

## 鹿茸의 藥效 成分에 관한 研究(VI)

鹿茸의 脂溶性 成分 및 Pantocrin이 흰쥐 脊髓 神經의 Aldolase 活性에 미치는 影響

金 泳 垠·金 慶 子

서울대학교 藥學大學

(Received July 13, 1983)

Young Eun Kim and Kyoung Ja Kim

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

### Biochemical Studies on Antler (*Cervus nippon taiouanus*) (VI)

#### Comparative Study on the Effect of Lipid Soluble Fractions of Antler Sponge and Velvet Layers and Pantocrin on the Aldolase Activity in the Rat Spinal Nerves

**Abstract**—In the present study, an attempt was made to observe the effect of lipid components in pantocrin and antler velvet and sponge layers extracts on the aldolase activity in the rat spinal nerves. The antler chloroform-methanol (2:1) extracts are known to be composed of neutral lipids, cholesterol, cerebrosides, spingomyelin, phosphatidyl choline, phosphatidyl ethanolamine, phosphatidyl serine and gangliosides. The antler extracts were studied on the aldolase activity in the rat spinal nerves. The aldolase activity was measured by the method of Lehninger. To investigate the components of the extracts which affect the enzyme activity, the chloroform-methanol (2:1) extracts of antler were fractionated into petroleum ether soluble and insoluble fractions and their effects on the enzyme activity were compared. It was found that the chloroform-methanol (2:1) extracts of the antler sponge and velvet layers as well as those petroleum ether soluble fractions obtained from the chloroform-methanol (2:1) extracts, decrease the aldolase activity by 18~23%. However, pantocrin showed increasing effect on the aldolase activity by 42.6%. The petroleum ether insoluble fraction of the chloroform-methanol (2:1) extract showed no significant increasing activity (about 13%) on the spinal nerves aldolase. The components of pantocrin and the petroleum ether insoluble fractions were attempted to analyze by thin layer (silica gel) and gas liquid chromatography.

녹용(antler, *Cornu cervi parvum*)은 녹과에 속하는 사슴의 대각으로서 중국을 비롯하여 우리나라에서는 한의약 가운데 가장 진귀한 보혈 강장제로 널리 애용되고 있다. 시판 녹용 수침액이 미리 cholesterol을 투여한 가토(家兎)의 혈청 cholesterol의 증가를 억제하며, 간의 지질 대사를 촉진하고 GOT 활성에 대한 억제를 저하시킨다고 보고되었다.<sup>1,3)</sup> 최근에 녹용의 약효성분에 관한 생화학적인 연구의 일환으로 金등<sup>4-8)</sup>은 대탄산 꽃사슴의 녹용을 사용하여 수용성 성분으로는 hexosamine, uronic acid, sialic acid, hexose, pentose, hydroxyproline, neutral sugar, total nitrogen 및 mucopolysaccharide등을 확인하고 보고 하였으며, 지용성 성분으로는 각종 fatty acid, steroids, glyceride, prostaglandin 및 glycolipid, phospholipid, ganglioside등에 대하여 보고한 바

있다. 또한 반점 사슴과 시베리아산 사슴의 녹용에서 제조한 주사제인 pantocrin 이 부교감 신경 말초부위의 긴장항진, 신경 및 근(筋)계의 기능개선, 신경계의 기능정상화, 내분비기능항진등의 작용을 나타내는 것으로 보고되었다.<sup>9)</sup> 또한 whiplash injury를 받은 가토(家兎)에 있어서는 억제된 해당제를 개선한다고 보고되었다.<sup>10)</sup>

한국에서 사육하는 대만산 꽃사슴의 녹용의 약효성분을 추출분리하여 그 효과를 pantocrin과 비교 검토할 목적으로 본 실험에서는 대만산 꽃사슴의 녹용을 직접 절단하여 조직학적으로 그 기원을 달리하는 벨벳층(velvet layer)과 해면층(sponge layer)으로 분리하고 각각을 chloroform-methanol (2:1) 혼액으로 추출하여 얻은 지용성 성분을 rotary evaporator를 사용하여 30°C에서 농축한 다음 석유 에테르로 처리하여 석유 에테르에 가용성 성분과 불용성 성분으로 분리하였다. pantocrin과 이들 녹용의 석유 에테르 가용성 성분과 불용성 성분에 대하여 백서 척수신경의 aldolase 활성에 미치는 영향을 비교 검토하였다. 녹용의 지용성 성분과 pantocrin을 thin layer chromatography로 확인하고 이들을 가수분해한 다음 methylation시켜 gas-chromatography<sup>11)</sup>로 분리 비교한 결과 약간의 지전을 얻었으므로 보고하는 바이다.

