because lombricine is a characteristic amino acid of Lumbricus and the contents of other four components in Lumbricus are relatively high compared with those of other crude drugs. Lombricine and inosine were detected clearly in all seven commercial formulations investigated, and cholesterol and hypoxanthine were also detected except two commercial formulations. However, the detection of lactic acid was not successful in all formulations, because of the presence of interfering components. In the seven commercial cold medicines, lombricine and inosine were found to be useful as "signal" constituents for the identification of Lumbricus in cold medicines.

Key words—Lumbricus; lombricine; inosine; HPLC; quality control

地竜は古来解熱薬として利用されており, 多くの市販感冒薬に有効成分の1つとして, 主にエキスを配合されている。これら地竜配合感冒薬の品質評価及び品質確保のためには, 製剤中の地竜の確認が重要である。現在までに, 地竜の成分として解熱作用を有するロンブロフェリン, アラキドン酸, 気管支拡張作用を有する含窒素有効成分($C_5H_4N_4O$)の他, ロンブリチン, アルキルエーテル型リゾホスファチジルコリン類などが報告されている。^{1,2)} 我々は動物生

薬の指標成分に関する一連の研究を行っており、既に、コレステロール、アミノ酸、有機酸及び核酸塩基類の種類並びにそれらの含量パターンが動物生薬により異なることを見出し、これら成分が動物生薬の品質評価のための指標成分として有用であることを報告した。³⁻⁶⁾ 今回は、地竜及びそのエキスについて、これら成分の測定を行い、市販感冒薬中の地竜の確認法への適用の可能性について検討を行った。

実 験 の 部

1. 試料

地竜 6 検体 (日本薬局方外生薬規格 1989 適合品: タイ産-日本市場品 3 検体及び中国産-日本市場品 3 検体), 地竜エキス 3 検体, 甘草エキス 3 検体, 人参エキス 3 検体, 南天エキス 3 検体及び葛根湯エキス 3 検体は, 日本粉末薬品より入手した。また, 地竜配合感冒薬 7 種類 (錠剤 3 種類, 顆粒 2 種類, カプセル剤 1 種類及び液剤 1 種類) は, いずれも市販品を購入した。

Table 1 に地竜配合感冒薬の生薬エキス類の処方量を示す。これらには生薬エキス以外の有効成分として, アセトアミノフェン, 無水カフェイン, *d*-マレイン酸クロルフェニラミン, *dl*-塩酸メチルエフェドリン, リン酸ジヒドロコデイン, ヒベンズ酸チペピジン, アスコルビン酸, エテンザミド及び硝酸チアミンのいずれか数種が配合されている。

2. 試薬

コレステロール (ナカライテスク(株)製, 試薬特級), 乳酸 (片山化学(株)製, 試薬特級), ヒポキサンチン (コージン社製, 含量 99.0% 以上), イノシン (コージン社製, 含量 99.0% 以上), アセトニトリル (MeCN), メタノール (MeOH), イソプロパノール及びヘキサン (片山化学(株)製, HPLC 用), 3-メルカプトプロピオン酸 (3-MPA), リン酸二水素ナトリウム, リン酸水素二ナトリウム, 炭酸カリウム (K₂CO₃), EDTA (片山化学(株)製, 試薬特級), 過塩素酸, リン酸及び酢酸アンモニウム, *p*-トルエンスルホン酸 (*p*-TSA) (片山化学(株)製, 試薬特級), *o*-フタルアルデヒド (OPA), 水酸化ナトリウム及びホウ酸 (片山化学(株)製, アミノ酸分析用), Tris (片山化学(株)製, 生化学用) は, 市販品を購入した。ロンプリシンの標準品は, 田辺 R & D サービス(株)により合成されたものを使用した。

3. 装置

島津(株)製 SCL-10A 型システムコントローラー, 島津(株)製 SIL-10A 型オートインジェクター, 島津(株)製 LC-10AD 型ポンプ, 島津(株)製 CTO-10A 型恒温槽, 島津(株)製 SPD-10A 型検出器, 島津(株)製 SPD-M6A 型フォトダイオードアレイ検出器, 東ソー(株)製 FS-8010 型蛍光検出器, 東ソー(株)製 CM-1000 型電気導度検出器, YMC(株)製ガードカラム YMC-

