

# 人蔘사포닌이 비둘기 가슴근육으로부터 分離된 Malate Dehydrogenase의 調節機能에 미치는 影響

金斗河, 申文僊, 洪淳根  
韓國人蔘煙草研究所, 臨床研究室  
(1983년 6월 22일 접수)

## Effects of Ginseng Saponin on the Regulatory Properties of Malate Dehydrogenase from Pigeon Breast Muscle

Doo-Ha Kim, Moon-Hee Shin and Soon-Keun Hong

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Laboratory of Clinical Research

(Received June 22, 1983)

### Abstract

In an endeavour to elucidate effects of ginseng on some characteristics of enzymes, malate dehydrogenase (EC 1.1.1.37) was chosen as a model enzyme and effects of ginseng saponin on the enzyme such as optimum pH, product inhibition, optimum temperature and the activity was investigated.

The product inhibition by NADH-a reaction product of the enzyme-was increased 33% by 0.3% ginseng saponin. And the optimum pH of the enzyme was 8.3 but in the presence of 0.3% ginseng saponin it increased to 8.5. The enzyme activity and the optimum temperature was not affected by ginseng saponin in the concentration of 1.0% and 0.3%, respectively.

In this work, the possibility of contribution of ginseng saponin to the adaptogen activity is suggested; Potentiation of the regulatory activity of an enzyme may contribute to the normalization of the physiological state and consequently may increase the nonspecific resistance of an organism.

### I. 緒 論

많은 研究者들이 人蔘의 藥理效能을 究明하려는 노력의 일환으로 人蔘成分이 生体酵素活性에 미치는 영향을 究明하여 發表하였다. 金<sup>1)</sup>과 李<sup>2)</sup>는 Cytochrome p-450, NADPH Cytochrome C reductase 및 glutathion S-transferase에 대한 人蔘의 誘導效果를 究明하였으며, 許<sup>3)</sup>은 Xanthine oxidase의 活性을 촉진한다고 하였다. 또한 T. Yokozawa<sup>4, 5)</sup> 및 S. Hiai<sup>6)</sup>는 Pyruvate kinase, Serine dehydratase, DNA dependent RNA polymerase의 活性을 生体内에서 촉진함을 보고하였다. 주<sup>7)</sup>는 미토콘드리아에 존재하는 여러가지 종류의 脫水素酵素에 미치는 人蔘사포닌의 作用을 조사하여 活性促進效果가 있음을 보고하였다. 또한 고<sup>8)</sup> 및 장<sup>9, 10, 11)</sup> 등도 시험관내에

서 人蔘成分이 酸素의 活性에 영향을 미치는 效果가 있음을 보고하였다. 이상과 같이 人蔘의 成分中에는 生体内 또는 시험관내에서 여러가지 종류의 酸素에 영향을 미치는 것이, 分明하므로, 核酸<sup>12, 13, 14</sup>, 脂肪<sup>16, 17, 18, 19, 20</sup> 및 糖代謝<sup>15</sup>에 대해 알려진 여러가지 作用은 이들 代謝에 관여된 酵素에 대해 人蔘의 作用이 관련이 있을 것으로 짐작된다.

本研究에서는 生体에 대한 人蔘의 다양한 作用을 酵素를 대상으로하여 究明하고자 하였으며 Malate dehydrogenase의 여러가지 特性에 미치는 人蔘의 영향을 조사하고자 하였다.

Malate dehydrogenase (EC 1.1.1.37)는 起源에 따라서 차이가 있기는 하지만, 그 分子量은 大略 60,000 내지 70,000이며, dimer로 되어있다. NAD 또는 NADH를 助酵素로 하여 L-malic acid 또는 oxalacetic acid를 基質로하는 bisubstrate reaction mechanism을 따르고 있다.<sup>21</sup> 같은 동물에서도 mitochondria형과 細胞質형의 두가지 종류로 나누어지며, "malate shuttle"에 참여하여 NADH를 生産하는 것으로 잘 알려져 있다. 本研究에서는 이와같은 研究結果를 감안하여, 人蔘사포닌이 malate dehydrogenase의 活性 및 調節機能에 미치는 영향을 究明하고자 하였다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 材 料

Malate dehydrogenase (EC 1.1.1.37, from pigeon breast muscle, 2,000u/mg protein), oxalacetic acid (OAA), NAD 및 NADH는 Sigma社 제품이며, 酵素는 精製하지 않고 사용하였다. DL-malic acid는 Junsei Chemical Co.에서 구입하였으며, 기타 일반시약은 市中の 特級을 사용하였다.