### 實 驗 方 法

器機, 材料 및 試藥—UV spectrum은 Pye-Unicam SP 1750을 사용하였으며 centrifuge는 International model C-6p와 Beckman model J-21을 사용하였다. pH meter는 Horiba pH meter/M-7을, Freeze-Dryer는 Edwards Model EF03를, Incubator는 Grant shaking incubator model SS-30를 사용하였다. sonicator는 MSE MK-2를, Thermo-mixer는 Tokyo thermonics model TM-100를, Rotary vacuum evaporator는 石井 Co. KM-1을 사용하였다.

Gas-chromatogram은 시료를 가수분해한 다음 methylation 시킨 후에 Hewlett-Packard 5840A를 사용하여 얻었다.

사슴 사육장에서 대만산 꽃사슴의 녹용을 절단하여 즉시 dry ice로 동결시켜 실험재료로 사용하였으며, Taiho Pharmaceutical Co.의 pantocrin은 동결 건조시킨 후에 중량을 평량하고 methanol에 녹여 실험의 시료로 사용하였다.

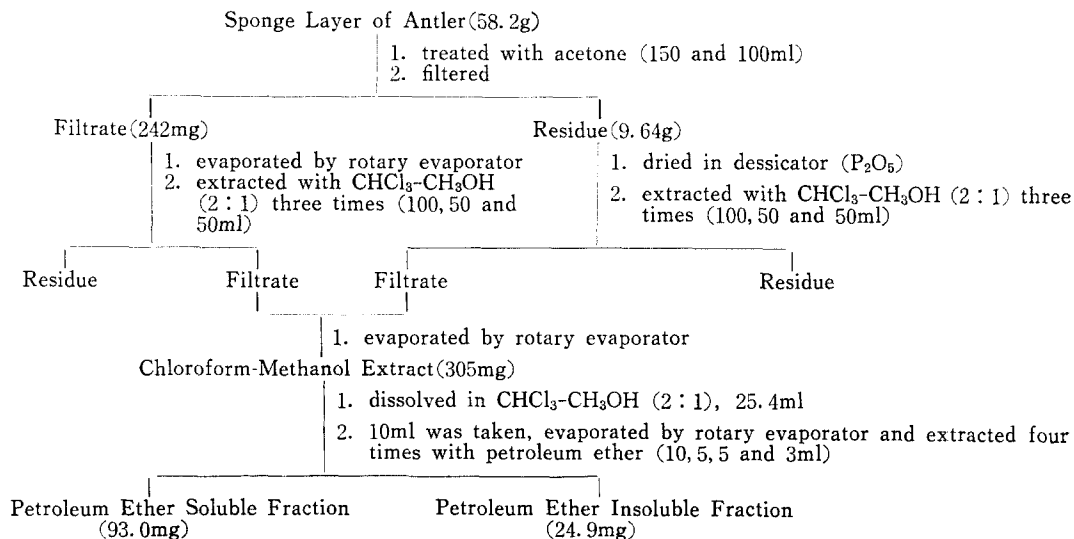
일정기간 동일조건으로 사육한 건강한 체중 200g내외의 Sprague-Dawley계 웅성 백서를 실험전 24시간 동안 절식시킨 다음 단두 사혈 후 간, 근육 및 척수신경을 절취하여 냉각된 조건하에서 Potter-Elvehjem homogenizer를 사용하여 미리 얼음으로 냉각시킨 0.25M sucrose용액을 가하여 homogenation한 다음 0.1% 농도로 희석하여 20,000×g로 30분간 냉동원심분리한 상등액을 실험에 사용하였다.

Fructose-1,6-diphosphate, dihydroxyacetone은 Sigma Co. 제품을 사용하였으며 hydrazine sulfate, 2,4-dinitrophenylhydrazine, trichloroacetic acid, tritonX-100, silica gel 60G (T.L.C.용)는 Mekck Co. 제품을 사용하였다. Tris (hydroxymethyl)aminomethane은 Wako Co. 제품, resorcinol은 Mallinkrodt제품, orcinol은 東京 純正 化學제품을 사용하였으며, 다른 일반 시약은 시약용 일급 또는 일반 시약을 재정제하여 사용 하였다.