Table 1. The Content of Extracts in Cold Medicines^{a)}

Cold medicine ^{b)}	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7
Lumbricus	450	450	300	400	300	1155	200
Glycyrrhizae radix	750	750	945	1500	1500	900	— ^{c)}
Nandinae fructus	1500	1500	— ^{c)}	— ^{c)}	— ^{c)}	— ^{c)}	— ^{c)}
Ginseng radix	— ^{c)}	— ^{c)}	— ^{c)}	— ^{c)}	— ^{c)}	— ^{c)}	30
Kakkon-to	— ^{c)}	— ^{c)}	— ^{c)}	— ^{c)}	— ^{c)}	— ^{c)}	3500
Units	9 tab.	6 cap.	9 tab.	12 tab.	3 pack	3 pack	30 ml

a) mg(corresponding weight as crude drug)/units, b) No. 1: tablets of company A, No. 2: capsules of company A, No. 3: tablets of company B, No. 4: tablets of company C, No. 5: granules of company C, No. 6: granules of company D, No. 7: liquids of company D, c) not contained.

Guardpack AM-302 (5 μ m, 4.6 mm i.d. $\times$ 10 mm), YMC(株)製カラム YMC-Pack ODS-AM AM-302 (5 μ m, 4 mm i.d. $\times$ 150 mm), Yokokawa 製ガードカラム PCS5-052 (5 mm i.d. $\times$ 50 mm), Yokokawa 製カラム SCS5-252 (5 mm i.d. $\times$ 250 mm) 及び島津(株)製カラム SCR-101H (7.9 mm i.d. $\times$ 300 mm) を使用した。

4. 測定方法

4-1. 検体の調製 原生薬及び錠剤は粉碎し、カプセル剤、顆粒剤の内容物及び液剤はそのままを分析用試料として使用した。

4-2. コレステロール 原生薬——地竜 0.1 g に、無水硫酸ナトリウム 1 g, 水 15 ml 及びヘキサン-イソプロパノール混液 (3:2) 15 ml を加えて、10 分間激しく振とうした後、3000 回転で 5 分間遠心分離し、上層 (有機相) を分取する。さらに、ヘキサン-イソプロパノール混液 (3:2) 10 ml ずつによる抽出を 2 回繰り返す。全有機相を合わせ、40°C 以下、窒素気流下で溶媒を留去した。残留物に移動相 5 ml を正確に加えて溶かし、試料溶液とした。

エキス、錠剤、カプセル剤、顆粒剤——地竜 0.1 g 量に相当する試料量を量り、原生薬と同様に操作を行い、試料溶液を調製した。ただし、残留物に加える移動相は 1 ml とした。

液剤——地竜 0.1 g 量に相当する液剤 (15 ml) に無水硫酸ナトリウム 1 g を加えた後、原生薬と同様に操作を行い、試料溶液を調製した。ただし、残留物に加える移動相は 1 ml とした。

標準溶液の調製——コレステロール約 5 mg を精密に量り、移動相を加えて溶かし、正確に 100 ml とし、標準溶液とした。

上記の試料溶液及び標準溶液につき、次の条件で分析を行った。

操作条件——注入量: 50 μ l, 検出器: 紫外吸光光度計 (測定波長, 210 nm), カラム: YMC-Pack ODS-AM AM-302 (4.6 mm i.d. $\times$ 150 mm)。

カラム温度: 40°C, 移動相: MeOH-0.1 mol/l 酢酸アンモニウム混液 (97:3), 流量: 1.0 ml/min。

4-3. ロンブリシン 原生薬——地竜 0.1 g に、0.1 mol/l HCl 2.5 ml を加え、1 時間超音波処理した後、10% トリクロロ酢酸 2.5 ml を加える。10 分間放置後、遠心分離し、上澄液を試料溶液とした。

