

ALGAE PREPARATIONS AS A SOURCE OF BENEFICIAL HEALTHY SUBSTANCES

(Oryg. Preparaty zawierające algi źródłem
substancji prozdrowotnych)

JĘKOT Barbara¹, RZEWIŃSKA Aleksandra², HAŁASZUK Patrycja²,
ROJOWSKI Jacek³, MUSZYŃSKA Bożena²

1. Apteka, Pl. Braci Dudzińskich 1a, 30-556 Kraków
2. Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego, Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków
3. Katedra Chemii Nieorganicznej i analitycznej, Wydział Farmacji, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30 688 Kraków, Polska

Abstract

Algae used in OTC preparations and as functional food are available in the form of finished formulations: powders – lyophilisates, tablets, pills, capsules, and are widely used in cosmetics. In these formulations most commonly used species of algae is cyanobacteria: *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) and *Arthrospira maxima* (*Spirulina maxima*), species of red algae – red algae of the genus *Porphyra*: *Porphyra yezoensis* and *Porphyra tenera* and brown algae – *Fucus vesiculosus* and green algae for example: *Chlorella vulgaris*.

They are used in cosmetology, pharmacy, food industry, agriculture and environmental protection. Hence, getting to know the current state of the market and knowledge of the preparations containing algae and the promotion of knowledge about their effectiveness is expedient to influence effectively on the prevention of civilization diseases. Conducting a survey on knowledge of the preparations of algae, efficiency and preventive properties may allow to know the current state of knowledge in Poland, about the development of effective promotion in order to use of them. The aim of the study was to assess the knowledge and the possibility of using supplements and food additives containing algae and assessment of the effectiveness of activities in the first reinforcement and anti-aging preparations containing algae in the studied groups of people.

Algae due to the fact that are a source of many substances such as amino acids, proteins, minerals, vitamins, polysaccharides, lipids, and polyamides, which are necessary for the proper functioning of the human body, have been used in various industries.

Keywords: Algae, antioxidant activity, anti-aging activity, *Arthrospira sp*, *Spirulina*, Eucaryota

Corresponding author: Bożena Muszyńska, muchon@poczta.fm

Wstęp

Algi, glony (łac. *Algae*, gr. *Phykos*) tą nazwą określamy plechowate, najczęściej samożywne organizmy żyjące w środowisku wodnym i miejscach wilgotnych. Występują we wszystkich strefach geograficznych, w wodach słodkich, stonych, chłodnych lub ciepłych. Były one jednymi z pierwszych organizmów zdolnych do fotosyntezy jakie pojawiły się na Ziemi. Najstarsze doniesienia odnośnie ich występowania sięgają 3,5 miliarda lat temu. Według systematyki należą do królestwa jądrowych (*Eukaryota*) i podkrólestwa roślin (*Phytobionta*) jednak niektórzy przedstawiciele mogą należeć również do królestwa bezjądrowych (*Prokaryota*)

czyli do gromady sinic (*Cyanobacteria*). Wśród alg można znaleźć zarówno organizmy jednokomórkowe, jak i wielokomórkowe o zróżnicowanej wielkości od kilku milimetrów (mikroalgi) do paru metrów (makroalgi). Mogą one mieć budowę bezkankową i tworzyć tzw. plechy. Jej fragmenty mogą przybierać kształt podobny do liścia, łodygi lub korzenia. Te części plechy pełnią określone funkcje, np. część przypominająca korzenie jest odpowiedzialna za zakotwiczenie algi w dnie morskim lub przytwierdzenie jej do innej rośliny bądź też pancerza skorupiaków. Algi ze względu na to, że stanowią źródło wielu substancji takich jak: aminokwasy, białka,