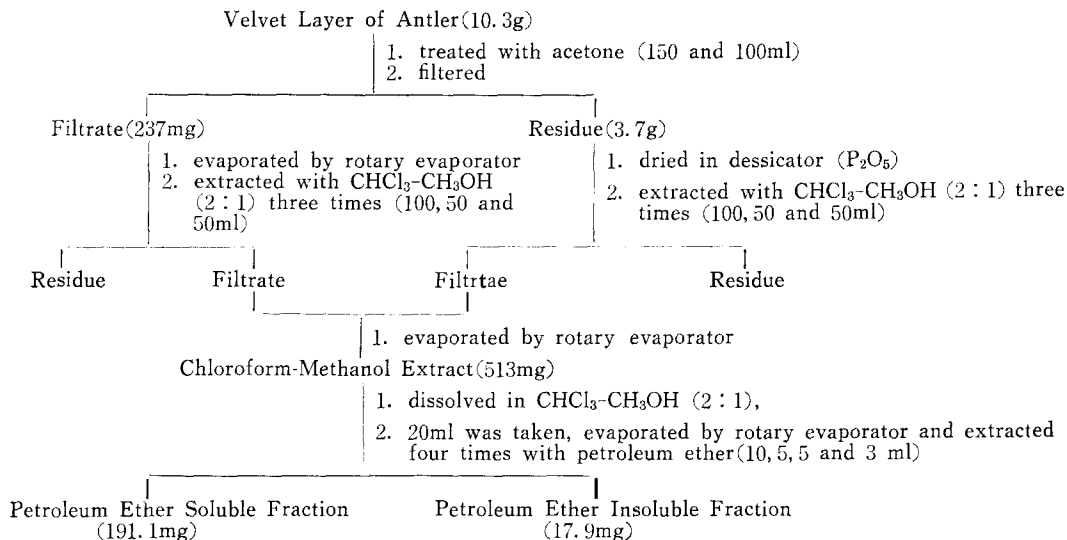
chloroform은 Shinyo Pure Chemical Co. 제품을 증류수로 여러번 씻어 준 다음 진한황산으로 씻어주고 다시 10% NaOH용액으로 씻고 증류수로 씻은 다음 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>를 가하여 증류하여 사용하였다. 증류한 chloroform은 1% P-dimethylaminobenzaldehyde의 acetone용액으로 phosgene이 존재하지 않음을 확인하였다. methanol은 Kanto Chemical Co. 제품을 재증류하여 사용하였다. 재증류한

methanol은 5% sodium nitroprusside 용액과 10% NaOH 용액으로 acetone이 존재하지 않음을 확인하였다. Petroleum ether는 Hayashi Pure Chemical Industries Ltd. 제품을 사용하였으며, 진한황산을 가하여 진탕한 후 10% NaOH 용액으로 씻은 다음 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>를 가하여 증류하여 60~70°C에서 나오는 구분을 실험에 사용하였다.

녹용 해면층의 지용성 성분의 추출 분리—녹용 해면층을 1.15% KCL용액으로 씻은 다음 증류수로 씻고 여과지로 물기를 제거하여 자동천평으로 58.2g을 정확히 평량하여 잘게 잘라서 150ml의 acetone을 가하여 ice bath중에서 여러번 흔들어 준 후에 여과한다. 잔사는 다시 동일한 방법으로 100ml의 acetone을 가하여 탈수시킨다. 위의 acetone 용액을 합쳐서 rotary evaporator로 농축하여 acetone을 완전히 증발시킨 다음 냉동건조시켜서 242mg을 얻었다. acetone추출 후 여과된 잔사는 진공하에서 dessicator (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)에 보관하여 항량으로 될때까지 건조시켜 19.6g을 얻었다. 이들 acetone 냉동건조물과 녹용 해면층 탈수잔사를 각각 chloroform-methanol (2:1) 혼액 100ml를 가하여 추출한 다음 여과하고 또 추출잔사는 각각 50ml의 chloroform-methanol (2:1) 혼액으로 3회 반복추출하여 여과한 후 여액은 합쳐서 rotary evaporator를 사용하여 농축하고 진공하의 dessicator (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)에서 건조시켜 305mg을 얻었다. 이것을 chloroform-methanol (2:1) 혼액 25.4ml에 녹여 1.2% stock solution으로 만들어 사용하였다. 이 중에서 10ml를 취하여 농축하고 감압하의 dessicator (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)에서 건조시켜 항량으로 만든 후 각각 10ml, 5ml, 5ml, 3ml의 석유 에테르를 가하여 4회 추출하고 원심분리하여 석유 에테르에 가용성 성분을 분리시켰다. 여기서 얻은 석유 에테르 추출용액을 모두 합쳐서 rotary evaporator를 사용하여 감압농축한 다음 감압하의 dessicator (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>)에서 건조시켜 석유 에테르 가용성 성분 93.0mg을 얻었다. 석유 에테르 불용성 성분은 감압하에 건조시켜 24.9mg을 얻었다. 석유 에테르에 가용성 성분은 chloroform-methanol (2:1) 혼액 15.5ml에 녹여 0.6% stock solution으로 만들어 aldolase 효소 활성 실험에 사용하였으며 석유 에테르 불용성 성분은 chloroform-methanol (2:1) 혼액 4.15ml에 녹여 0.6% stock solution으로 만들어 효소 활성 실험에 사용하였다. 이 과정은 Scheme I에 요약되어



**Scheme I**-Extraction and fractionation of the antler sponge layer.



**Scheme II**-Extraction and fractionation of the antler velvet layer.

있다.

