

## 인삼 사포닌이 효모 Alcohol Dehydrogenase 에 미치는 영향

김재원 · 주충노

연세대학교 이과대학 생화학과  
(1986년 10월 20일 접수)

## The Effect of Ginseng Saponin on Yeast Alcohol Dehydrogenase

Jae Won Kim and Chung No Joo

Department of Biochemistry, College of Science, Yonsei University, Seoul 120, Korea  
(Received Oct. 20, 1986)

### Abstract

Yeast alcohol dehydrogenase and ginseng saponin interaction has been investigated to understand the non-specific enzyme stimulating effect of the saponin of *Panax ginseng* C.A. Meyer.

It was confirmed that several amphiphiles such as sodium dodecyl sulfate(SDS), Triton X-100, sodium taurodeoxycholate (Na-TDC) as well as ginseng saponin mixture and purified ginseng glycosides lowered  $K_m$  values of yeast alcohol dehydrogenase (ADH) for ethanol and NAD in the presence of the above amphiphiles suggesting that the surface activity of the amphiphiles might play a significant role in the ADH catalyzed reactions.

Conformational change of yeast alcohol dehydrogenase in the presence of the above amphiphiles at their optimal concentration for the maximum activity was studied. Circular dichroism (C.D) spectrum of yeast ADH showed that the conformational change of the enzyme occurred in the presence of above amphiphiles. Fluorescence data also showed that the hydrophobic area increased in the presence of above amphiphiles. Examination of the interaction between ADH and ginseng saponin using radioactive saponin showed that there might be a very weak interaction between them.

From the above results, it was concluded that the non-specific enzyme stimulating effect of the saponin might be due to the change of polarity of the enzyme solution in the presence of the saponin.

### 서 론

유효성분으로 주목을 받아 왔으며, 특히 물질대사의 촉진이라는 관점에서 중간대사와 밀접한 관계가 있는 효소계에 미치는 인삼 사포닌의 영향 연구는 여러 연구실에서 활발히 진행되어 왔다.

주등<sup>1-3)</sup>은 alcohol dehydrogenase(ADH) 및 미토콘드리아의 탈수소효소들에 미치는 인삼 사포닌의 영향 연구에서 이들 효소는 인삼 사포닌의 농도가  $10^5$ — $10^{-4}$ %일 때 최고 활성을 나타내며 농도가 커지면 오히려 효소 활성이 억제됨을 관찰하고 적당량의 인삼 사포닌이 존재할 때 효소가 비특이적으로 활성화 된다고 주장하였다. 그 후 그들은 여러가지 효소들의 활성이 거의 예외없이 적당량의 인삼 사포닌 분획 존재하에서 촉진된다는 것을 확인하고<sup>4)</sup> 이러한 비특이적 효소 활성 촉진은 인삼 사포닌의 화학적 특성으로는 설명하기 어려우며 인삼 사포닌의 계면 활성과 같은 물리적 특성에 기인될 가능성이 크다고 주장하였다. 또한 주등<sup>5)</sup>은 인삼 사포닌의 비특이적 효소 활성화 작용에 관한 메커니즘을 구명하기 위한 horse hepatic ADH 에 미치는 인삼 사포닌의 영향 연구에서 적정농도의 인삼 사포닌 존재하에서 이 효소의 기질에 대한 Km 값이 저하됨을 관찰하고, 인삼 사포닌 존재하에서의 효소의 conformation 변화설을 제창하였다. 최근에는<sup>6-8)</sup> 이러한 실험의 일환으로 인삼 사포닌 혼합물을 비롯한 정제된 ginsenoside, 그리고 sodium dodecyl sulfate(SDS), Triton X-100, sodium taurodeoxycholate(Na-TDC)와 같은 계면활성 물질이 효모 ADH 와 소 혈청 albumin(BSA)에 미치는 영향을 비교 검토하고 인삼 사포닌 존재하에서 효소의 conformation 변화설에 대한 몇가지 증거를 제시한 바 있다.

본 연구에서는 위와 같은 사실들을 토대로 인삼 사포닌의 비특이적 효소 활성화 작용을 알아보기 위하여 몇가지 계면활성 물질이 효모 ADH 에 미치는 영향을 비교 검토하고 효소의 conformation 에 미치는 영향을 관찰하였다.