エキス、錠剤、カプセル剤、顆粒剤——地竜 0.1 g 量に相当する各試料量を量り、原生薬と同様に操作を行い、試料溶液を調製した。

液剤——地竜 0.1 g 量に相当する液剤 (5 ml) に 1 mol/l 塩酸 0.5 ml 及び 10% トリクロロ酢酸 5 ml を加え、試料溶液とした。

標準溶液の調製——ロンブリシン約 1 mg を精密に量り、0.1 mol/l HCl 2.5 ml を加えて溶かした後、10% トリクロロ酢酸 2.5 ml を加え、標準溶液とした。上記の試料溶液及び標準溶液 10 μ l に試薬 A (3-MAP 20 μ l + 0.1 mol/l ホウ酸緩衝液 (pH 9.0) 15 ml) 320 μ l, 試薬 B (OPA 20 mg + MeOH 5 ml + 0.1 mol/l ホウ酸緩衝液 (pH 9.0) 10 ml) 320 μ l 及び水 340 μ l を順次加えた後、混合する。25°C で 2 分間放置した後、HPLC により測定を行った。以上の操作は、すべて SIL-10A を用いて自動で行った。

操作条件——注入量: 10 μ l, 検出器: 蛍光検出器 (励起波長: 345 nm, 蛍光波長: 450 nm), カラム: YMC-Pack ODS-AM AM-302 (4.6 mm i.d. $\times$ 150 mm), カラム温度: 45°C, 移動相: A 液) 0.01 mol/l リン酸塩緩衝液 (pH 6.8), B 液) 0.01 mol/l リン酸塩緩衝液 (pH 6.8)・MeCN 混液 (3:2), 流量: 1.0 ml/min, B 液濃度: 0 min (0%) $\rightarrow$ 20 min (10%) $\rightarrow$ 25 min (100%) $\rightarrow$ 40 min (100%) $\rightarrow$ 45 min (0%) $\rightarrow$ 55 min (0%)。

4-4. 乳酸 原生薬——地竜 0.1 g に、水 2 ml を加えて 30 分間超音波処理した後、3000 回転で 5 分間遠心分離した。上澄液 1 ml を正確に量り、溶離液 1 ml を正確に加えた後、限外ろ過し、ろ液を試料溶液とした。

エキス、錠剤、カプセル剤、顆粒剤——地竜 0.1 g 量に相当する各試料量を量り、原生薬と同様に操作を行い、試料溶液を調製した。

液剤——地竜 0.1 g 量に相当する液剤 (5 ml) に、*p*-TSA を 5 mg 加えた後、限外ろ過し、試料溶液とした。

標準溶液の調製——乳酸約 50 mg を精密に量り、5 mmol/l *p*-TSA を加えて溶かし、正確に 100 ml とし、標準溶液とした。上記の試料溶液及び標準溶液につき、次の条件で分析を行った。

操作条件——注入量: 50 μ l, 検出器: 電気電導度検出器 (極性: +, レンジ: 20 μ S/フルスケール), カラム: SCS5-252 (5 mm i.d. $\times$ 250 mm) 及び SCR-101H (7.9 mm i.d. $\times$ 300 mm), カラム温度: 40°C, 溶離液: 10 mmol/l *p*-TSA, 反応液: 10 mmol/l *p*-TSA, 0.2 mmol/l EDTA, 40 mmol/l Tris, 溶離液流量: 0.8 ml/min, 反応液流量: 0.8 ml/min.

4-5. イノシン 原生薬——地竜 0.1 g に、氷冷した 4% 過塩素酸 2 ml を加えた後、0°C で、10 分間放置した。放置後、上澄液 1 ml に 2 mol/l K_2CO_3 0.15 ml を加え、10 分間放置後、ろ過し、ろ液を試料溶液とした。

エキス、錠剤、カプセル剤、顆粒剤——地竜 0.1 g 量に相当する各試料量を量り、4% 過塩素酸 2 ml を加えた後、原生薬と同様に操作を行い、試料溶液を調製した。

