

털목이버섯의 毒性에 관한 研究

金 河 元

서울대학교 藥學大學

Studies on Toxic Components of *Auricularia polytricha*

Ha Won Kim

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

Abstract—To screen biologically active components of the higher fungi of Korea, the dried carpophores of *Auricularia polytricha* were extracted with water. The extract was examined for acute toxicity in ICR mice. A low molecular weight toxin of this fungus was purified by acetone precipitation followed by cellulose, silica gel and LH-20 Sephadex column chromatography. Major symptoms of this toxin were eye extrusion, hair erection, trembling of head, paralysis, rapid running or moving before death and depression of respiration. The median lethal doses of the total extract were 1.25 g/kg and 4.18 g/kg by *i.p.* and *p.o.* administrations, respectively. The amounts of one mouse lethal unit (MLU) of the total extract and final fraction that killed a 20-g mouse within 30 minutes were 28.5 mg/mouse and 12 mg/mouse, respectively.

Keywords—*Auricularia polytricha* · acute toxicity test · toxin · median lethal dose · mouse lethal unit

현재까지 알려진 독버섯중 가장 독성이 강력한 것은 *Amanita*속 버섯이며, 이에 관해서는 1937년에 Wieland등이 amatoxin과 phallotoxin의 결정체를 얻으므로써 본격적인 연구가 진행되었다.¹⁾ Amatoxin과 phallotoxin은 구조가 유사하며 모두 열에 안정한 cyclopeptide구조를 가지고 있으며,^{2~4)} 이들은 간과 신장에 주로 손상을 주는 것으로 밝혀졌다.^{5~10)} 또한 이들 독성 물질의 작용을 이용하여 미량 정량에도 이용되었는 바, Malone 등은 여지를 이용하여 muscarine을 정량하였으며,¹¹⁾ Tyler등은 chromatography를 이용하여 독성 물질을 확인하였으며,¹²⁾ Mullenrman등은 DNase I의 활성을 측정하므로써 phallotoxin을 미량 정량하였다.¹³⁾

*Amanita*속 버섯에는 amatoxin과 phallotoxin 이외의 독성 물질도 계속 밝혀지고 있다. Horgen

등은 *Amanita ocreata*에도 *Amanita phalloides*의 독성 물질을 함유하고 있음을 밝혔으며,¹⁴⁾ Faulstich등은 *Amanita virosa*에서 phallotoxin과 구조가 유사한 cyclopeptide toxin인 virotoxin을 분리하여 그 구조를 밝혔다.¹⁵⁾ Buku등은 *Amanita virosa*에서 α -amanitin과 구조가 약간 다른 새로운 독성 물질인 amaninamide를 발견하였다.¹⁶⁾

한편 식용 버섯에서도 독성 물질이 발견되고 있는 바, Lin등은 1973년에 식용 버섯인 *Volvariella volvacea*에서 적혈구 파괴와 경련 등을 유발시키는 volvatoxin을 발견했으며,¹⁷⁾ 또한 이들은 1974년에 식용 버섯인 *Flammulina velutipes*에서 또 다른 독성 물질인 flammutoxin을 발견하였으며,¹⁸⁾ 1975년에 이들은 flammutoxin도 적혈구 파괴를 일으키는 작용을 가지고 있음을 보고 하였다.¹⁹⁾ Goose등은 식용 가능하거나 적어

도 비독성 버섯으로 간주된 *Tricholomopsis platyphylla*에 의해 중독된 사례를 보고하였으며,²⁰⁾ Seeger 등은 식용버섯으로 알려진 *Amanita rubescens*에서 추출한 rubescenslysin이 *in vitro*에서 직접 적혈구를 파괴시키므로써 독성을 발현하며 mouse와 rat의 경우 적혈구 파괴, 혈장 과량 유출, 심장 독성 및 중추신경계 독성을 나타내므로써 급성 독성을 발현한다고 보고하였다.²¹⁾