녹용 벨벳층의 지용성 성분의 추출 분리—녹용 벨벳층(10.3g)을 해면층 추출에 사용한 동일한 과정에 의하여 chloroform-methanol (2:1)혼액으로 추출하여 가용성 건조물 513mg을 얻었다. 이것을 chloroform-methanol (2:1) 혼액 42.7ml에 녹여 1.2% stock solution으로 만들어 냉동실에 보관하여 사용하였다. 이 stock solution 20ml를 취하여 감압 농축시킨 다음 석유 에테르로 4회 반복 추출하고 원심분리하여서 석유 에테르에 가용성 성분 191.1mg과 석유 에테르에 불용성 성분 7.9mg을 각각 얻었다. 석유 에테르 가용성 성분은 32ml의 chloroform-methanol (2:1) 혼액에 녹여서 0.6% stock solution으로 만들고 석유 에테르 불용성 성분은 5.9ml의 chloroform-methanol (2:1) 혼액에 녹여 0.3% stock solution으로 만들어 aldolase 활성 실험에 사용하였다. 이 과정은 Scheme II에 요약되어 있다.

**實驗 方法**—pantocrin 2 vial을 합쳐 동결건조시켜 건조잔사 3.4mg을 얻었으며, methanol 1.1ml에 녹여 0.3% stock solution을 만들고 그밖에 녹용 해면층과 벨벳층의 chloroform-methanol (2:1) 추출물, 석유 에테르 가용성 성분 및 불용성 성분의 stock solution을 chloroform-methanol (2:1) 용액으로 희석하여 각각  $3 \times 10^{-1}\%$ ,  $3 \times 10^{-2}\%$ ,  $3 \times 10^{-3}\%$ ,  $3 \times 10^{-4}\%$ 의 용액들로 만들어서 이들 0.1ml에 0.1% tritonx-100 methanol 용액 0.1ml를 가하여 dessicator( $\text{P}_2\text{O}_5$ )중에서 감압하여 완전히 건조시킨다. 이것에 tris buffer (0.1M, pH 7.2) 1ml를 가하고 sonicator로 냉각하에서 10초간 3회 초음파처리하여 균일한 분산 용액을 만든다. 이 용액에 hydrazine sulfate 용액 (0.56M, pH 7.2) 0.25ml, fructose-1.6-diphosphate 용액 (0.05M, pH 7.2) 0.25ml, 0.1% homogenate를 냉동원심분리기로 4°C, 20,000×g에서 30분간 원심분리한 상등액 1ml를 순서대로 가한 후 38°C 수욕에서 60분간 incubation한 다음 ice bath에서 냉각시킨 후 10% trichloroacetic acid 2.5ml를 가하여 반응을 정지시킨다. 공시험은 sample을 사용하지 않고 동일조작을 하며 trichloroacetic acid를 가하여 반응을 정지시킨 후 기질인 fructose-1.6-diphosphate를 가한다. 이어서 원심분리(3,000 r.p.m., 10분)하여 단백침전을 제거하고 상등액 1ml에 0.75 N-NaOH 용액

1ml를 가하여 10분간 20°C water bath에서 방치한 다음 발색시약인 2,4-dinitrophenylhydrazine 1ml를 가한 후 38°C 수욕에서 10분간 incubation한다. 이 용액을 ice bath에서 5분간 방치 후 0.75N-NaOH 용액 7ml를 가하여 총량을 10ml로 하고 thermo-mixer를 사용하여 균일하게 혼합한다. 이때 용액은 특징적인 자색으로 정색되며 ice bath에서 5분간 방치한 다음 20°C water bath에서 다시 5분간 방치후 UV-spectrophotometer로 540nm에서 비색 정량한다. 공시험의 투과율은

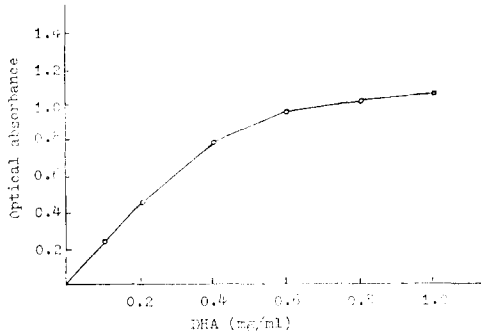


Fig. 1-The calibration curve obtained by measurement of optical absorbance with increasing amounts of dihydroxyacetone (DHA).

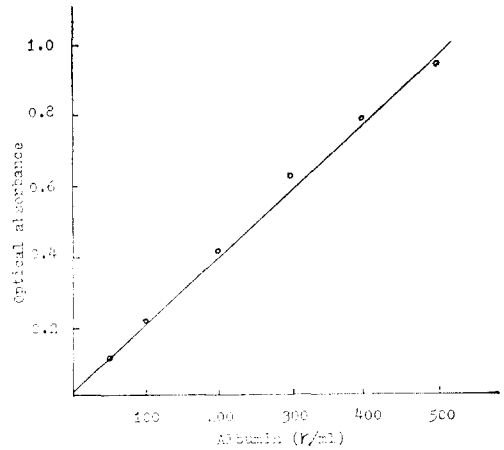


Fig. 2-Absorbance observed with increasing amounts protein assayed by the Lowry procedure.