液剤——地竜 0.1 g 量に相当する液剤 (2 ml) に過塩素酸 (2 ml) を加えた後、原生薬と同様に操作を行い、試料溶液を調製した。

標準溶液の調製——イノシン 26 mg を精密に量り、4% 過塩素酸を加えて溶かし、正確に 50 ml とした。この液 1 ml を正確に量り、4% 過塩素酸 3 ml を正確に加える。この液 1 ml に 2 mol/l K_2CO_3 0.15 ml を加え、10 分間放置後、ろ過し、ろ液を標準溶液とした。

上記の試料溶液及び標準溶液につき、次の条件で分析を行った。なお、各成分の確認は、フォトダイオードアレイ検出器により行った。

操作条件——注入量: 10 μ l, 検出器: 紫外吸光光度計 (測定波長: 254 nm) 及びフォトダイオードアレイ検出器, カラム: YMC-Pack ODS-AM AM-302 (4.6 mm i.d. $\times$ 150 mm), カラム温度: 30°C, 移動相: A 液) 0.1 mol/l リン酸塩緩衝液 (pH 3.8), B 液) 0.1 mol/l リン酸塩緩衝液 (pH 3.8)-MeCN-MeOH 混液 (4:3:3), 流量: 0.7 ml/min, B 液濃度: 0 min (1%) $\rightarrow$ 25 min (20%) $\rightarrow$ 30 min (100%) $\rightarrow$ 50 min (100%) $\rightarrow$ 55 min (1%) $\rightarrow$ 75 min (1%)。

4-6. ヒポキサンチン 原生薬——地竜 0.1 g に、4% 過塩素酸 2 ml を加えた後、90°C で、15 分間加熱した。放冷後、上澄液 1 ml に 2 mol/l K_2CO_3 0.15 ml を加え、10 分間放置後、ろ過し、ろ液を試料溶液とした。

エキス、錠剤、カプセル剤、顆粒剤——地竜 0.1 g 量に相当する各試料に、4% 過塩素酸 2 ml を加えた後、原生薬と同様に操作を行い、試料溶液を調製した。

液剤——地竜 0.1 g 量に相当する液剤 (2 ml) に過塩素酸 (2 ml) を加えた後、原生薬と同様に操作を行い、試料溶液を調製した。

標準溶液の調製——ヒポキサンチン 13 mg を精密に量り、4% 過塩素酸を加えて溶かし、正確に 50 ml とする。この液 1 ml を正確に量り、4% 過塩素酸 3 ml を正確に加える。この液 1 ml に 2 mol/l K_2CO_3 0.15 ml を加え、10 分間放置後、ろ過し、ろ液を標準溶液とした。

上記の試料溶液及び標準溶液につき、イノシンの操作条件と同様の条件で分析を行った。

結果及び考察

地竜及び地竜エキス成分の特徴 動物生薬に含有されていることが明らかとなっているコレステロール、アミノ酸、有機酸及び核酸塩基類について、地竜及び地竜エキス中のこれら成分の含量を測定し、比較検討を行った。アミノ酸は34種類、有機酸は10種類、核酸塩基類は19種類を対象として測定した。結果をFig. 1—3に示す。地竜と地竜エキス中のアミノ酸は含量パターンが若干異なるものの、ほぼ同種のアミノ酸が検出された。また、有機酸では乳酸が最も多く含有され、核酸塩基類ではイノシンが最も多く含有されるなど、両者の有機酸及び核酸塩基類はほぼ同様の含有パターンを示した。すなわち、地竜エキス中のアミノ酸、有機酸及

Fig. 1. Typical Chromatograms of Amino Acids in Lumbricus and Lumbricus Extract

A: Lumbricus, B: Lumbricus extract, Asp: aspartic acid, Glu: glutamic acid, Ser: serine, AspNH₂: asparagine, Gly: glycine, Thr: threonine, Arg: arginine, Ala: alanine, Tyr: tyrosine, Val: valine, Ile: isoleucine, Leu: leucine, Lys: lysine, Conditions: see ref. 4.

Fig. 2. Typical Chromatograms of Organic Acids in Lumbricus and Lumbricus Extract

A: Lumbricus, B: Lumbricus extract. Conditions: see text 4-4.