목이 *Auricularia auricula*에 관해서는 Ukai 등에 의해 꾸준히 연구되었으며, 이들은 1972년에 흰목이를 열탕 추출하여 protein을 제거한 순수 polysaccharide를 얻었으며,²²⁾ sarcoma-180 육종에 대한 항암효과도 있음을 보고하였다.²³⁾ 1974년에 이들은 흰목이에서 acidic heteroglycan을 추출, 정제하였으며,²⁴⁾ 1977년에는 acidic heteroglycan이 α -1,3 linked D-mannopyranose backbone을 가진 물질임을 밝혔다.²⁵⁾ 1981년에 Kiho 등은 흰목이에서 추출한 acid polysaccharide는 O-acetyl group이 mannose의 4,6 위치에 존재함을 규명하였다.²⁶⁾

또한 Ukai 등은 목이 *Auricularia auricula*에 관해서도 연구를 진행하였는 바, 70% ethyl alcohol로 가열 추출하여 얻은 acid heteroglycan이 α -1,3 linked D-mannopyranose backbone으로 구성되어 있으며, 분자량은 30만 및 37만의 고분자임을 증명하였으며,²⁷⁾ 1983년에 이르러서는 이들 acid heteroglycan이 항암효과가 있음을 보고하였다.²⁸⁾

털목이 *Auricularia polytricha*에 관해서는 최근에 와서 서서히 연구가 진행되었다. Hammschmidt는 치아를 뽑은 환자가 털목이를 과량 섭취한 결과 3일간 지속적인 코피가 유발됨을 발견하여, 연구결과 털목이에는 혈소판 응집을 저해하는 물질이 함유되어 있음을 *in vivo*로 실험하였으며, 그 물질은 열에 안정하고 분자량은 10만 이하이나 protein이나 salicylate류는 아님을 보고하였으며,²⁹⁾ Makheja 등은 털목이를 물로 추출한 후 유기용매로 처리해도 환성물질은 수층에만 남아있으며, adenosine deaminase를 처리하여 활성이 제거됨을 통해 혈소판응집을 저해하는 물질은 adenosine임을 주장하였다.³⁰⁾ 그후 Agarwal 등은 털목이를 인산완충액으로 추출하

여 HPLC를 사용하여 adenosine이 존재함을 확인한 후, adenosine 표준품과 털목이 추출물에 대해 *in vitro*로 혈소판 응집 실험을 비교했다. Adenosine deaminase로 처리한 결과 adenosine은 혈소판 응집을 유발하지만 털목이 추출물은 계속 혈소판 응집저지 능력을 가지고 있었으므로 adenosine 이외에 또 다른 물질이 있음을 시사하였다.³¹⁾ 그후에도 털목이의 혈소판 응집 저해 물질에 관한 논란은 계속되었는바, Hokama 등은 표고, 양송이, 털목이, 흰목이에서 저분자 물질을 추출하여 혈소판 응집 여부를 실험한 결과 털목이와 표고 추출물이 강력한 저지효과를 나타냈으며, adenosine을 platelet rich plasma와 2시간동안 반응시킨 후 ADP를 첨가했을 경우는 응집이 유발되었지만, 표고나 털목이의 추출물을 platelet rich plasma와 2시간동안 반응시킨 후 ADP를 첨가하였을 경우는 혈소판 응집이 저해되었다. 또한 이들 추출물의 UV 최대흡수는 255-258 nm였으므로 adenosine이 아닌 다른 물질임을 주장하였다.³²⁾

저자 등은 털목이에서 고분자 독성 물질인 Auratoxin I 및 II를 분리하여 보고한 바 있다.³³⁾ 그러나, 털목이의 저분자 독성물질에 관한 보고는 아직 없다. 다만 털목이에서 추출한 저분자 물질이 cell culture에서 독성을 발현하며, blastogenic inhibitory factor가 존재함을 보고한 연구보고가 있을 뿐이다.³⁴⁾

저자 등은 털목이의 저분자 물질을 다우스 복강내 투여시 급성 독성을 발현함을 밝혔기에 보고하고자 한다.