## 실험 재료 및 방법

인삼 사포닌 혼합물은 김등<sup>9)</sup>의 방법에 따라 금산산 인삼(4년근, 백삼300 당50편급)뿌리 분말 1kg에 chloroform 5l 를 가하여 40°C에서 1시간 방치하고 지질을 제거하는 과정을 3회 되풀이하여 얻은 분말에 methanol 5l 를 가하고 60°C에서 3회 가열추출하여 140 ml 의 20%의 methanol 을 가해 완전히 녹인 후 Amberlite XAD-2 colum 에 흡착시키고 증류수(유속: 20ml/min)로 용출하였다. 용출액의 색이 다 없어질 때까지 증류수를 흘려 보낸다음, 95% methanol 용액(유속: 10ml/min.)흡착된 사포닌을 용출한 후 용출액을 감압농축하여 약 16g 의 황백색 사포닌 혼합물을 얻어 실험에 사용하였다.

각 ginsenoside 는 Sanada 등<sup>10)</sup>의 방법을 변형하여 분리하였다. Silica gel(Kiesel gel 60, 0.063—0.200, 70—230mesh, ASTM)100g 을 methanol: chloroform 혼합용액(50:50, v/v)에 잘 풀어 colum 에 충전하고 같은 용액에 녹여 주입한 후 chloroform 과 methanol 의 비를 달리하면서 용출한 각 분획을 preparative thin layer chromatography (전개용매: chloroform:methanol:H<sub>2</sub>O, 65:40:9, v/v/v)로 표준품과 비교하여 순수 분리하였다. 이와같이 하여 얻은 ginsenoside 의 thin layer chromatogram(전개용매:

chloroform : methanol : H<sub>2</sub>O, 65 : 40, 9/v/v/v)의 Rf 치는 각각 0.49(Rg<sub>1</sub>), 0.38(Re), 0.34(Rc), 0.32(Rb<sub>2</sub>), 0.26(Rb<sub>1</sub>)이었다.

방사성 인삼 사포닌은 주등<sup>12, 13)</sup>의 방법에 따라 제조하여 분리, 정제하였다. 한국인 삼연초연구소 경작시험장에서 분양받은 4년생 인삼뿌리 절편 2g에 3.3ml의 반응혼합물 [9.1×10<sup>-2</sup>M phosphate buffer(pH 8), 3.6×10<sup>-3</sup>M MgCl<sub>2</sub>, 3.6×10<sup>-3</sup>M MnCl<sub>2</sub>, 1.1×10<sup>-1</sup>M sucrose, 4.5×10<sup>-3</sup>M ATP, 2.7×10<sup>-4</sup>M NADPH, 4.5×10<sup>-4</sup>M CoA, 7.3×10<sup>-4</sup>M NAD, 2.3×10<sup>-2</sup>M nicotinamide, 9.1×10<sup>-3</sup>M glutathione, 1.1×10<sup>-2</sup>M sodium acetate, 1,2-<sup>14</sup>C-acetic acid(sodium salt, 55mCi/nmole)300uCi)을 37°C에서 64시간 동안 흔들어 주면서 반응시킨 후, 증류수를 가하여 균질화하여 원심분리(12,000xg, 30min.)한 다음 상층액을 냉동 건조하였다. 이것을 methanol로 추출한 후 3배 부피의 chloroform을 가하여 불용성 부분을 제거한 후 사포닌 분획을 얻어 thin layer chromatography(전개용매 : chloroform:methanol: H<sub>2</sub>O, 65 : 40 : 9, v/v/v)법으로 분리, 정제하였다.

효모 alcohol dehydrogenase(ADH, EC.1, 1.1, 1)의 활성은 주등<sup>3)</sup>의 방법에 따라 측정하였다. ADH의 활성 측정을 위한 반응액(전체부피, 3ml)의 조성(최종농도)은 32mM sodium pyrophosphate buffer(pH 8, 8), 0.8mM NAD<sup>+</sup>, 3mM ethanol, 효소원(0.5μg protein)과 여러가지 농도의 계면활성물질[인삼사포닌, ginsenoside Rg<sub>1</sub>, -Re, -Rc, -Rb<sub>2</sub>, -Rb<sub>1</sub>, sodium dodecylsulfate(SDS), Triton X-100, sodium taurodeoxycholate (Na-TDC)이었다. 반응액은 37°C에서 5분간 방치한 후 NAD<sup>+</sup> 용액을 가하고 생성되는 NADH의 흡광도를 340nm에서 UV spectrophotometer(Shimadzu UV-240)로 측정하였다.