Fig. 3. Typical Chromatograms of Nucleic Acid Components in *Lumbricus* and *Lumbricus* Extract

A: *Lumbricus*, B: *Lumbricus* extract, C: *Lumbricus*, after hydrolysis in 4% HClO_4 at 90°C , D: *Lumbricus* extract, after hydrolysis in 4% HClO_4 at 90°C , Ura: uracil, IMP: inosinic acid, Gua: guanine, Hyp: hypoxanthine, Urd: uridine, Ino: inosine, Guo: guanosine, Ado: adenosine. Conditions: see text 4-5.

び核酸塩基類の種類並びに含量パターンは、地竜での各成分の種類及び含量パターンを反映していると考えられ、これら成分が地竜エキスの品質評価のための指標成分と成り得ることが確認された。

製剤中の地竜エキス確認のための指標成分 地竜エキス以外の甘草エキス、南天実エキス、人參エキスなどの生薬エキスについて種々検討したところ、数種類のアミノ酸、有機酸及

Table 2. The Contents of Five Constituents^{a)}

Sample	Cholesterol	Lombricine	Lactic acid	Inosine	Hypoxanthine
<i>Lumbricus</i> (Thailand)	3.07 ± 0.43	10.88 ± 0.71	11.30 ± 1.48	2.07 ± 0.51	1.92 ± 0.30
<i>Lumbricus</i> (China)	3.71 ± 0.48	8.09 ± 2.30	13.24 ± 0.91	2.75 ± 0.57	2.25 ± 0.40
Extract					
<i>Lumbricus</i>	0.18 ± 0.04	1.27 ± 0.40	6.77 ± 0.17	1.28 ± 0.03	1.28 ± 0.03
<i>Glycyrrhizae radix</i>	N.D. ^{b)}	N.D. ^{b)}	N.D. ^{b)}	N.D. ^{b)}	N.D. ^{b)}
<i>Nandinae fructus</i>	N.D. ^{b)}	N.D. ^{b)}	N.D. ^{b)}	N.D. ^{b)}	N.D. ^{b)}
<i>Ginseng radix</i>	N.D. ^{b)}	N.D. ^{b)}	N.D. ^{b)}	N.D. ^{b)}	N.D. ^{b)}
Kakkon-to	N.D. ^{b)}	N.D. ^{b)}	(3.3) ^{c)}	N.D. ^{b)}	N.D. ^{b)}
Medicine					
No. 1	0.19	2.06	(7.0) ^{c)}	1.23	1.30
No. 2	0.20	2.00	(7.3) ^{c)}	1.26	1.29
No. 3	0.13	1.15	(6.6) ^{c)}	0.92	0.29
No. 4	— ^{d)}	2.07	(6.2) ^{c)}	0.97	— ^{d)}
No. 5	— ^{d)}	1.84	(6.4) ^{c)}	1.03	— ^{d)}
No. 6	0.07	0.53	(2.5) ^{c)}	0.45	0.41
No. 7	0.05	0.43	(23.8) ^{c)}	0.34	0.21
Detection limit	0.02	0.02	0.50	0.03	0.02

a) mg/g (corresponding weight as *Lumbricus*), mean $\pm$ S.D., b) N.D.: not detected, c) Estimated values were shown in round brackets. d) not successful.

び核酸塩基類が含有されていることが分かり、地竜エキスのこれら成分の含量パターンを実際の製剤中に見出すこと（パターン分析）による地竜エキスの確認は困難であることが分かった。

そこで、地竜特有のアミノ酸であるロンブリシン,⁷⁾ 他の生薬と比較して地竜で大きな含量値を示した乳酸、イノシン及び動物特有の成分であるコレステロールを指標成分として選択し、これらを対象とした地竜エキスの確認方法について検討した。また、イノシンは、ヒポキサンチンへ定量的に加水分解させて測定することも可能であるので、ヒポキサンチンによる地

Fig. 4. Typical Chromatograms for the Detection of Lombricine in Cold Medicines

A: cold medicine No. 2, B: cold medicine No. 3, C: cold medicine No. 5, D: cold medicine No. 7, Glu: glutamic acid. Conditions: see text 4-3. Arrow shows the peak of lombricine.