실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에 사용한 재료는 털목이 *Auricularia polytricha* (the family *Auriculariaceae*)의 자실체로서, 수원 농촌진흥청 균이과에서 재배한 것을 사용하였다. 포자의 형태는 콩팥 모양을 하고 있으며, 일명 black tree fungus 또는 Jew's ear로 불리기도 한다.

2. 추출 및 분리

건조시킨 털목이 100 g을 단위로 하여 3 L의 증류수로 40°C에서 12시간씩 2회 추출하였

다. 추출액을 여과하여 농축한 액에 동량의 CHCl_3 을 넣어 맹렬히 진탕하여 CHCl_3 layer와 H_2O layer-1으로 나누었다. H_2O layer-1 fraction에 다시 동량의 EtOAc를 넣어 진탕하여 EtOAc layer와 H_2O layer-2로 나누었다. H_2O layer-2는 농축하여 2배의 cold acetone (-20°C)을 가하여 침전물을 제거시켰다. 여기서 얻은 상정액은 다시 농축하여 EtOAc : MeOH : NH_4OH = 10 : 10 : 2 : 0.2 (v/v)의 용매 조건으로 cellulose column chromatography를 실시하여 active fraction을 모았다. 분획시는 ninhydrine 발색시약을 TLC상에 분사하여 발색물질들을 기준으로 나눈후 mouse에 주사하여 독성물질이 함유된 fraction을 계속 분리했다. Active fraction을 다시 농축하여 CHCl_3 : MeOH : NH_4OH = 15 : 3 : 0.05 (v/v)의 용매 조건으로 silica gel column chromatography를 실시하여 A(150 ml), B(31 ml), C(200 ml), D(160 ml), E(270 ml), F(300 ml) fraction으로 나누었다. 그중 C fraction과 E fraction이 독성효과를 나타내었다. 양이 많고 독성이 큰 C frac-

tion을 농축하여 MeOH을 용매로하여 LH-20 Sephadex column chromatography를 이용하여 더욱 정제를 한 결과 C_1 , C_2 , C_3 및 C_4 fraction으로 분리하였다. 독성시험 결과 C_2 fraction이 독성을 나타내어 MeOH : CHCl_3 = 1 : 1 (v/v)의 용매 조건으로 LH-20 Sephadex column chromatography를 한번 더 사용하여 active fraction을 얻었으며, 이것을 CH_2Cl_2 용매에서 재결정을 시도하여 백색의 결정을 얻었다(Fig. 1).

3. LD₅₀의 측정

1) 복강주사에 의한 LD₅₀

사용동물은 서울대학교 동물사육장에서 구입한 ICR마우스(암컷) 중 체중 20 ± 2 g에 해당하는 것을 사용하였으며, H_2O layer-2 fraction에 대하여 Litchfield Wilcoxon법에 따라 복강투여에 의한 LD₅₀ 및 95% 신뢰한계를 구하였다. 예비 실험을 통하여 최소 및 최대 용량을 결정한 후 최소용량에 공비 1.15되게 5 실험군으로 증량하여 복강주사 하였으며, 각 실험군은 10마리였다.

2) 경구투여에 의한 LD₅₀

20 ± 2 g의 ICR 마우스(암컷)를 사용하여 H_2O layer-2 fraction에 대해 Litchfield Wilcoxon법에 따라 경구투여에 의한 LD₅₀ 및 95% 신뢰한계를 구하였다. 각 실험군은 10마리를 사용하였다.

4. 용량-사망 시간에 관한 실험

1) Mouse lethal unit의 설정

급성 독성을 발현하는 물질은 LD₅₀보다 mouse lethal unit (MLU)을 설정하는 것이 필요하다. 털목이의 저분자 독성물질인 경우 1 MLU은 마우스(20 g)을 15~30분 사이에 죽일수 있는 양으로 정하였다. 사망의 기준은 근육 운동 및 호흡 운동이 정지된 시각을 사망 시간으로 정하였다.