효모 ADH의 ethanol에 대한 Km값의 측정은 ethanol의 농도를 변화시켜 가면서 생성된 NADH의 양을 측정하여 효소 활성을 계산하였고 이 값을 Lineweaver-Bulk plot에 의해 알아보았다. NAD<sup>+</sup>에 대한 Km값도 마찬가지로 NAD<sup>+</sup>의 농도를 변화시켜 위의 방법대로 측정하였다.

단백질(효모 ADH 또는 BSA)용액에 <sup>14</sup>C로 표지된 인삼 사포닌 혼합물을 포함한 인삼 사포닌 혼합물을 가한 용액을 상온에서 10분간 방치한 다음 고체 ammonium sulfate를 가하여 최종 농도가 80%가 되도록 한 다음 원심분리(15,000rpm, 10min.)하여 침전물을 얻었다. 이렇게 얻은 침전물을 같은 방법으로 원심분리하여 상층액에서 방사능이 검출되지 않을 때까지 세척한 다음 얻은 침전물을 0.1M phosphate buffer(pH 7.0)에 잘 현탁시켜 방사능을 측정하였다. 효모 ADH 용액(3ml)의 조성(최종농도)은 32mM sodium pyrophosphate buffer(pH 8, 8), ADH 용액(1mg protein)방사능 표지 인삼 사포닌 혼합물(0.018μCi)을 포함한 10<sup>-5</sup>%인삼 사포닌 혼합물이었다.

효모 ADH에 여러가지 계면활성 물질(인삼 사포닌 혼합물, 각 ginsenoside, SDS, Triton X-100, Na-TDC)을 첨가한 용액의 300-200nm 사이의 C.D spectrum을 spectropolarimeter(Jesco. model J-20)로 측정하였다. 효소액(3ml)의 조성(최종농도)은 32mM pyrophosphate buffer(pH 8, 8), 효소액(1mg 단백질 용액), 여러가지 계면활성 물질(인삼 사포닌 혼합물, 각 ginsenoside, SDS, Triton X-100, Na-TDC)이었다. 소 혈청 albumin(SAS)의 C.D spectrum을 측정할 때의 단백질 용액(3ml)의 조성(최종농도)은

0.1M cyclohexylaminopropane sulfuric acid(CAPS) buffer(pH 11.0)와 BSA 용액(1mg protein, fatty acid free)과 여러가지 계면활성물질(인삼 사포닌 혼합물, ginsenoside Rb<sub>1</sub>, SDS, Triton X-100, Na-TDC)이었다.

효모 ADH 에 여러가지 계면활성물질(인삼 사포닌 혼합물, 각 ginsenoside, SDS, Triton X-100, Na-TDC)을 첨가한 용액의 fluorescence 를 electronic photofluorometer(Coleman model 12C)로 측정하였다. 효소액(3ml)의 조성(최종농도)은 32mM pyrophosphate buffer(pH 8.8), ADH 용액(1mg protein)여러가지 계면활성물질(인삼 사포닌 혼합물, 각 ginsenoside, SDS, Triton X-100, Na-TDC), 10<sup>-4</sup>M ANS 이었다.

BSA 에 여러가지 계면활성물질(인삼 사포닌 혼합물, ginsenoside Rb<sub>1</sub>, SDS, Triton X-100, Na-TDC)을 첨가한 용액의 조성(최종농도)은 0.1M CAPS buffer(pH 11.0) BSA 용액(1mg protein), 10<sup>-4</sup>M ANS 이었다. Fluorescence 측정시의 absorption 파장은 404nm 이었고, emission 파장은 480nm 이었다.

효모 alcohol dehydrogenase, 소 혈청 albumin, 8-anilino-1-naphthalene sulfonate(ANS), nicotinamide adenine dinucleotide, oxidized(NAD<sup>+</sup>), sodium dodecyl sulfate(SDS), Triton X-100, sodium taurodeoxycholate(Na-TDC)는 Sigma 사에서 구입하였고, [1,2-<sup>14</sup>C]-acetate 는 New England Nuclear 사 제품을 사용하였다. 그 밖의 시약은 시중에서 구입한 특급품을 사용하였다.