minerały, witaminy, polisacharydy, lipidy oraz poliamidy, które są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka, znalazły zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu. Są wykorzystywane m.in. w lecznictwie, przemyśle spożywczym, kosmetycznym, rolnictwie i ochronie środowiska. Algi stosowane w preparatach OTC oraz jako żywność funkcjonalna są dostępne w postaci gotowych preparatów: proszków – liofilizatów, tabletek, pigułek, kapsułek oraz wykorzystywane są powszechnie do produkcji kosmetyków. W preparatach tych najczęściej stosuje się gatunki sinic: *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) i *Arthrospira maxima* (*Spirulina maxima*), gatunki krasnorostów – alg czerwonych z rodzaju *Porphyra*: *Porphyra yezoensis* i *P. tenera* oraz brunatnic – *Fucus vesiculosus*. Jednym z ciekawszych przedstawicieli alg o szerokim zastosowaniu w przemyśle farmaceutycznym, spożywczym i kosmetycznym jest sinica – Spirulina. *Arthrospira* jest rodzajem należącym do rzędu *Oscillatoriales*, swobodnie pływających sinic występujących w postaci cylindrycznych, wielokomórkowych nitkowatych lewoskrętnych kolonii. Do suplementów diety zaliczane są gatunki *Arthrospira platensis* i *Arthrospira maxima* inaczej Spirulina [1,2]. Prawidłową nazwą jest *Arthrospira*; jednak myśląc, starszy termin Spirulina pozostaje w użyciu ze względów historycznych. [1,2]. *Arthrospira platensis* i *Arthrospira maxima* występują naturalnie w jeziorach tropikalnych i subtropikalnych o wysokim pH i wysokim stężeniu węgla i wodorowęglanu. [3]. *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) występuje w Afryce, Azji i Ameryce Południowej, a zasięg występowania *Arthrospira maxima* ogranicza się do Ameryki Środkowej, natomiast *Arthrospira pacifica* jest endemitem występującym na Hawajach [2]. Żywili się nią już starożytni Aztekowie oraz pierwotni mieszkańcy Afryki z okolic jeziora Czad. W Afryce jest ona spożywana przez niektóre plemiona w postaci placków o nazwie Dihe. Wykonuje się je z wysuszonych na słońcu mat. W latach 60. ubiegłego wieku wykonano pierwszą analizę biochemiczną *Arthrospira platensis*. Pod koniec lat 70. rozpoczęła się masowa hodowla alg, a w 1979 roku, w Stanach Zjednoczonych, wprowadzono na rynek pierwszy suplement na jej bazie. Większość upraw spiruliny prowadzi się w izolowanych basenach w otwartym ocenie, a specjalne koła łopatkowe stosowane są do mieszania wody. [3]. Największe uprawy komercyjne Spiruliny

znajdują się w Stanach Zjednoczonych, Tajlandii, Indiach, Tajwanie, Chinach, Pakistanie, Birmie (vel Myanmar), Grecji i Chile [2]. Liofilizowana Spirulina wchodzi w skład grupy produktów leczniczo-odżywczych przeznaczonych przez NASA dla suplementacji załóg misji kosmicznych. *Arthrospira* (Spirulina) od dłuższego czasu jest wykorzystywana, jako dodatek do diety ze względu na dużą wartość odżywczą i brak działania niepożądanego preparatów ją zawierających. Białko (65-79% składu i jest kompletnym źródłem aminokwasów) zawiera 20 aminokwasów podstawowych, w tym 8 aminokwasów egzogennych i 12 endogennych). Białka *Arthrospira* nie wywołują alergii. Zawartość lipidów w Spirulinie wynosi około 7% wagowych i jest ona bogata w kwas α -linolenowy (GLA), a także dostarcza kwasu α -linolenowego (ALA), kwasu linolowego (LA), kwasu stearydonowego (SDA), kwasu eikozapentaenowego (EPA), kwasu dokozahexaenowego (DHA) i kwasu arachidonowego (AA). *A. platensis* gromadzi znaczne ilości kwasu gamma-linolenowego (GLA). Związek ten, należący do grupy kwasów tłuszczowych Ω -6, opóźnia proces starzenia komórek, a także przyspiesza gojenie się ran. Atopowe zapalenie skóry może być jednym z efektów niedoboru kwasu GLA w organizmie. Spirulina jest źródłem witamin takich jak; C, E, PP (niacyna) oraz witamin z grupy B (B_1 , B_2 , B_6 , B_{12}). Stanowi bogate źródło minerałów: P, Fe, Ca, K, Na, Mg, zawiera również kwas foliowy, kwas pantotenowy i inozytol oraz barwniki. Fikocyjanina, należąca do fikocybin (1% masy spiruliny) i głównie odpowiadająca za jej zdolność do neutralizacji wolnych rodników, jest niebieskim barwnikiem, nadającym *A. platensis* charakterystyczny, ciemnoturkusowy kolor. Ponadto zawiera ona karotenoidy: β -karoten w tym: 4 molekularne formy 9-cis, 13-cis, 15-cis i trans β -karoten, zeaksantynę, beta-kryptoksantynę i chlorofil a (4-25).