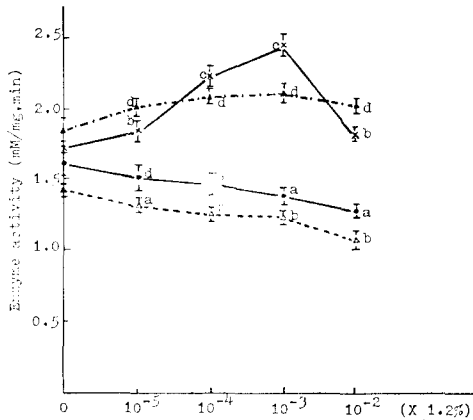


Fig. 3-Effects of the antler sponge layer extracts and pantocrin on the aldolase activities in the rat spinal nerves homogenate supernatant with increasing their amounts.

●—● : Chloroform-methanol (2:1) extract  
 △·····△ : Petroleum ether soluble fraction  
 ▲- - -▲ : Petroleum ether insoluble fraction  
 × - - -× : Pantocrin  
 n=6, a: p<0.1, b: p<0.01, c: p<0.001,  
 d: not significant

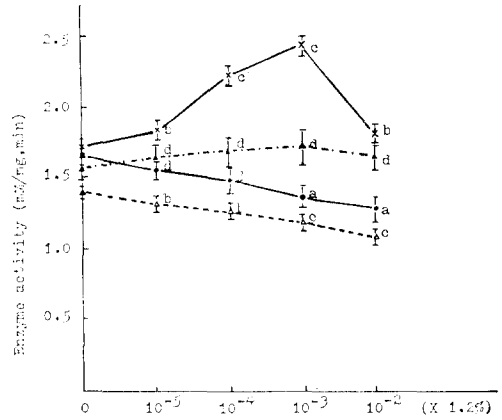
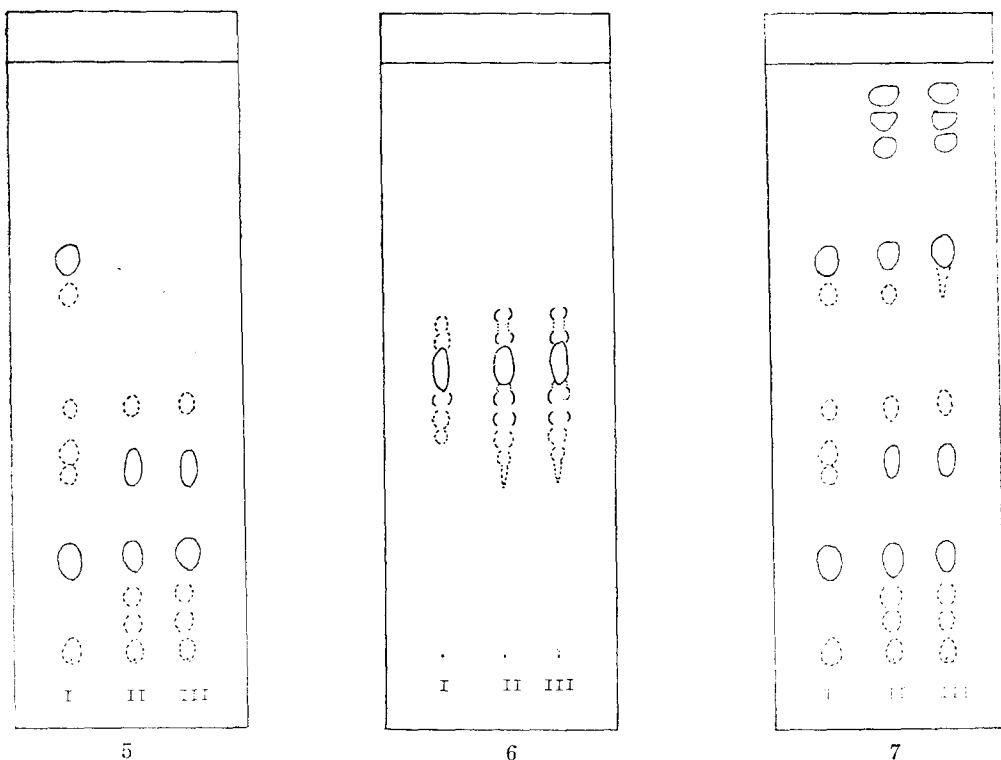


Fig. 4-Effect of antler velvet layer extracts and pantocrin on the aldolase activities in the rat spinal nerves homogenate supernatant with increasing their amounts.

●—● : Chloroform-methanol (2:1) extract  
 △·····△ : Petroleum ether soluble fraction  
 ▲- - -▲ : Petroleum ether insoluble fraction  
 × - - -× : Pantocrin  
 n=6, a: p<0.1, b: p<0.01, c: p<0.001,  
 d: not significant



**Fig. 5**-TLC pattern of pantocrin and petroleum ether insoluble fractions of antler chloroform-methanol (2:1) extracts.