## 실험결과 및 고찰

최근 본 연구실에서 인삼 사포닌 혼합물을 비롯하여 각 정제된 ginsenoside 와 여러가지 계면활성 물질(SDS, Triton X-100, Na-TDC) 존재하에서의 효모 ADH 의 활성을 조사한 결과, 인삼 사포닌 혼합물의 경우 반응액에서는 농도가 10<sup>-5</sup>%일 때 최고 활성을 나타내었고, 정제된 Rg<sub>1</sub>의 경우는 반응액에서의 농도가 10<sup>-7</sup>%일때, Re의 경우는 10<sup>-8</sup>%, Rc는 10<sup>-3</sup>%, Rb<sub>2</sub>는 10<sup>-5</sup>%, Rb<sub>1</sub>는 10<sup>-2</sup>%일 때 각각 최고 활성을 나타내었다. 즉, 최고 활성을 나타내는 적정농도는 각 사포닌의 구조에 따라 다르나 최고 활성을 위한 적정농도가 존재함을 알 수 있었다. 뿐만 아니라 SDS, Triton X-100, Na-TDC 와 같은 계면활성제가 효소에 미치는 영향을 조사한 결과 SDS의 경우 농도가 10<sup>-5</sup>%일 때 최고 활성을 나타내었고, Triton X-100과 Na-TDC의 경우도 반응액에서의 농도가 10<sup>-5</sup>%일 때 각각 최고 활성을 나타내었다. 이와 같은 결과는 인삼 사포닌의 효소 활성 촉진이 인삼 사포닌의 계면활성에 기인하는 것을 시사해 주는 것이다<sup>7,8)</sup>.

이러한 사실을 토대로 인삼 사포닌을 비롯한 여러 계면활성 물질이 효모 ADH의 ethanol과 NAD<sup>+</sup>에 대한 Km값에 미치는 영향을 조사한 결과 Table 1에서와 같이 인삼 사포닌과 SDS, Triton X-100, Na-TDC의 경우 모두 Km값을 10%내외 감소시키는 것으로 관찰되었다. 이와 같은 결과는 이미 보고한 horse hepatic ADH의 경우와 유사한 결과이며 인삼 사포닌의 효소 활성 촉진이 인삼 사포닌의 계면활성에 기인함을 예측할

**Table 1.** Km values of yeast alcohol dehydrogenase for ethanol and NAD<sup>+</sup>. Km of yeast ADH was determined by measuring the O.D increment at 340nm of the reaction mixture (3.0ml) containing (final concentrations) 32mM pyrophosphate buffer (pH 8.8), ADH solution (5μg protein), various concentration of ethanol (1mM - 100mM) or NAD<sup>+</sup> (10μM-500μM)

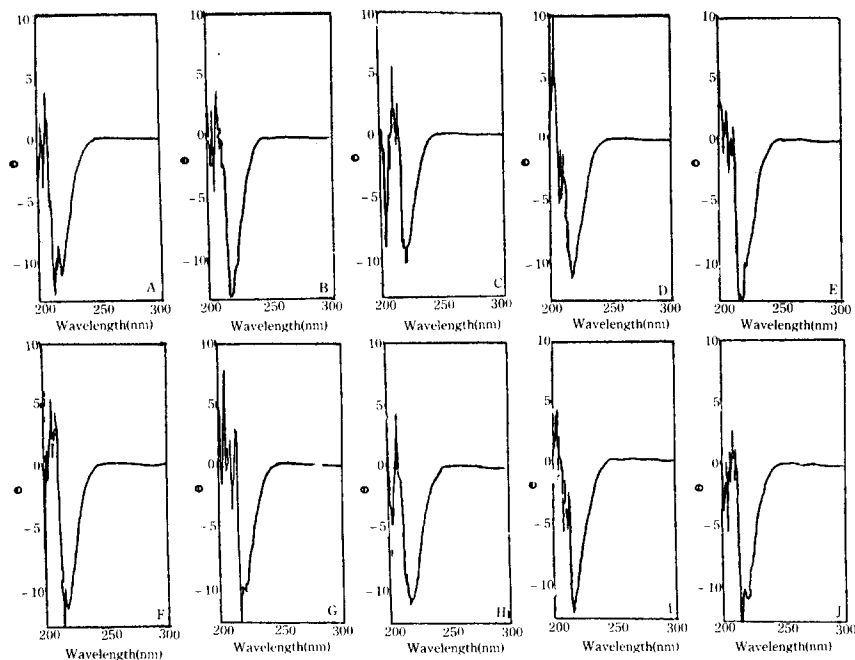
Amphiphiles	Km	
	For ethanol ( $\times 10^{-3}$ M)	For NAD <sup>+</sup> ( $\times 10^{-3}$ M)
Control	1.33	8.33
Ginseng saponin mixture	1.17	7.14
Ginsenoside Rb <sub>1</sub>	0.63	4.76
- Rb <sub>2</sub>	1.19	6.25
- Rc	1.25	6.45
- Rg <sub>1</sub>	1.25	7.69
SDS	1.17	7.14
Triton X-100	1.17	6.89
Na-TDC	1.11	6.89