Brunatnic (*Phaeophyta*) są głównym źródłem jodu w morzach słonych. W Bałtyku występuje morskocyn pęcherzykowy (*Fucus vesiculosus*), który obok morskocynu piłkowanego (*Fucus serratus*) i workoliścia członowatego (*Ascophyllum nodosum*) mają swoje monografie w Farmakopei Polskiej IX. Brunatnice zawierają do 64 mg/100 g jodu w suchej masie. Polisacharydy są szeroko pozyskiwane z brunatnic i są to przede wszystkim kwas alginowy i fukoidan – polisacharyd, który jest typowym związkiem dla tej gromady. Przeprowadzone badania potwierdziły działania

fukoidanu, takie jak: przeciwnowotworowe, przeciwzkrzepowe, przeciwwirusowe, przeciwważpalne czy antyoksydacyjne (26-28). Porphyran – agarozą stanowiąca 40% masy *Porphyra tenera* (Nori – alga z której produkuje się papier do sushi) ma działanie immunostymulujące (29).

Ze względu na powyższe przykładowe właściwości alg, poszukiwanie suplementów, które mogą pomóc w zapobieganiu chorobom cywilizacyjnym, podnosić kondycję i wydolność fizyczną organizmu człowieka we współczesnym świecie, w którym pośpiech często nie pozwala na prawidłowe posiłki, preparaty suplementujące, łatwo przyswajane i pozbawione efektów ubocznych mogą zdecydowanie wpływać na zdrowie i funkcjonowanie ludzi. Sytuacja demograficzna w Europie, w tym również w Polsce, wskazuje na postępujące starzenie się społeczeństw. Proces starzenia doprowadza do wielu zmian somatycznych, które wpływają na zmniejszanie się funkcji poszczególnych narządów i układów. Preparaty i żywność z algami zawierając znaczącą zawartość antyoksydantów wykazują działanie przeciwstarzeniowe. Stąd poznanie obecnego stanu rynku i wiedzy na temat preparatów zawierających algi oraz propagowanie wiedzy na temat ich skuteczności jest celowe, aby wpływać skutecznie na profilaktykę polegającą na przeciwdziałaniu chorobom cywilizacyjnym. Przeprowadzenie ankiety dotyczącej znajomości preparatów zawierających algi, skuteczności i profilaktycznych właściwości może pozwolić na poznanie aktualnego stanu wiedzy w Polsce odnośnie tej tematyki i opracowanie skutecznej promocji w celu ich prozdrowotnego stosowania. Celem pracy była ocena przez respondentów ankiety znajomości i możliwości stosowania suplementów i dodatków do żywności zawierających algi oraz ocena skuteczności przede wszystkim działania wzmacniającego i przeciwstarzeniowego preparatów zawierających algi.

Metoda badawcza

Ankieta dotycząca stosowania preparatów zawierających Algi. Planowane badania były anonimowe. Każda badana osoba była poinformowana o celu i metodzie badawczej oraz o tym, że wyniki badań posłużą jedynie do celów naukowych. Wykorzystane w badaniu ankiety wypełniane były samodzielnie przez osoby badane lub przez osoby przeprowadzające badanie (członków zespołu badawczego). Zebrane dane

zostały zabezpieczone i wykorzystane tylko do celów badawczych.