2) 시료 투여

체중 20 ± 2 g의 ICR 마우스(암컷)를 사용하였으며, 각 group은 3마리를 사용하였으며, H_2O layer-2 fraction을 복강 주사하여 주사후부터 사망까지의 시간(분)을 측정하였으며, 주사 용량은 19.0, 28.5, 47.5, 57.0, 85.5 및 114.0 mg/mouse를 각각 주사하여 각 실험군의 사망 시간을 측정하였다.

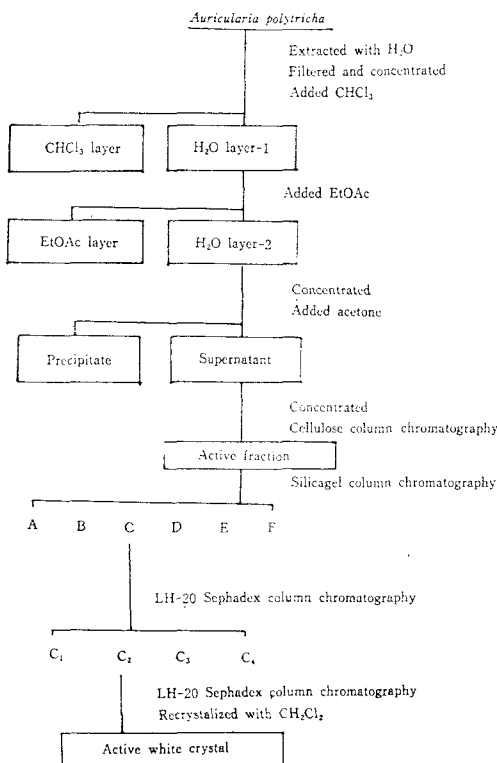


Fig. 1. Extraction and isolation of low molecular weight toxins from *Auricularia polytricha*.

실험 결과

1. 독성 물질의 물리 화학적 성상

털목이를 물로 추출하여 CHCl_3 와 EtOAc 의 유기용매로 분획을 나누어 본 결과 독성 물질은 계속 수층에 남아 있었다. Acetone 침전법을 이용하여 고분자 물질을 제거하여도 역시 수층에 독성 물질이 존재하였다. Cellulose 및 silica gel column을 사용한 결과 C fraction에 독성 물질이 존재하였다. LH-20 Sephadex를 사용하여 C fraction을 4분획한 결과 C_2 fraction이 독성 물질을 함유하고 있었다. 한번 더 LH-20 Sephadex를 이용하여 정제한 후, CH_2Cl_2 용매에서 재결정을 시도하여 백색의 침상 또는 판상의 결정을 얻었다. 백색 결정은 CH_2Cl_2 또는 CHCl_3 용매에서 계속 공침 현상이 일어났으며, $\text{BuOH} : \text{Pyridine} : \text{H}_2\text{O} = 4 : 1 : 1$ 의 TLC 용매 조건에서 4~5개의 spot을 나타내었다. 물에는 극히 잘 용해되며, MeOH , EtOH , EtOAc 의 순으로 가열하면 용해하지만 실온에서는 난용이었다. 이 백색 결정의 mp는 $200 \sim 205^\circ\text{C}$ 이었다.

2. 독성 물질의 생리적 특징

털목이를 추출한 엑기스 또는 분리중 독성을 발현하는 fraction을 경구 또는 복강 주사하였을 경우 발현되는 일반 증상은 소량에서는 행동 둔화, 체모 기립 등을 나타내었으며, 사망을 초래할 정도의 대량에서는 전율, 두부 진동, 안구 돌출, 상하지 마비 등의 증세를 발현하였다. 1 MLU를 주사하였을 경우, 10~15분 후부터 운동 실조 내지 운동 마비를 나타내기 시작하였다. 이러한 현상은 바닥에 작은 원형 구멍이 뚫린 경사판 위에 올려 놓았을 경우 힘없이 굴러 떨어지는 것을 관찰하였다. 그리고 사망 직전에는 복부를 바닥에 깔고 사지를 흔들다가 결국 사망하였다. 최후에는 호흡수가 점차 감소하였으며 가끔 심호흡을 하였다. 근육 운동 및 호흡이 완전 정지한 상태를 사망기준으로 정하였으며, 사망 후에도 심장운동은 수분간 계속되었다(Table I).