수 있었다. Ginsenoside Rb<sub>1</sub>의 경우는 효모 ADH 에 대한 ethanol 과 NAD<sup>+</sup>의 Km 값을 비교적 크게 저하시키는 것으로 나타났는데, 이는 더 연구할 가치가 있는 흥미로운 결과라고 생각한다.

단백질의 2차 구조의 변동을 추적하는 강력한 방법의 하나로서 널리 이용되고 있는 circular dichroism(C.D) spectropolarimetry 로 인삼 사포닌과 여러가지 계면 활성제 존재 하에서의 효모 ADH 의 C.D spectrum 을 조사하였다. 인삼 사포닌 혼합물의 경우 대조군에서 관찰되었던 203nm 와 207nm 에서의 +흡광대 이외에 210nm 에서 새로운 +의 흡광대가 나타났으며 대조군의 213nm 와 220nm 의 -흡광대는 없어지고 218nm 에서 -흡광대가 나타났다. 정제된 각 ginsenoside 경우에도 대조군과 다른 양상의 spectrum 을 얻었는데, 정제된 ginsenoside Rb<sub>1</sub>의 경우에는 212nm 에서 +흡광대, Rc는 210nm 에서 +흡광대, Rg<sub>1</sub>의 경우에는 215nm 에서 +흡광대가 관측되었으며, 적정농도의 SDS, Triton X-100, Na-TDC 존재하에서의 효모 ADH 의 C.D spectrum 을 조사한 결과도 모두 대조조건의 spectrum 과 다른 양상의 spectrum 이 관찰되었다. 이것으로 미루어 보아 적정농도의 인삼 사포닌 존재하에서 ADH 의 conformation 변화가 사포닌의 계면 활성에 기인한 것으로 생각되었다 (Fig. 1).

Hydrophobic probe 인 8-anilino-1-naphthalene sulfonate(ANS)형광 강도를 추적한 결과 Table 2에 나타낸 바와 같이 인삼 사포닌 혼합물, 정제된 ginsenoside, 여러가지 계면 활성 물질 존재하에서의 ADH 의 hydrophobic area 가 모두 증가한 것으로 관찰되었다.

한편 ADH 의 conformation 변화가 인삼 사포닌과 ADH 와의 직접적인 상호작용에 기인하는 것인지 또는 ADH 용액의 인삼 사포닌으로 인한 polarity 변화에 의한 것인지를 알아보기 위해 방사성 동위원소 (<sup>14</sup>C)로 표지된 인삼 사포닌 혼합물을 함유한 ADH 용액에 ammonium sulfate 를 가하여 ADH 를 침전시킨 후의 상층액에서 회수되는 방사능을



**Fig. 1.** C-D spectra of yeast alcohol dehydrogenase in 32mM pyrophosphate buffer (pH 8.8) in the presence of ideal amounts of various amphiphiles.

A: control B: ginseng saponin mixture C: ginsenoside Rb<sub>1</sub> D: ginsenoside Rb<sub>2</sub>  
 E: ginsenoside Rc F: ginsenoside Re G: ginsenoside Rg<sub>1</sub> H: sodium dodecyl sulfate  
 I: Triton R-100 J: sodium taurodeoxycholate.