Developing solvent: chloroform-methanol-water (65:25:4) Visualization: 40%  $H_2SO_4$

I : Pantocrin

II : Petroleum ether insoluble fraction of antler sponge layer

III : Petroleum ether insoluble fraction of antler velvet layer

**Fig. 6**-TLC pattern of pantocrin and petroleum ether insoluble fractions of antler chloroform-methanol (2:1) extracts.

Developing solvent: n-butanol-pyridine-water (3:2:1) Visualization: resorcinol

I : Pantocrin

II : Petroleum ether insoluble fraction of antler sponge layer

III : Petroleum ether insoluble fraction of antler velvet layer

**Fig. 7**-TLC pattern of pantocrin and chloroform-methanol (2:1) extracts of antler velvet and sponge layers.

Developing solvent: Chloroform-methanol-water (65:25:4) Visualization: 40%  $H_2SO_4$

I : Pantocrin

II : Chloroform-methanol (2:1) extract of antler sponge layer

III : Chloroform-methanol (2:1) extract of antler velvet layer

100%로 한다.

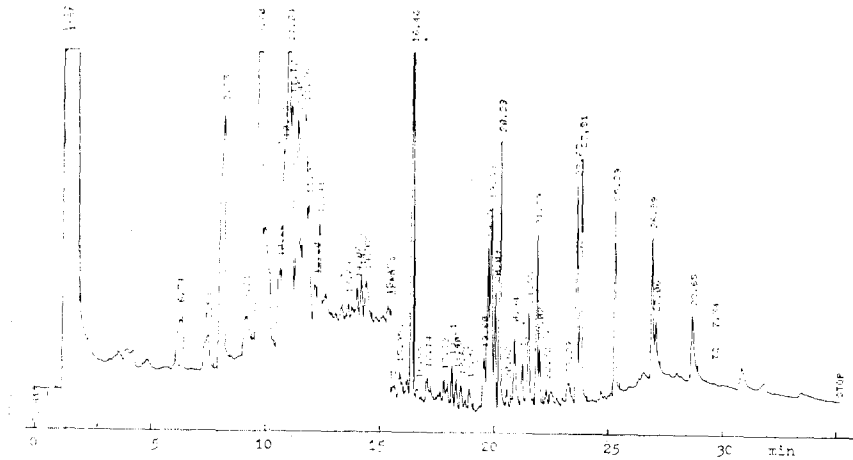
**DHA 檢量 曲線의 作成**—Lehninger<sup>12)</sup>의 방법에 준하여 dihydroxyacetone 용액을 표준액으로 사용하여 표준 검량곡선을 작성하였다. 즉 dihydroxyacetone (DHA) 50mg을 25ml의 증류수에 녹여 48~72시간 냉장고에 보관하여 depolymerization시킨다. 이 stock solution을 증류수로 희석하

여 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0mg/ml의 농도로 만들어 540nm에서 흡광도를 측정하였다. dihydroxyacetone 농도 변화에 따른 흡광도를 측정된 결과는 Fig. 1에 제시하였다.

**蛋白質 標準 檢量 曲線 作成**—Sigma Co.의 bovine serum albumin 50mg을 증류수 50ml에 녹여 0.1% stock solution으로 만들고 이 0.1% stock solution을 증류수로 희석하여 50, 100, 200, 300, 400, 500r/ml의 농도로 만들어 Lowry<sup>13)</sup>법에 따라 각 희석액 1.0ml에 알카리성  $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-CuSO}_4$  용액 5ml를 가하고 잘 혼합시킨 다음 상온에서 15분간 방치하고 Folin-Ciocaltau시약 0.5ml를 가하여 혼합한 다음 30분간 방치한 후 750nm에서 흡광도를 측정하였다. bovine serum albumin의 농도 변화에 따른 흡광도를 측정된 결과는 Fig. 2에 표시되어 있다. 효소액 1.0ml중의 단백질량을 이 단백질표준검량곡선에서 구하여 단위 단백질량 (mg)에 대한 효소 활성을 구하였다.

**흰쥐 脊髓 神經의 Aldolase 活性에 대한 Pantocrin 및 鹿茸의 各種 脂溶性 成分의 效能 檢定**—pantocrin, 녹용 해면층과 벨벨층의 chloroform-methanol (2:1) 추출물, 석유 에테르 가용성 성분과 불용성 성분의 농도를 각각 변화시켜 백서 척수신경의 aldolase 활성에 미치는 영향을 Lehninger법에 준하여 6회 측정하였다. 결과는 Fig. 3, 4에 제시하였다.