3. LD_{50} 의 측정

1) 복강 주사에 의한 LD_{50}

Table I. Major symptoms of low molecular weight toxin of *Auricularia polytricha* in mice

1. Decrease of normal motility
2. Eye extrusion
3. Hair erection
4. Trembling of head
5. Paralysis
6. Rapid running or moving before death
7. Depression of respiration

Table II. LD_{50} of the water extract of *Auricularia polytricha*

Animal	Route of administration	LD_{50} (mg/kg)
mouse	<i>i.p.</i>	1245.1(1115.6~1389.6)
	<i>p.o.</i>	4180.0(3991~4378)

The figures in parentheses indicate 95% confidence limit.

H_2O layer-2 fraction에 대해 Litchfield Wilcoxon 법에 따라 실시하였다. Table II에 보인 바와 같이 LD_{50} 은 1.25 g/kg이었으며, 95% 신뢰한계는 1.12~1.39 g/kg이었다.

2) 경구 투여에 의한 LD_{50}

H_2O layer-2 fraction에 대해서 Litchfield Wilcoxon 법에 따라 ICR 마우스에 경구 투여하여 LD_{50} 을 측정하였다. Table II에 보인 바와 같이 LD_{50} 은 4.18 g/kg이었으며, 95% 신뢰한계는 3.99~4.38 g/kg이었다.

4. 용량-사망 시간에 관한 실험

1) Mouse lethal unit의 결정

H_2O layer-2 fraction을 완전 농축하여 증류수에 용해시켜 95 mg/mouse를 주사한 결과 3분만에 사망하였으며, 47 mg/mouse를 복강 주사한 결과 10분만에 사망하였고, 28.5 mg/mouse를 복강 주사한 결과 13분만에 사망하였다. 위의 실험결과를 참고하여 1 MLU은 15~30분만에 치사시킬 수 있는 량으로하고 28.5 mg/mouse를 1 MLU로 하였다. 또한 건조 털목이 100 g에는 약 667 MLU이 함유되어 있었다.

2) 용량-사망 시간

1 MLU을 28.5 mg/mouse로하여 19.0, 28.5, 47.5, 57.0, 85.5, 114 mg/mouse를 한 실험군당

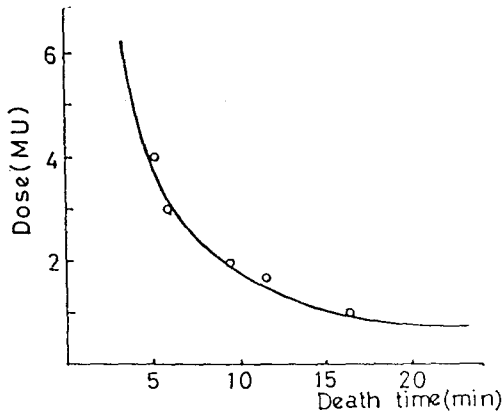


Fig. 2. Dose-death time curve of the water extract from *Auricularia polytricha*. One mouse unit (28.5 mg/mouse, *i.p.*) was defined to kill mouse in 15-30 min

3마리로하여 20 ± 2 g의 ICR 마우스(암컷)에 복강 주사하여 사망시간을 측정한 결과 각각 60분 이상, 11.6분, 9.3분, 6분, 5.3분이었다(Fig. 2). 또한 C fraction과 최종 분리 물질의 1 MLU은 각각 25.0과 12.0 mg/mouse이었다.