### 2. 사포닌의 精製

大韓民國專賣廳에서 製造한 紅尾蔘으로부터 常法에 따라서 精製사포닌을 製造하였다.<sup>22</sup> 紅尾蔘을 70% ethanol로 抽出하여 증발 농축한 후, 잔사를 물에 녹여 同量의 benzene으로 3회 추출하고, 물층을 同量의 butanol로 3회 抽出하여 합친 후 농축 하였다. 이것을 다시 chloroform으로 3회 추출한 후 잔사를 methanol에 녹여서 활성탄 column으로 탈색한다. column을 통과한 eluent를 모아서 증발 농축하여 미황색의 精製사포닌을 얻었다.

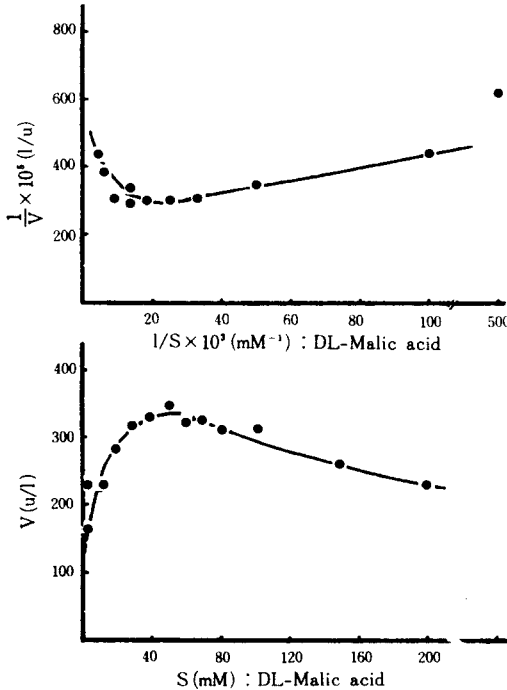
### 3. 實驗方法

酵素活性測定은 340nm에서 10초 동안에 흡광도 변화가 0.1~0.2 정도가 되도록 基質 및 酵素量을 조절하였다. 酵素原液(24u/ml) 10 $\mu$ l를 10ml의 NAD 또는 NADH 용액에 희석하여, 그중 한번에 10~100 $\mu$ l를 반응액에 가하였다. 최종 반응액에서 NAD 및 NADH의 농도는 각각 5mM 및 0.25mM이 되도록 하였다. Malic acid를 기질로 쓸 때는 50mM이 되도록 하였으며 oxalacetic acid를 기질로 쓸 때는 최종 반응액에서의 농도가 3mM이 되도록 하였다. 어느 경우에 있어서나 0.1M tris buffer pH 8.8을 사용하였으며, 基質溶液은 NaOH를 사용하여 pH를 조정하였다. 이상과 같은 조건에서 自動化學分析裝置(Gilford System 3500)을 사용하였다.

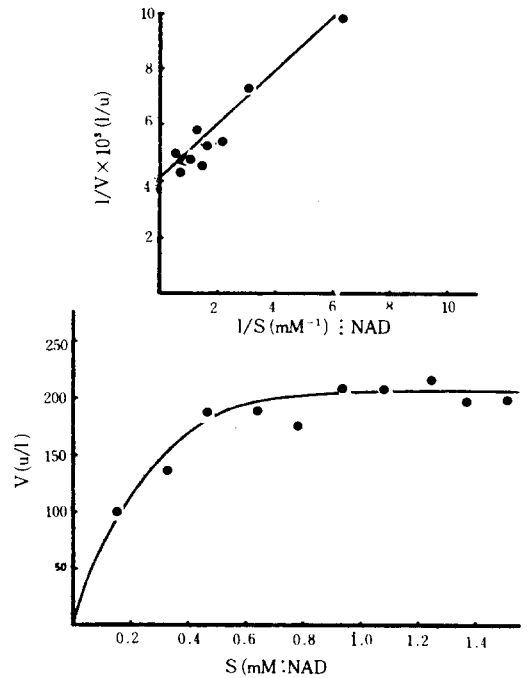
## III. 結 果

### 1. 酵素動力學的常數의 測定

酵素의 活性은 基質인 DL-malic acid의 농도가 증가함에 따라 증가하였으며, 50mM에서 포화



**Fig. 1. Kinetic behavior of malate dehydrogenase versus DL-malic acid concentration.** (Enzyme activity was measured at the given DL-malic acid concentration with 1mM NAD in 0.1M tris buffer, pH 8.7at 37°C.)