Grupa badana

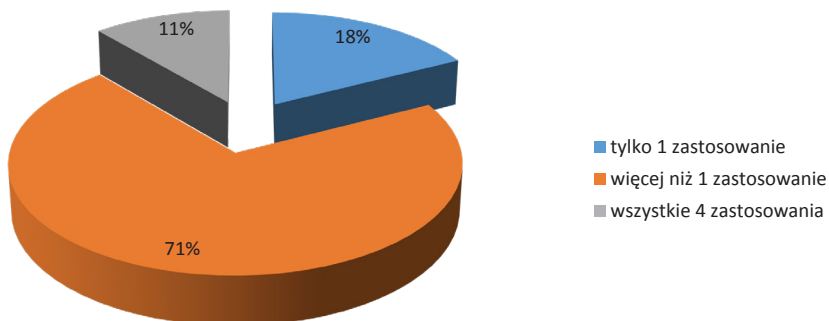
Zaproszenie do udziału w badaniu skierowano do osób dorosłych powyżej 18 roku życia zamieszkałych w Krakowie poprzez apteki, sklepy ze zdrową żywnością, restauracje wegetariańskie, kluby Fitness, kluby sportowe. Badanie przeprowadzono w trzech grupach: wegetarianie, osoby aktywne ruchowo, osoby starsze. Badania były prowadzone w ciągu 16 miesięcy. Czas rozpoczęcia badań – to styczeń 2015 roku i trwały do stycznia 2016. Po walidacji badań wykonano ankietyzację w trzech wymienionych grupach po około 200 osób z każdej z grup i oceniono ocenę zmiennych. Kryteria włączenia: kobiety i mężczyźni w wieku od 18 do 75; a kryteria wyłączenia: kobiety i mężczyźni w wieku poniżej 18 i powyżej 75 lat.

Wyniki i dyskusja

Spśród badanych osób pojęcie „algi” jest znane według przeprowadzonej ankiety przez ponad 84% ankietowanych. Wśród przedstawionej ilości osób znających to pojęcie praktycznie preparaty zawierające algi stosuje ponad 82% badanych. Procent populacji znającej preparaty zawierające algi, którzy znają więcej niż jedno zastosowanie wynosi prawie 18% (Ryc. 1) i kieruje się głównie poleceniem lekarza (Ryc. 2).

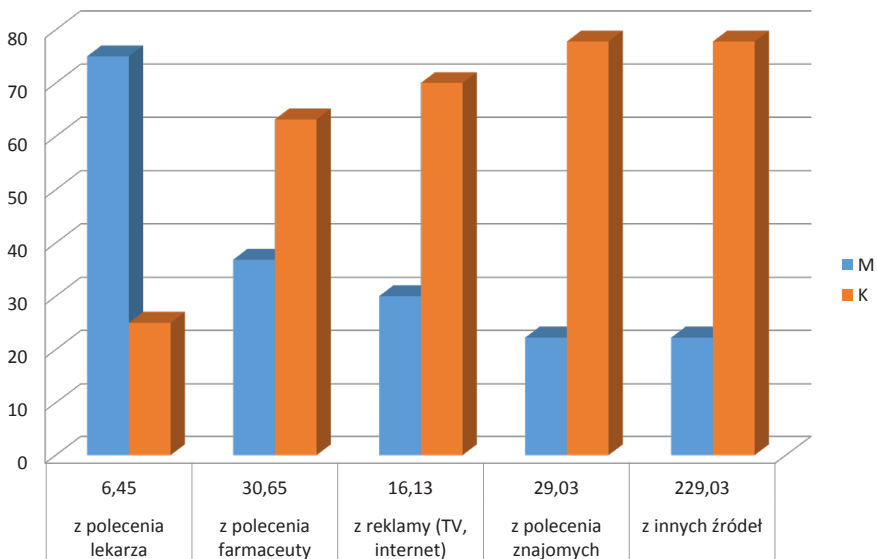
Kobiety (ponad 72%) częściej stosują preparaty z algami niż mężczyźni. Osobami najczęściej sięgającymi po preparaty zawierające te organizmy są osoby poniżej czterdziestego roku życia (53%). 45% procent ankietowanych osób deklaruje zdecydowane korzyści zdrowotne po zastosowaniu preparatów zawierających algi. Chęć ich stosowania tłumaczy ogólną poprawą stanu zdrowia (57%) spowodowaną, przede wszystkim zwiększeniem odporności organizmu, spowolnieniem procesów starzenia, pozytywnym wpływem na stan włosów i paznokci (30%), poprawieniem pracy układu pokarmowego (22%), lepszym gojeniem się ran (19%) oraz działaniem wspomagającym odchudzanie (14%). Powyższe udokumentowane przez ankietowanych opisywane odczucia są spowodowane bogactwem występujących w algach przeciwutleniaczy, witamin i biopierwiastków [1,2]. Na ostatnie z opisanych działań wpływa zawarty w algach jod [2]. Najbardziej znaną algą w kupowanych i aplikowanych preparatach jest według respondentów

Jaka jest znajomość zastosowania preparatów z algami?