**Pantocrin, 鹿茸 海綿層과 벨벨層의 脂溶性 成分의 T.L.C. 및 G.C.에 의한 同定 實驗**—pantocrin, 녹용 해면층과 벨벨층의 chloroform-methanol (2:1) 추출물과 chloroform-methanol (2:1) 추출물에서 석유 에테르 불용성 성분을 T.L.C.에 의해 확인하였으며 결과는 Fig. 5, 6, 7에 제시되어 있다. 인지질과 당지질은 Rouser<sup>14)</sup>과 Lepage<sup>15)</sup>의 문헌에 따라서 전개용매로는 chloroform: methanol: water (65:25:4)를 사용하여 전개하고 발색시약으로는 40%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 용액을 사용하였다. neutral lipid, cholesterol, cerebrosides, phosphatidyl ethanolamine, phosphatidyl choline, sphingomyelin, phosphatidyl serine 및 ganglioside를 확인하였다. 다시 ganglioside의 확



**Fig. 8**-Gas chromatogram of the petroleum ether insoluble fraction of the chloroform-methanol (2:1) extract of antler sponge layer.

G.C.-running conditions: injection mode, splitless mode (30 sec); injector temperature, 240°C; detector, flame ionization; detector temperature, 280°C; oven temperature, 140~260°C with programming 5°C/min; nitrogen (carrier gas) flow rate, 25ml/min; fused silica capillary column (0.2mm i.d.×12m) coated with OV-101. The chromatogram was shown relative intensities vs retention times in min.

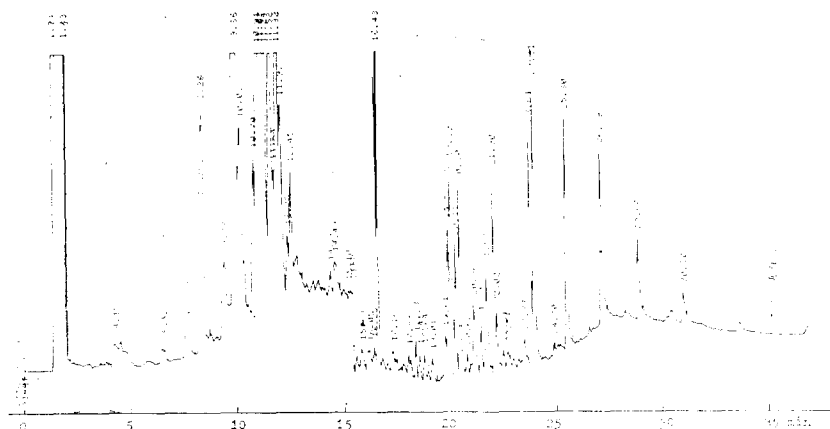


Fig. 9-Gas chromatogram of the petroleum ether insoluble fraction of the chloroform-methanol (2:1) extract of antler velvet layer. For G.C. conditions, see Fig. 8.

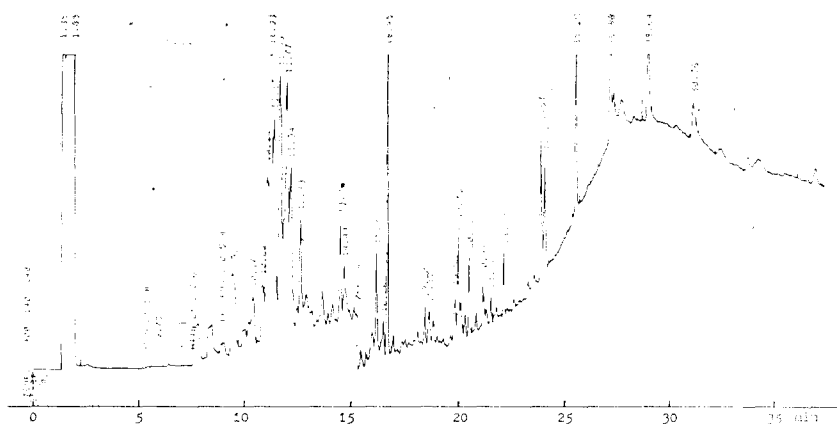


Fig. 10-Gas chromatogram of pantocrin. For G.C. conditions, see Fig. 8.

인은 Klenk,<sup>16)</sup>과 Penick 등<sup>17)</sup>의 문헌에 준하여 resorcinol 시약으로 발색시켜 동정하였다. pantocrin, 녹용 해면층과 벨벨층의 chloroform-methanol (2:1) 추출물에서 석유에테르 불용성 성분은 다시 Gas-chromatographic analysis에 의해 분리 비교하였다. 즉 시료 3mg에 1N-NaOH 용액 1.5ml를 가하여 5분간 잘 혼합한 후 0.32M methylodide dichloromethane 용액 5ml를 가하고 25°C에서 30분간 잘 흔들어서 methylation시킨 다음 Gas-chromatographic analysis를 하였으며 결과는 Fig. 8, 9, 10과 같다.