**Fig. 2. Kinetic behavior of malate dehydrogenase versus NAD concentration.** (Enzyme activity was measured at the given NAD concentration with 50mM DL-malic acid in 0.1M tris buffer, pH 8.7, 30°C.)

상태를 나타냈었으며, 그 이상의 농도에서는 오히려 活性이 沮害되었다. 37°C, 0.1M tris buffer pH8.7에서 DL-malic acid에 대한 Km값은 7.4mM이었다(Fig. 1). 또한 NAD의 농도가 0.7mM이 되면 活性의 增加는 포화상태를 이루었으며, Km값은 0.22mM이었다. (DL-Malic acid가 100mM 일때)(Fig. 2). Oxalacetic acid와 NADH를 基質로 했을 때, 高濃度에서는 兩者에 의하여 酵素活性이 沮害되었다. NADH와 Oxalacetic acid가 각각 0.2mM 및 0.25mM 이상이 되면 基質沮害현상이 나타나기 시작하였으며, NADH에 대한 Km값은 0.2M tris buffer pH7.6, 46°C에서 0.04mM이었다. 이때 oxalacetic acid에 대한 Lineweaver-Burk plot에서는 Km값을 測定할 수 없을 정도로 아래로 볼록한 모양을 나타내었다.

**2. 人蔘사포닌이 酵素活性에 미치는 影響**

人蔘사포닌이 酵素의 活性에 미치는 影響을 조사하기 위하여 사포닌 濃度를 변화시키면서 活性을 測定하였다. 즉 人蔘사포닌의 濃도를 10<sup>-6</sup>%에서 1% 농도까지 증가시키면서 酵素活性을 測定하였으나, 有意性있는 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 3). 人蔘사포닌이 이 酵素의 最적pH에 미치는 影響을 조사하기 위하여 pH5.8에서 9.6까지의 범위에서 酵素活性을 測定하였다(pH 5.8에서 8.0까지의 범위에서는 0.1M sodium phosphate buffer를 썼으며 pH8.0이상에서 pH9.7까지에서는 0.1M borate buffer를 사용하였다). 그 結果 Fig. 4에서와 같이 人蔘사포닌 0.3% 농도에서 이 酵素의 最적 pH는 8.5정도인데 비해서, 人蔘사포닌이 없을 경우에는 8.3정도