고 찰

털목이에서 저자 등은 이미 고분자의 Auratoxin I 및 II를 분리하여 보고한 바 있다³³⁾ Auratoxin I 및 II의 일반 증상이 복부 경련, 수면, 진율, 눈물 과잉 분비, 코피, 귀 및 발톱의 충혈 등의 증상을 발현함에 비해 본 논문에서 보고한 저분자 물질의 독성 증상은 행동 둔화, 체모 기립, 진율, 두부 진동, 안구 돌출, 상하지 마비, 호흡 마비 등의 증상을 나타내어 완전히 다른 물질임을 나타내었다. 또한 추출 액기스를 투석했을 경우에 저분자 독성 물질은 투석막을 통과함을 미루어 볼 때 저분자 독성 물질과 Auratoxin과는 완전히 별개의 물질임을 시사하고 있다. 털목이의 저분자 물질이 독성을 발현할 수 있다는 사실은 Hokama 등이 blood mononuclear cell (PBL)을 cell culture하였을 때 털목이 추출물을 첨가했을 때 cell viability를 저하시킨다고 보고한 바 있을 뿐이다.³⁴⁾

최종적으로 분리된 fraction은 4~5개의 혼합물이지만 IR, NMR을 측정하여 본 결과 benzene

ring은 함유하지 않았으며, 3급 또는 4급 amine 계통의 물질군으로 추정되었다. 각 물질의 독성 강도를 살펴보면 H₂O layer-2 fraction은 1 MLU가 28.5 mg/mouse이었으며, C fraction은 25 mg/mouse, 최종 분리한 백색 결정은 12 mg/mouse이었다. 총액기스의 독성에 비해 분리 정제되어도 MLU가 크게 감소하지 않은 이유는 첫째, 총액기스에는 여러가지 독성 물질이 공존하기 때문에 독성이 강했으며, 둘째는 분리, 정제 과정에서 열 등에 의해 독성이 감소했으리라 사료된다. 털목이의 H₂O layer-2 fraction의 LD₅₀은 복강 및 경구 투여시 각각 1.25와 4.18 g/kg을 나타내었다. 또한 털목이 100 g에는 650~700 MLU이 함유되어 있어 매우 생리활성이 강한 물질들을 함유하고 있음에 틀림없다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 털목이 추출물은 마우스의 경구나 복강 투여에 있어서 심한 독성을 발현하므로, 현재 식용 또는 강장제로 많이 사용되고 있는 점을 고려할 때, 털목이 버섯을 다른 강장제의 엑기스처럼 추출농축액을 복용할 경우에는 당장은 사망하지 않더라도 장기연용할 경우에는 독성을 초래할 위험을 내포하고 있다. 또한 독성 물질을 미량이라도 정량할 수 있는 bioassay를 확립하는 것이 필요하며, 털목이의 저분자 독성 물질의 정확한 구조에 관해서는 계속 연구 중이다.

결 론

털목이에서 추출한 저분자 독성 물질에 관하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 털목이 총액기스의 복강 및 경구 투여시 LD₅₀은 각각 1.25와 4.18 g/kg이었다.
2. 건조 털목이 100 g에는 650~700마리의 마우스(20 g)를 15~30분에 치사시킬 수 있는 량의 저분자 독성 물질이 함유되어 있었다.
3. 털목이 총액기스와 정제후 얻은 백색 결정의 1 mouse lethal unit은 각각 28.5와 12.0 mg/mouse이었다.
4. 털목이의 저분자 독성 물질의 증상은 행동 둔화, 체모 기립, 진율, 두부 진동, 안구돌출, 상하지 마비 및 호흡 마비 등이었다.

감사의 말씀 : 이 연구에 소요되는 경비의 일부는 보건장학금으로 충당되었으며, 이에 대하여 감사하는 바이다.