**Table 2.** Relative fluorecence intensity of yeast alcohol dehydrogenase in the presence of various amphiphiles. The solution (3ml) contained (final concentration) 32mM pyrophosphate buffer (pH 8.8), 10<sup>-4</sup>M ANS and ADH solution (1mg protein)

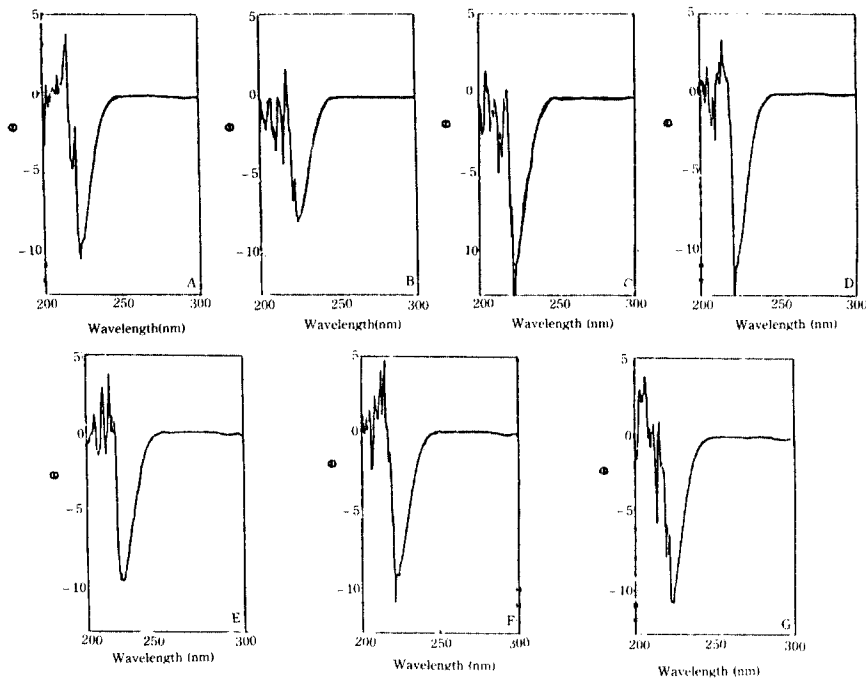
Group	Relative fluorecence intensity
Control	100
Ginseng saponin mixture	142
Ginsenoside Rb <sub>1</sub>	138
- Rb <sub>2</sub>	116
- Rc	138
- Re	124
- Rg <sub>1</sub>	136
SDS	126
Triton X-100	138
Na-TDC	114

조사한 결과(Table 3) 1차 침전시킨 후의 방사능 회수율은 70.5%, 2차 회수율이 19.3%, 3차 회수율이 3%로 90% 이상이 회수된 것으로 보아 ADH 와 사포닌과의 직접 상호작용은 아주 약한 것으로 생각되며 이와같은 적정농도의 인삼 사포닌 존재하에서의 ADH 의 conformation 의 변화는 수용액의 극성변화에 기인한 것으로 추정된다.

이와 같은 인삼 사포닌의 계면활성으로 인한 효모 ADH 의 conformation 변화가 다른 단백질에도 적용되는가의 여부를 조사하기 위해 BSA 를 사용하여 C.D spectrum

**Table 3.** Interaction between ginseng saponin mixture and yeast alcohol dehydrogenase (ADH). The ADH was incubated in  $10^{-5}\%$  saponin solution containing radioactive saponin (3,500 DPM) for 30min., and the ADH was precipitated using 80% ammonium sulfate. The values are mean value of three determinations

Treatment	Radioactivity	Recovered %
Supernatant	2,468	70.5
1st washing	676	19.3
2nd washing	105	3.0
Precipitates	48	1.4



**Fig. 2.** CD spectra of bovine (fatty acid free) in 0.1M CAPS buffer (pH 11.0) in the presence of ideal amounts of various amphiphiles.

A: control B: ginseng Saponin fraction C: ginsenoside Rb, D: ginsenoside Rg,

E: sodium dodecyl sulfate F: Trton X-100 G: sodium taurodeoxycholate

(Fig. 2), ANS에 의한 형광 강도 측정(Table 4)을 행한 결과 인삼 사포닌이 ADH에 미치는 영향과 유사하였으며, 인삼 사포닌과 BSA의 상호작용도 ADH와 같이 약한 것으로 풀이되며(Table 5) 계면활성물질이 단백질에 미치는 일반적인 현상인 것으로 생각된다.

이상의 결과와 이미 보고한 UV difference spectrum<sup>7,8)</sup>의 결과 그리고 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) 의한 적정 실험의 결과<sup>6)</sup> 등을 종합하여 볼때, 인삼 사포닌류의 비특이적 효소활성은 인삼 사포닌의 계면활성으로 인한 효소 단백질의 conformation 변화에 기인한 것으로 생각된다.