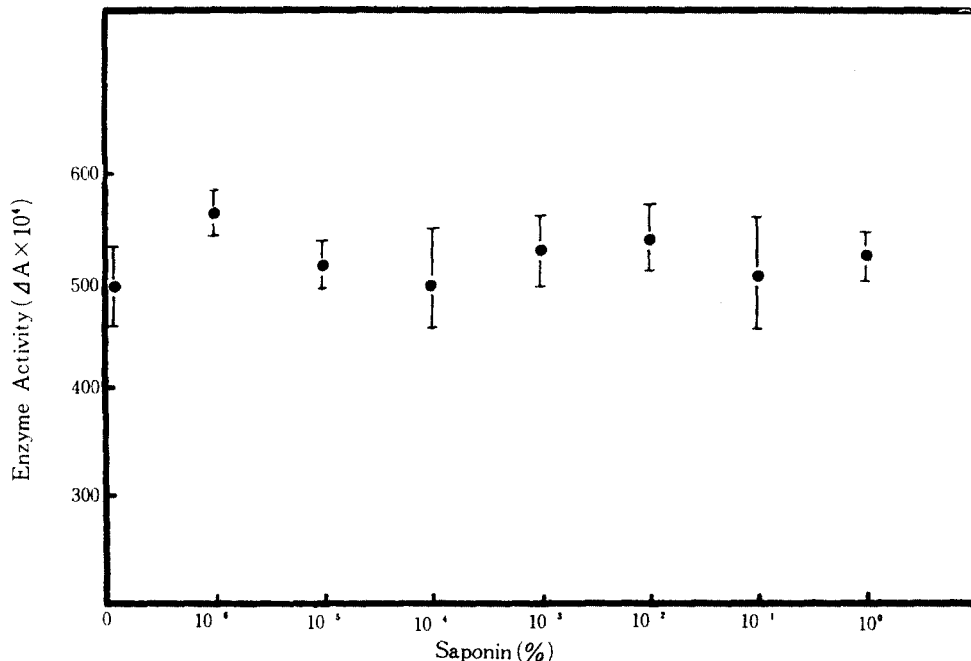


Fig. 3. Effect of saponin on the activity of malate dehydrogenase.

Enzyme activity was measured at the given saponin concentration in 0.1M broate buffer pH 8.0 with the substrate of 0.25M NADH and 6mM OAA. at 37°C. The decrease of absorbance at 340nm was measured for 10 sec.

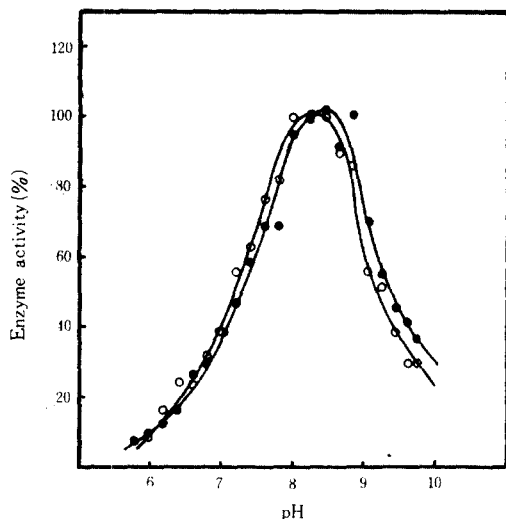


Fig. 4. Effect of saponin on the temperature profile of malate dehydrogenase activity.

The reaction mixture contained 6mM oxaloacetate, 0.25mM NADH, enzyme and either 0.1M sodium phosphate buffer (pH 5.8 to 8.0) or 0.1M borate buffer (pH 8.0 to 9.7) at 30°C.

without saponin ○  
with saponin 0.3% ●

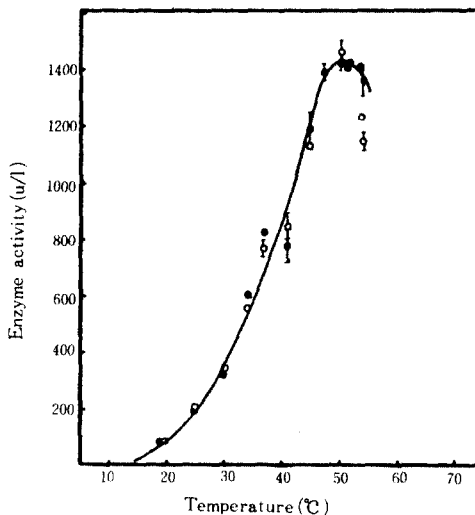


Fig. 5. Effect of saponin on the temperature profile of malate dehydrogenase.

0.2mM NADH and 6mM OAA was reacted with the enzyme in 0.05M sodium phosphate buffer pH for 7.3 30sec.

without saponin ○  
with saponin 0.3% ●

임을 알았다. 또한 이 酵素의 최적反應온도를 측정한 결과, 人蔘사포닌의 有無에 관계없이 50℃ 정도임을 알았다(Fig. 5).

3. 人蔘사포닌이 NAD 및 NADH에 의한 product inhibition에 미치는 影響

DL-Malic acid와 NAD를 이 酵素의 基質로 했을때는 그 反應產物은 oxalacetic acid 및 NADH가 되며, 그 兩者에 의하여 product inhibition을 받게된다. 이것은 bisubstrate reaction mechanism을 따르는 酵素에서는 공동적인 현상이며, 生体内에서의 중요한 自動調節体系의 한 가지가 된다.<sup>23)</sup> 따라서 人蔘成分이 이러한 product inhibition에 미치는 影響을 究明하는 것은 人蔘의 잘 알려진 作用중의 하나인 生体正常化作用과 관련지을 때 중요한 의미가 있는 것으로 믿어진다. 實驗結果 人蔘사포닌 0.3% 농도에서는 NADH에 의한 product inhibition이 control에 비해서 더욱 증가함을 알 수 있었다(Fig. 6). NAD도 또한 product inhibition을 나타내는데, 人蔘사포닌에 의하여 inhibition이 증가되는 것을 알 수 있었다(Fig. 7).