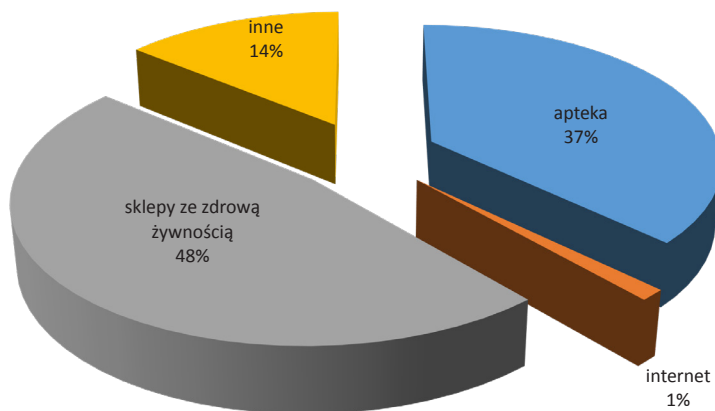
Ryc. 1. Znajomość zastosowania preparatów zawierających algi w Polsce

Skąd czerpane są informacje na temat stosowania preparatów zawierających algi?



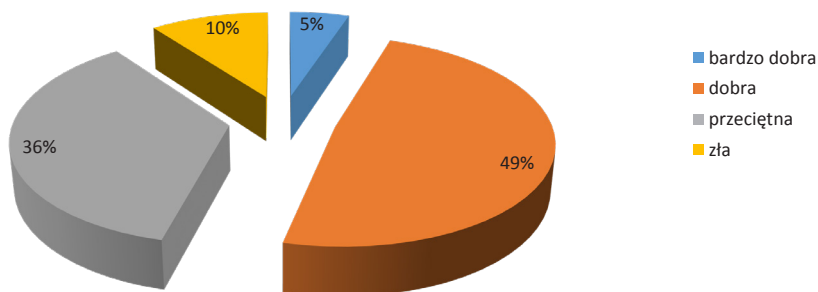
Ryc. 2. Źródła znajomości preparatów zawierających algi

Gdzie kupowane są preparaty zawierające algi?



Ryc. 3. Sposoby pozyskiwania preparatów zawierających algi

Jaki wpływ na stosowanie preparatów z algami ma sytuacja ekonomiczna badanych?



Ryc. 4. Wpływ sytuacji ekonomicznej pacjentów na stosowanie preparatów z algami

jest spirulina (sinica) – około 70%, a następnie zielenica – chlorella (29%). Preparaty zawierające w swoim składzie algi kupowane są głównie w sklepach ze zdrową żywnością i następnie w aptekach (48 i 37% odpowiednio).

Oczywiście czynnikiem wpływającym na stosowanie preparatów zawierających algi jest sytuacja ekonomiczna badanych, zwłaszcza, że dominującym zastosowaniem w Polsce tych środków są aplikacje kosmetyczne (Ryc.4).

Postacią preparatów zawierających algi deklarowaną, jako najczęściej przyjmowaną są tabletki (56%), opatrunki (4%) oraz z zastosowań kosmetycznych maseczki (38%). Najczęstsze stosowanie tabletek potwierdza fakt, że najchętniej w obecnych czasach sięgamy po zabierające najmniej czasu zastosowania licząc na szybką suplementację organizmu w niezbędne dla jego lepszego funkcjonowania środki.