**Table 4.** Relative fluorescence intensity of bovine serum albumin in the presence of various amphiphiles. The BSA solution (3ml) contained (final concentration) 0.1M CAPS buffer (pH 11.0),  $10^{-4}$ M ANS and BSA solution (1mg protein)

Group	Relative fluorescence intensity
control	100
Ginseng saponin mixture	118
Ginsenoside Rb <sub>1</sub>	116
- Rg <sub>1</sub>	120
SDS	110
Triton X-100	104
Na-TDC	108

**Table 5.** Interaction between ginseng saponin mixture and bovine serum albumin (BSA). The BSA was incubated in  $10^{-4}$ % saponin solution containing radioactive saponin (3,500 DPM) for 30min. and the BSA was precipitated using 80% ammonium sulfate. The values are mean values of three determinations

Treatment	Radioactivity	Recovered %
Supernatant	2,400	68.6
1st washing	665	19.0
2nd washing	181	5.2
Precipitates	84	2.4

## 요 약

인삼 사포닌의 비특이적 효소활성 촉진작용에 관한 메카니즘을 구명하기 위하여 인삼 사포닌 혼합물과 정제된 ginsenoside, 그리고 sodium dedecylsulfate(SDS), Triton X



--100, sodium taurodeoxycholate(Na-TDC)와 같은 계면 활성 물질이 효모 alcohol dehydrogenase(ADH)에 미치는 영향을 비교 검토하였다.

인삼 사포닌 혼합물과 정제된 ginsenoside 그리고 SDS, Triton X-100, Na-TDC 와 같은 계면활성 물질이 ADH의 ethanol 및  $NAD^+$ 에 대한 Km 값에 미치는 영향을 조사한 결과 위의 계면 활성제가 공통적으로 Km 값을 약 10% 정도 저하하였다.

인삼 사포닌 혼합물, 정제된 ginsenoside 그리고 SDS, Triton X-100, Na-TDC 와 같은 계면 활성제(적정농도) 존재 하에서의 효모 ADH를 circular dichroism(C.D) spectropolarimetry로 조사한 결과, 효소의 conformation 변화가 일어남을 예측할 수 있었으며, hydrophobic probe인 8-anilino-1-naphthalene sulfonate(ANS)형광 강도의 변동을 추적한 결과도 인삼 사포닌이나 계면 활성제 존재시에는 ADH의 hydrophobic area가 증가한 것으로 관찰되었으며 Km 저하원인이 ADH의 conformation 변화에 기인되는 것으로 추측되었다.

### 인용문헌

1. 주충노, 유학수, 이상직, 이효숙 : 한국생화학회지 **6**, 177(1973).
2. 주충노, 최임순, 정노팔, 이상직, 김옥희 : 한국생화학회지 **7**, 85(1974).
3. 주충노, 한정호 : 한국생화학회지 **9**, 43(1976).
4. Joo, C. N. : Surfactants in solution, (Proceedings of International Symp. on Surfactant in Solution), Vol. 3, 2093 (1982).
5. Joo, C. N., J. H. Koo and B. H. Kang : *Korean Biochem. J.* **12**, 81 (1980).
6. Joo, C. N. and J. W. Kim : *Korean Biochem. J.* **17**, 431 (1984).
7. Kim, J. W. and C. N. Joo : *Korean Biochem. J.* **18**, 279 (1985).
8. Kim, J. W., H. B. Lee, C. N. Joo : *Korean Biochem. J.* **18**, 453 (1985).
9. Kim, J. W., H. B. Lee and C. N. Joo : *Korean Biochem. J.* **16**, 142 (1983).
10. Sanada, S., N. Kondo, J. Shoji, O. Tanaka, and S. Shibata : *Chem. Pharm. Bull.* **22**, 421 (1974).
11. Han, B. H. : in Chemical and Biochemical Studies on Ginseng Saponin, Korea Ginseng and Tobacco Res. Ins. (1981).
12. Joo, C. N., J. H. Koo, H. B. Lee, J. B. Yoon and Y. S. Byun : *Korean Biochem. J.* **15**, 189 (1982).
13. Lee, H. B. and C. N. Joo : *Korean Biochem. J.* **16**, 136 (1983).