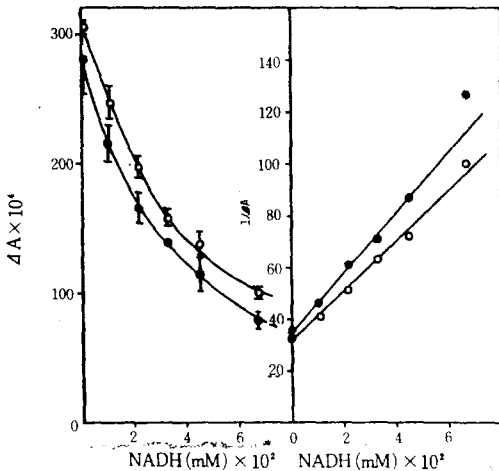


Fig. 6. The effect of saponin on the product inhibition of malate dehydrogenase with NADH.

40mM DL-malic acid and 0.22mM NAD was used as the enzyme substrate in 0.2M tris buffer pH 7.6 37°C. The increase of absorbance at 340nm was measured for 30 sec.  
without saponin —●— with saponin 0.3% —○—

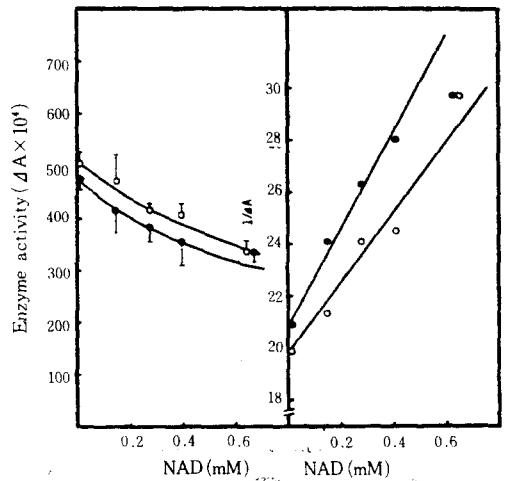


Fig. 7. Product inhibition of malate dehydrogenase with NAD.

0.22mM oxalacetic acid and 0.44mM NaOH was used as the enzyme substrate in 0.2M tris buffer, pH 7.6 at 37°C.

without saponin —○— with saponin —●—

IV. 考 察

一般的으로 酵素의 여러가지 특징은 그 酵素의 起源에 따라서 많은 차이점이 있다. Malate-dehydrogenase의 경우에 있어서도 酵素反應의 作用機轉은 酵素의 起源에 따라서 매우 多様な 양상을 나타낸다. 즉 송아지 心臟<sup>24)</sup>과 Guinea Pig 骨格筋에서<sup>25)</sup> 분리된 것은 ordered sequential mechanism을 따르는데 비해서 돼지 心臟에서 분리된 것은 reciprocating compulsory sequential ordered mechanism을 따르는 것이 알려져있다.<sup>26)</sup> 또한 Pexnisetum purpureum에서 分離된 酵素는 iso ping-pong mechanism을 따르며<sup>27)</sup>, 병아리 肝에서 分離한 細胞質 酵素는 pH7.4이하에서는 ordered bi biternary mechanism을 따르고 있으나, pH9.6에서는 Theorell Chance bi bi mechanism을 따르고 있음이 알려져 있다.<sup>28)</sup>