Podsumowanie

W latach 2011-2015 odnotowano znaczący wzrost sprzedaży środków specjalnego przeznaczenia spożywcze, kosmetyków i leków sprzedawanych bez recepty (OTC). Uzasadnione jest to wysokim tempem życia współczesnego człowieka, co powoduje brak czasu na przestrzeganie zasad zrównoważonej diety. Skutkuje to rosnącym zainteresowaniem szybkim, farmakologicznym bilansowaniem niezbędnych biopierwiastków i minerałów przyjmowanych w formie łatwo dostępnych i dobrze przyswajalnych tabletek, proszków, syropów, suplementów diety oraz kosmetyków rozprowadzanych poprzez sieć aptek, drogerii i hipermarketów. Wśród preparatów kosmetycznych, OTC, suplementów diety, funkcjonalnej żywności uzupełniającej zapotrzebowanie na większość składników żywieniowych wspomagających dobry stan zdrowia jest coraz więcej takich, które zawierają algi. Algi ze względu na to, że stanowią źródło wielu substancji takich jak: aminokwasy, białka, minerały, witaminy, polisacharydy, lipidy oraz poliamidy, które są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka, znalazły zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu. Są wykorzystywane m.in. w przemyśle: farmaceutycznym, kosmetycznym. Spożywczym oraz w rolnictwie i ochronie środowiska.

Resumo

Algoj uzitaj en kuracaj substancoj vendeblej sen deviga kuracista preskribo kaj kiel specialaj nutraĵoj

estas havebla en la formo de pretaj formuliĝoj: pulvoroj - liofilizatoj, tablojdoj, piloloj, kapsuloj kaj estas vaste uzitaj en kosmetikajoj. En tiuj formuliĝoj plej kutime uzitaj specioj de algoj estas cianobakterioj, ekz. *Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) kaj *Arthrospira maximuma* (*Spirulina maximuma*), specioj de ruĝaj algoj - ruĝaj algoj de la genro *Porphyr*, *Porphyr* *yezensis* kaj *Porphyr* *tenera*, kaj brunaj algoj - *Fucus vesiculosus*, kaj verdaj algoj, ekzemple *Chlorella vulgaris*.

Ili estas uzataj en kosmetologio, farmacio, nutraĵa industrio, agrikulturo kaj mediprotektado. Pro tio ekono de nuna stato de la merkato kaj scio de la preparajoj enhavanta algojn kaj la antaŭenigo de scio pri ilia efikeco estas oportune influi efike sur la antaŭzorgo de civilizaciaj malsanoj. Farante enketon pri scio de la preparajoj enhavantaj algojn, ĝian efikecon kaj preventajn proprajojn povas malkovri la nunan staton de scio en Pollando kaj evoluigi efikan promocion por uzitaj ilin. La celo de la studo estis takado de la scio kaj la uzadebleco de suplementoj kaj manĝaĵoj kun aldonaĵoj enhavantaj algojn kaj pritakso de la plifortiga efikeco kaj de la anti-maljunigaĵantaj preparajoj enhavantaj algoj en la esploritaj homgrupoj.

Algoj pro la fakto, ke ili estas fonto de multaj substancoj kiel aminoacidoj, proteinoj, mineraloj, vitaminoj, polisakaridoj, lipidoj kaj poliamidoj, kiuj estas necesaj por la bona funkciado de la homa korpo, estis uzita en diversaj branĉoj de industrio.

Piŝmiennictvo

1. Muszyńska, B.; Jękot, B.; Mastalerz, T.; Sułkowska-Ziaja, K. Postępy Fitoterapii 2015, 3, 8-15.
2. Muszyńska, B.; Jękot, B.; Topolska-Pasek, M.; Rzewińska, A. Farmacja Polska . 2016, 7, 72
3. Szwejkowska, A.; Szwejkowski, J. Botanika tom 2. Wyd. 10. Warszawa: Szwejkowska A., Szwejkowski, J. Botanika tom 2. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2012. Wydanie X.
4. Braz, J. Microbiology, 2012, 43, 12-20.
5. Abdulqader, G.; Barsanti, L.; Tredici, M. Journal of Applied Phycology, 2000, 12, 493-498.
6. Cavalcante-Silva, L.; Brito da Matta, C.; Vital de Araújo, M.; Barbosa-Filho, J.; Pereira de Lira, D.; Santos, B.; Emmanuel, G.; Miranda, C.; Alexandre-Moreira, M. Marin Drugs, 2011, 10, 1977-1992.
7. Cutan, J. Aesthetic Surgery, 2013, 6, 4-11
8. Habib, M.; Ahsan, B.; Parvin, M.; Huntington, T.C.; Hasan Mohammad, R. A Review on Culture, Production and Use of Spirulina as Food for Humans and Feeds for Domestic Animals and Fish, Food and Agriculture Organization of The United Nations, Retrieved