〈1985년 11월 15일 접수 ; 12월 12일 수리〉

문 헌

1. Wieland, T. and Faulstich, H.: *Crit. Rev. Biochem.* 5, 185 (1978).
2. Hatfield, M.: *Lloydia* 3, 36 (1975).
3. Wieland, T., Beijer, B., Seeliger, A., Dabrowski, J., Zanotti, G., Tonelli, A. E., Gieren, A., Dederer, B., Lamm, V. and Hadicke, E.: *Liebigs Ann. Chem.* 2318 (1981).
4. Nozoe, S. and Kasano, G.: *Pharmacy* 17, 723 (1981).
5. Hanelin, L.G. and Moss, A.A.: *Am. J. Roentgenol. Radium Ther. Med.* 125, 782 (1975).
6. Ott, J., Wheaton, S. and Chilton, W.S.: *Physiol. Chem. Phys.* 7, 381 (1975).
7. Preston, J.F., Stark, H.J. and Kimbrough, J.W.: *Lloydia* 38, 153 (1975).
8. Mengs, U. and Trost, W.: *Arch. Toxicol.* 48, 61 (1981).
9. Yamaura, Y., Maezawa, H., Takabatake, E. and Hashimoto, T.: *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 22, 203 (1981).
10. Yamaura, Y., Maezawa, H., Takabatake, E. and Hashimoto, T.: *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 23, 314 (1981).
11. Malone, M.H., Robichaud, R.C., Tyler, V.E. and Brady, L.R.: *Lloydia* 24, 204 (1961).
12. Tyler, V.E., Brady, L.R. and Benedict, R.G.: *Lloydia*, 26, 154 (1963).
13. Mullersman, J.E. and Preston, J.F.: *Anal. Biochem.* 119, 266 (1982).
14. Horgen, P.A. and Ammirati, J.F.: *Lloydia* 39, 368 (1976).
15. Faulstich, H., Buku, A., Bodenmuller, H. and Wieland, T.: *Biochem.* 19, 3334 (1980).
16. Buku, A., Wieland, T., Bodenmuller, H. and Faulstich, H.: *Experimentia* 36, 33 (1980).
17. Lin, J.Y., Jeng, T.W., Chen, C.C., Shi, G. Y. and Tung, T.C.: *Nature* 246, 524 (1973).
18. Lin, J.Y., Lin, Y.J., Chen, C.C., Wu, H.L., Shi, G.Y. and Jeng, T.W.: *Nature* 252, 235 (1974).
19. Lin, J.Y., Wu, H.L. and Shi, G.Y.: *Toxicol.* 13, 323 (1975).
20. Goose, R.D. and Shoop, C.R.: *Mycologia* 72, 433 (1980).
21. Seeger, R., Odental, K.P. and Mengs, V.: *Toxicol.* 19, 409 (1981).
22. Ukai, S., Hirose, K. and Kiho, T.: *Chem. Pharm. Bull.* 20, 1347 (1972).
23. Ukai, S., Hirose, K., Kiho, T., Hara, C., Irikura, T., Tanachika, T. and Hasegawa, Y.: *Chem. Pharm. Bull.* 20, 2293 (1972).
24. Ukai, S., Hirose, K., Kiho, T. and Hara, C.: *Chem. Pharm. Bull.* 22, 1102 (1974).
25. Ukai, S., Hirose, K., Kiho, T. and Hara, C.: *Chem. Pharm. Bull.* 25, 338 (1977).
26. Kiho, T., Hara, C. and Ukai, S.: *Chem. Pharm. Bull.* 29, 225 (1981).
27. Ukai, S., Morisaki, S., Koto, M., Kiho, T., Hara, C. and Hirose, K.: *Chem. Pharm. Bull.* 30, 635 (1982).
28. Ukai, S., Kiho, T., Hara, C., Morita, M., Goto, A., Imaizumi, N. and Hasegawa, Y.: *Chem. Pharm. Bull.* 31, 741 (1983).
29. Hammerschmidt, D.E.: *N. Engl. J. Med.* 302, 1191 (1980).
30. Makheja, A.N. and Bailey, J.M.: *N. Engl. J. Med.* 304, 175 (1981).
31. Agarwal, K.C., Russo, F.X. and Parks, R.E.: *Thromb. Haemostas.* 48, 162 (1982).
32. Hokama, J.L.R.Y.: *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.* 31, 177 (1981).
33. Kim, H.W., Choi, E.C. and Kim, B.K.: *Kor. J. Microbiol.* 22, 223 (1984).
34. Hokama, Y., Cripps, C., Hokama, J.L.R.Y., Sato, M.A.L. and Kimura, L.H.: *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.* 41, 157 (1983).