Guinea pig의 筋肉에서 分離한 細胞質 酵素의  $K_m$ 값은 OAA, NADH, L-Malate 및 NAD에 대해서 각각 0.041mM, 0.018mM, 0.36mM 및 0.13mM임이 알려져 있으며<sup>28</sup>, 병아리 肝에서 分離된 細胞質 酵素의  $K_m$ 값은 OAA, NADH, L-Malate 및 NAD에 대해서 각각 0.24mM, 0.022mM, 0.05mM 및 0.5mM임이 알려져 있다. <sup>29</sup> 소(牛)의 心臟에서 分離된 이 酵素의 두가지 種類 즉 미도콘드리아형 및 細胞質형에 대한  $K_m$ 값도 報告되어있다.<sup>29</sup> 이들의 값을 비교해보면, 병아리 肝에서 分離한 細胞質 MDH의 OAA 및 L-Malate에 대한  $K_m$ 값은 다른 것과 크게 다르지만 다른 起源을 가진 酵素들은 비슷한 값을 나타내고 있음을 알 수 있다. 本研究에서 사용한 酵素의 NAD 및 NADH에 관한  $K_m$ 값은 다른 酵素들의 값과 비슷한 수치를 나타내는 것을 알 수 있었다. 또한 이 酵素의 作用機轉은 조사하지 않았으나, Bisubstrate reaction mechanism을 따르는 酵素의 공통적인 양상인 product inhibition mechanism은 비슷한 양상으로 나타날 것이 예상되므로 本研究에서는 더이상 자세한 實驗은 실시하지 않았다.

人蔘사포닌이 이 酵素의 活性에 미치는 影響을 조사하고자, 人蔘사포닌 농도별로 酵素活性을 測定하였으나, 아무런 活性변화를 관찰하지 못하였다. 이는 주동의 研究報告에서 人蔘사포닌  $10^{-4} \sim 10^{-5} \%$  농도에서 活性이 增加하였다는 結果와는 일치하지 않았다. 따라서 이를 확인하기 위하여 여러번 되풀이 실험하였으나, 有意性있는 活性의 增加는 관찰할 수 없었다. 경우에 따라서는 酵素活性에 변화가 있는 것 처럼 보였으나 이는 Yoshida<sup>30</sup>와 Shore<sup>31</sup>에 의하여 밝혀진 바와같이 低濃度의 酵素溶液에서는 Dimer의 酵素分子가 monomer로 解離하면서 活性이 소실되는 것에 起因한 實驗誤差인 것으로 믿어졌다. 따라서 本研究에서는 이와같은 實驗誤差를 防止하기 위하여 酵素原液을 가능한 한 高濃度 溶液으로 만들었으며, 여기에 미리 NADH 또는 NAD를 섞어준 후 實驗에 사용하였다. 이렇게 함으로써 실험도중에 subunit 解離로 인한 酵素活性의 소실을 최대한 防止할 수 있었다.

酵素의 最適反應 pH는 酵素의 活性部位에 참여하는 아미노산 측쇄의 水素이온의 解離常數에 의하여 결정된다는 것이 알려져 있으므로<sup>32</sup>, 人蔘의 어떤 成分이 이 酵素의 活性部位에 作用하여 아미노산 측쇄의 수소이온 解離常數에 영향을 미치게 되면, 酵素의 反應最適 pH도 영향을 받게 된다. 따라서 이러한 가능성을 조사하기 위하여 人蔘사포닌이 酵素反應最適 pH에 미치는 영향을 조사하였으며 그 결과 다소간의 변화가 있는 듯 하나 統計的 有意性은 檢定하지 못하였다.

酵素의 反應溫度변화에 따른 活性변화도 化學反應의 熱力學的 性質, 酵素分子의 立体構造의 熱變性 및 溫度變化에 따른 作用基의 解離常數의 變化등의 原因에 의하여 反應最適溫度가 存在하게 되는데, 小分子의 配位자가 酵素分子에 結合하면, 作用基의 解離常數 및 熱變性에 의한 酵素의 立体構造의 변화에 영향을 미치므로써 最適反應溫度에 影響을 미칠 수 있게 된다.<sup>33</sup> 따라서 人蔘의 어떤 成分이 酵素分子에 結合하게 되면 酵素의 反應最適溫度에 영향을 미칠 것이 예상된다. 그러나 本研究에서는 이 酵素의 反應最適溫度는 영향을 받지 않음을 관찰하였다. 最適反應 pH는 다소의 변동이 있는데 비해서 最適溫度는 변화가 없는 것을 볼 때, 人蔘成分이 酵素와 結合한다고 할 지라도 매우 미약한 힘으로 결합되어 있을 것이 예상된다.