### 結 論 및 考 察

녹용 해면층의 지용성 성분이 백서 척수신경의 aldolase 활성에 미치는 영향은 Fig. 3에서 보는 바와 같이 chloroform-methanol (2:1) 추출물의 경우 활성 억제 효과를 나타내었으며  $1.2 \times 10^{-2}\%$  농도에서 control  $1,609 \pm 0.066 \text{ mM/mg, min}$ 에 대해  $1,314 \pm 0.044 \text{ mM/mg, min}$ 로  $-18.3\%$  ( $p < 0.02$ )의 최대 활성 억제효과를 보였다. 석유 에테르 가용성 성분도 활성 억제효과를 나타내었



며  $1.2 \times 10^{-2}\%$  농도에서 control  $1,420 \pm 0.023 \text{mM/mg, min}$ 에 대해  $1,102 \pm 0.041 \text{mM/mg, min}$ 로  $-22.4\%$  ( $p < 0.01$ )의 최대 활성 억제효과를 보였다. 석유 에테르에 불용성 성분은 약간의 활성 촉진 효과를 보였으나 별 유의성을 나타내지 않았다.

녹용 벨벨층의 지용성 성분이 백서 척수신경의 aldolase 활성에 미치는 영향은 Fig. 4에서 보는 바와 같이 chloroform-methanol (2:1) 추출물의 경우 활성 억제효과를 나타내었으며,  $1.2 \times 10^{-2}\%$  농도에서 control  $1,661 \pm 0.062 \text{mM/mg, min}$ 에 대해  $1,325 \pm 0.056 \text{mM/mg, min}$ 로  $-20.2\%$  ( $p < 0.01$ )의 최대 활성 억제효과를 보였다. 석유 에테르 가용성 성분도 활성 억제효과를 나타내었으며  $1.2 \times 10^{-2}\%$  농도에서 control  $1,438 \pm 0.016 \text{mM/mg, min}$ 에 대해  $1,101 \pm 0.010 \text{mM/mg, min}$ 로  $-23.4\%$  ( $p < 0.001$ )의 최대 활성 억제효과를 보였다. 석유 에테르 불용성 성분은 녹용 해면층과 마찬가지로 약간의 활성 촉진효과가 있었으나 별 유의성을 나타내지 않았다. pantocrin은 활성 촉진효과를 나타내었으며  $1.2 \times 10^{-3}\%$  농도에서 control  $1,720 \pm 0.015 \text{mM/mg, min}$ 에 대해  $2,453 \pm 0.021 \text{mM/mg, min}$ 로  $42.6\%$  ( $p < 0.001$ )의 최대 활성 촉진효과를 보였다.

pantocrin 및 녹용 해면층과 벨벨층의 chloroform-methanol (2:1) 추출물중에서 석유 에테르에 불용성인 성분을 T.L.C.와 G.C.법으로 비교 분석해 본 결과 gas-chromatogram에서 녹용 해면층과 벨벨층의 석유 에테르에 불용성인 성분에서는 retention time이 6.34, 7.58, 9.70 (min)인 성분이 다같이 검출되었으나 pantocrin에서는 이들 성분이 나타나지 않았으며 그밖의 모든 성분은 동일한 것으로 나타났다.

Gas-chromatographic analysis를 도와주신 서울대학교 생약 연구소의 박정일 씨께 감사드립니다.

## 文 獻

1. J.I. Yong, and N.H. Park, *J. Pharm. Soc. Korea* 5, 1 (1960).
2. J.I. Yong, *J. Pharm. Soc. Korea* 5, 6 (1960).
3. J.I. Yong, *J. Pharm. Soc. Korea* 8, 12 (1964).
4. Y.E. Kim, S.K. Lee, U.C. Yoon and J.S. Kim, *Korean Biochem. J.* 8, 89 (1975).
5. Y.E. Kim, S.K. Lee and H.J. Yoo, *Korean Biochem. J.* 9, 153 (1976).
6. Y.E. Kim, S.K. Lee, M.H. Lee and S.U. Shim, *Korean Biochem. J.* 9, 215 (1976).
7. Y.E. Kim, D.K. Lim and S.U. Shim, *Korean Biochem. J.* 10, 143 (1977).
8. Y.E. Kim, S.K. Lee and M.H. Lee, *Korean Biochem. J.* 10, 1 (1977).
9. S.M. Pavlenko, Sojuzchimexport, Moscow (1965).
10. 瀧川勝雄, 今井正交, 應用藥理, 13, 735 (1977).
11. O. Gyllenhaal, B. Naslund and P. Hartvig, *J. Chromatog.* 156, 330 (1978).
12. J.A. Sibley and A. Lehniger, *J. Biol. Chem.* 191, 859 (1949).
13. O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A. Lewis Farr and R.J. Randall, *J. Biol. Chem.* 193, 265 (1951).
14. G. Rouser, G. Kritchevsky, C. Galli and D. Heller, *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 42, 215 (1965).
15. M. Lepage, *J. Chromatog.* 13, 99 (1964).
16. E. Klenk, W. Gielen, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* 323, 126 (1961).
17. R.J. Penick, M.H. Meisler and R.H. Mccluer, *Biochem. Biophys. Acta* 116, 276 (1966).