Fig. 5. Typical Chromatograms for the Detection of Lactic Acid in Cold Medicines

A: cold medicine No. 2, B: cold medicine No. 3, C: cold medicine No. 5, D: cold medicine No. 7. Conditions: see text 4-4. Arrow shows the peak of lactic acid.

Fig. 6. Typical Chromatograms for the Detection of Inosine in Cold Medicines

A: cold medicine No. 2, B: cold medicine No. 3, C: cold medicine No. 5, D: cold medicine No. 7. Conditions: see text 4-5.

Arrow shows the peak of inosine.

Fig. 7. Typical Chromatograms for the Detection of Hypoxanthine in Cold Medicines

A: cold medicine No. 2, B: cold medicine No. 3, C: cold medicine No. 5, D: cold medicine No. 7, Ino: inosine. Conditions: see text 4-5.

Arrow shows the peak of hypoxanthine.

Fig. 8. Typical Chromatograms for the Detection of Cholesterol in Cold Medicines

A: cold medicine No. 2, B: cold medicine No. 3, C: cold medicine No. 5, D: cold medicine No. 7. Conditions: see text 4-2.

Arrow shows the peak of cholesterol.

竜エキスの確認法についても検討した。

タイ産地竜3ロット、中国産地竜3ロット及び地竜エキス3ロットの測定結果を Table 2 に示す。産地の異なる地竜間では各成分の含量に大きな違いは認められなかったが、地竜エキス中の各成分含量は、地竜と比較して小さな値を示した。特に、地竜エキス中のコレステロール及びロンブリシン含量は、地竜に対してそれぞれ約5%及び約13%と少なかった。次に、今回の検討に用いた感冒薬中に配合されている地竜エキス以外の4種類の生薬エキスについて、これら各成分の含量を測定した (Table 2)。葛根湯エキスに乳酸が検出された他はいずれの成分も認められず、これら5成分が地竜エキスの指標成分として使用可能であることが示唆された。

そこで最後に、実際の市販感冒薬4社、7種類について、これら各成分の含量を測定した (Table 2 及び Fig. 4—8)。ロンブリシン及びイノシンは、いずれの製剤でも良好に検出された。一方、コレステロール及びヒポキサンチンは2種類の製剤で、乳酸はすべての製剤で妨害が認められた。

結 論

地竜エキスでのアミノ酸、有機酸及び核酸塩基類の種類並びに含量パターンは、地竜での種類及び含量パターンを反映しており、これら成分が地竜エキスの品質評価のための指標成分と成り得ることが分かった。さらに、地竜に特徴的な成分であるロンブリシン並びに他の生薬と比較して地竜に多く含有されているコレステロール、乳酸、イノシン及びヒポキサンチンについて、感冒薬中の地竜エキスを確認するための指標成分としての適用の可能性を検討したところ、今回使用した製剤では、ロンブリシンとイノシンが適していることが分かった。

引用文献

- 1) 難波恒雄 “原色和漢薬図鑑 (下),” 保育社, 大阪, 1980, pp. 253—255.
- 2) Noda N., Tunefuka S., Tanaka R., Miyahara K., *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 1349—1351 (1992).
- 3) 山崎一矢, 橋本晶夫, 国仙谷良男, 宮本尚明, 松尾賢明, 佐藤忠司, *Natural Medicines*, **48**, 53—57 (1994).
- 4) Hashimoto A., Yamasaki K., Kokusenya Y., Miyamoto T., Sato T., *Chem. Pharm. Bull.*, **42**, 1636—1641 (1994).
- 5) Hashimoto A., Yamasaki K., Kokusenya Y., Miyamoto T., Nakai H., Sato T., *Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 2195—2199 (1995).
- 6) Hashimoto A., Nakamura T., Kokusenya Y., Nakai H., Sato T., *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 487—491 (1997).
- 7) Euerby M. R., Partridge L. Z., Gibbons W. A., *J. Chromatogr.*, **445**, 433—440 (1988).