本實驗에서 사용한 malate dehydrogenase와 같은 Bisubstrate reaction mechanism을 따르는 酵素에 있어서는 酵素活性( $v$ )의 逆數를 初期에 反應液에 加한 反應生成物( $p$ )의 濃度에 대하여 그 림으로 表示하면 직선으로 나타나는 것을 알 수 있다.<sup>34</sup>

$$1/v = k_1 + k_2 [p]$$

여기서  $k_1$ 은 酵素基質의 濃度 및 酵素의 反應速度常數로 이루어진 어떤 값을 나타내며,  $k_2$ 는 基質濃度, 反應速度 常數 및 反應生成物의 阻害常數를 포함하는 어떤 값을 나타낸다. 따라서  $k_2$  값은 이 酵素에 대한 反應生成物의 親和性에 따라서 영향을 받게된다.  $k_2$  값의 증가는 反應生成物의 영향력의 증가를 의미하며,  $k_2$  값의 감소는 反應生成物의 영향의 감소를 의미한다.

本實驗의 結果 人蔘사포닌 0.3% 濃度에서  $k_1$  값은 대조군에 비해서 1.03의 값을 나타내었으나  $k_2$ 의 값은 1.33으로 測定되었다. 따라서 人蔘사포닌이 이 酵素에 대한 反應生成物의 阻解能力을 증가시킴을 알 수 있다. 이것은 다시말하면, 人蔘사포닌이 이 酵素의 product inhibition을 強化시킨다는 것과 같은 뜻으로 된다. 이와같은 酵素의 product inhibition의 증가 현상은, 人蔘에 의한 生体 正常化作用의 一種으로 생각되어질 수 있으며, 人蔘의 adaptogen 效果<sup>34)</sup>의 分子水準에서의 다른 表現으로 간주될 수 있는 것으로 생각된다.<sup>35)</sup> 個個의 酵素活性의 調節機能의 增加는 生体全體로 볼 때는 正常化作用의 增加 또는 恒常性 維持機能의 增加로 나타날 것으로 믿어진다. 따라서 널리 알려진 人蔘의 스트레스 防禦作用<sup>36)</sup>은 一種의 生体 正常化 機能의 增加와 같은 의미로 해석되며, 強壯效能도 같은 뜻으로 해석되며, 이와같은 여러가지 作用이 綜合적으로 作用하여 궁극적으로는 長壽效能으로 나타날 것으로 기대된다. 以上과 같은 사실을 감안할 때 malate dehydrogenase에 대한 product inhibition의 증가는 人蔘의 生体 正常化作用을 뒷받침할 수 있는 증거가 될수있다고 믿어진다.

## V. 要 約

人蔘사포닌이 malate dehydrogenase (EC 1.1.1.37)의 몇가지 酵素學의 特性에 미치는 效果를 究明하고자 하였으며 그 結果는 다음과 같다.

1. 人蔘사포닌은 酵素의 最適反應 pH를 다소 增加시켰으나, 活性에는 변화를 미치지 못하였다. 또한 酵素反應의 最適反應度에도 影響을 미치지 못하였다.
2. 人蔘사포닌은 NADH에 의한 product inhibition을 增加시키는 경향이 있었으며, 이는 酵素의 自動調節作用에 影響을 미치는 것이므로, 人蔘이 malate dehydrogenase의 自動調節機能을 增加시키는 것으로 해석된다.
3. 以上の 結果로 볼 때, 人蔘에 의한 生体 自動調節機能의 抗進 또는 生体 正常化機能의 抗進作用을 뒷받침 하는 效果中的 하나로 간주될 수 있을 것으로 믿어진다.

## 參 考 文 獻

1. 金洛斗, 金承禧, 金信根: 藥學會誌, 25, 153 (1981)
2. 李泰廈, 金洛斗: 藥學會誌, 25, 145 (1981)
3. K. Huh, Proc. 3rd Int'l Ginseng Symp. p. 131. Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Seoul, Korea (1980)
4. T. Yokozawa, N. Kitahara, S. Okuda and H. Oura, *Chem. Pharm. Bull.* 27, 419 (1979)
5. T. Yokozawa and H. Oura, *Chem. Pharm. Bull.* 27, 2494 (1979)
6. S. Hiai, H. Oura, K. Tsukada and Y. Hiai, *Chem. Pharm. Bull.* 19, 1656 (1971)
7. C. N. Joo, Proc. 2nd Int'l Ginseng Symp. p. 115, Korea Ginseng Research Institute, Seoul, Korea, (1978)