- 2008, 20, 2011.
9. Guiry, M.D. *Arthrospira*. AlgaeBase. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Gal, 2008.
 10. Belay, A. *Spirulina (Arthrospira): Production and Quality Assurance*. *Spirulina in Human Nutrition and Health*, CRC Press, 2008, 1–25.
 11. Babadzhanyan, A.S. *Chemistry of Natural Compounds*, 2004, 40, 276–279.
 12. Mostafa, Y.; Amel, S.; Yakoot, S. *BMC Gastroenterology*, 2012, 12, 32
 13. Cornet, J.F.; Dubertret, G. The cyanobacterium *Spirulina* in the photosynthetic compartment of the MELISSA artificial ecosystem. Workshop on artificial ecological systems, DARA-CNES, Marseille, France, 1990, 24–26.
 14. Vonshak, A. *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. London: Taylor & Francis, 1997.
 15. McCarty, M. F. *Journal of Medicinal Food*, 10, 566–570.
 16. Lingling, Y.; Yao W.; Qingjun, Z.; Peng, C.; Yiqiang, W.; Ye W.; Ting, L.; Lixin, X. *Molecular Vision*, 2009, 15, 1951-1961
 17. Pielesz A. *Algi i alginiany – leczenie, zdrowie i uroda*, Wydawnictwo internetowe e-bookowo, 2010.
 18. Ling-Ling, Y.; Qing-Jun, Z.; Yao, W.; Yan, G.; Yi-Qiang, W. *International Journal of Ophthalmology*, 2012, 5.
 19. Rasool, M.; Sabina, E.P.; Lavanya, B. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2006, 29, 2483-2487.
 20. Hayashi, K.; Hayashi, T.; Kojima, I. *AIDS Research and Human Retroviruses* 1996, 12, 1463-1471.
 21. Ayeahunie, S. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes & Human Retrovirology*, 1998, 18, 7-12.
 22. Sabina, E.P.; Samuel, J.; Rajappa Ramya, S.; Patel, S.; Mandal, N.; Prantharthiheran, P.; Mishra, P.P.; Rasool, M. *International Journal of Integrative Biology*, 2009, 6, 1-5.
 23. Hwang, J.H.; Lee, I.T.; Jeng, K.Ch.; Wang, M.F.; Hou, R.Ch.W.; Wu, S.M.; Chan, Y.Ch. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2011, 57, 186-191.
 24. Ismaili, M.F.; Ali, D.A.; Fernando, A.; Abdrahob, M.E.; Gaur, R.L.; Ibrahim, W.M.; Raj, M.H.G.; Ouhtit, A. *International Journal of Biological Sciences*, 2009, 5, 377-387.
 25. Kumar, V.; Bhatnagar, A.K.; Srivastava, J.N. *Journal of Medicinal Plants Research* 2011, 5, 7043-7048.
 26. Bhowmik, D.; Dubey, J.; Mehra, S. *World Journal of Dairy & Food Sciences* 2009, 4, 160-163.
 27. Torres-Duran, P.V., Ferreira-Hemosillo, A., Juarez-Oropeza, M.A.: Antihyperlipemic and antihypertensive effects of *Spirulina maxima* in an open sample of mexican population: a preliminary report. *Lipids in Health and Disease* 2007, 6:33.
 28. Hyun, J.H.; Kim, S.Ch.; Kang, J.I.; Kim, M.K.; Boo, H.J.; Kwon, J.M.; Koh, Y.S.; Hyun, J.W.; Park, D.B.; Yoo, E.S.; Kang, H.K. *Biol. Pharm. Bull.* 2009, 32, 1760-1764.
 29. Ishihara, K.; Oyamada, Ch.; Matsushima, R.; Murata, M.; Muraoka, T. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2005, 69, 1824-1830