8. G. L. Seo, M. Koh, Y. Y. Lee, S. H. Chang, I. Park and S. Y. Lee, *Korean Biochem. J.* **15**, 95 (1982)
9. S. H. Change, I. Park, Y. Y. Lee and Y. J. Kim, *Korean J. Ginseng Science*, **1**, 19(1976)
10. S. H. Chang, I. Park, Y. Y. Lee and J. S. Park, *ibid.* **1**, 25(1976)
11. *idem. ibid.* **1**, 29(1976)
12. H. Oura, S. Hiai, S. Nakashima and K. Tscukada, *Chem. Pharm. Bull (Tokyo)*, **19**, 453(1971)
13. H. Oura, S. Hiai and H. Seno, *ibid.* **19**, 1598(1971)
14. S. Hiai, H. Oura, K. Tsukada, Y. Hirai, *ibid.* **19**, 1656(1971)
15. W. Petkov, *Arzneim Forsch.* **11**, 288(1961)
16. M. Yamamoto, N. Takeuchi, A. Kumagai, Y. Yamamura, *Arzneim Forsch*, **27**, 1169(1977)
17. M. Yamamoto, M. Mosaka, K. Yamada, Y. Hayashi, H. Hirai and A. Kumagai, *Arzneim Forsch / Drug Res.* **28**, 2238(1978)
18. H. Oura and S. Hiai, *Metabolism.* **10**, 564(1973)
19. H. Oura, S. Hiai, H. Seno, R. Takemura and T. Yokozawa, *J. Japan. Biochem. Soc.* **44**, 611(1972)
20. K. Sakakibara, Y. Shibata, T. Higashi, S. Sanada and J. Shoji, *Chem. Pharm. Bull.* **23**, 1009 (1975)
21. L. T. Bonaezak, R. A. Bradshaw, "The enzymes" 3rd ed. by P. D. Boyer, pp. 369-396, Academic Press, N. Y. (1975)
22. D. H. Kim, Y. Hahn and S. K. Hong, *Arch. Pharm. Res.* **5**, 45(1982)
23. D. E. Koshland and K. E. Neet, "The Catalytic and Regulatory Properties of Emzymes," *Ann. Rev. Biochem.* **37**, 359(1968)
24. M. Cassman and S. Englard, *J. Biol. Chem.* **241**, 793(1966)
25. A. Sorribas, J. Puig, A. Cortès and J. Bozal, *Int. J. Biochem.* **13**, 355(1981)
26. K. Harada and R. G. Wolfe, *J. Biol. Chem.* **243**, 4131(1968)
27. J. Coombs, C. W. Baldry and C. Bucke, *Planta Medica*, **110**, 109(1973)
28. J. Baró, A. Cortes and J. Bozalfês, *Int. J. Biochom.* **13**, 463(1981)
29. F. C. Griam and P. G. Dokerty, *J. Biol. Chem.* **236**, 1980(1961)
30. A. Yoshida, *J. Biol. Chem.* **240**, 1118(1965)
31. J. D. Shore and S. K. Chakra barti, *Bio chemistry*, **15**, 875(1976)
32. K. J. Laidler, P. S. Buntikg, "The Chemical Kinetics of Enzyme Action," pp. 142-162, Clarendon press, Oxford, (1973)
33. I. H. Segel, "Enzyme Kinetics," p 926-941, John Wiley & Sons Inc. N. Y. (1975)
34. I. H. Segel, "Enzym. Kinetics," p 560-634, Tohn Chiley & Sons Inc. N. Y. (1975)
35. E. R. Stadtman, "The Enzymes" 3rd ed. by P. D. Boyer, Vol. 1 pp. 397-459, Academic Press, N. Y. (1970)
36. 韓德龍, "韓國人蔘史" 下卷, pp. 353-372, 韓國人蔘耕作組合聯合會, (1980)
37. 金洛斗, "韓國人蔘史" 下卷, pp. 401-410, 韓國人蔘耕作組合聯合會, (1980)
38. I. I. Brekhman, I. V. Pardymov, *Ann. Rev. Pharmacol.* **9**, 419(1969)