

人蔘 Saponin이 血漿 Lipoproteins 및 Lecithin Dispersion과 Dextran Sulfate의 相互作用에 미치는 影響

金 榮 中 · 全 美 姬

서울대학교 藥學大學

Studies on the Effect of *Panax ginseng* on the Interactions of Human
Plasma Lipoproteins and Lecithin Dispersions with Dextran Sulfate

Young Choong KIM and Mee Hee JEON

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

Abstract—The effect of saponin fractions of *Panax ginseng* root on the interactions of human plasma lipoproteins and lecithin dispersions with dextran sulfate were studied in order to examine the effect of *Panax ginseng* on the lipid accumulation in the aorta. The total saponin fraction and protopanaxadiol glycosides of *Panax ginseng* root seemed to slightly enhance the interaction of low density lipoproteins with dextran sulfate in the absence of divalent metal ions. Protopanaxatriol glycosides remarkably inhibited the interaction of low density lipoproteins with dextran sulfate. However, all of these three saponin fractions of *Panax ginseng* root showed the tendency of inhibition to the interaction of high density lipoproteins with dextran sulfate in the presence of divalent metal ions by the order of protopanaxatriol glycosides, protopanaxadiol glycosides and total saponin. Three saponin fractions of *Panax ginseng* exerted almost same tendency to the interaction of lecithin dispersions with dextran sulfate in the presence of divalent metal ions as the interaction of low density lipoproteins with dextran sulfate absence of divalent metal ions.

Keywords—*Panax ginseng* · total saponin fraction. · protopanaxadiol glycosides (PPDG) · protopanaxatriol glycosides (PPTG) · low density lipoproteins (LDL) · High density lipoproteins (HDL) · lecithin dispersions · dextran sulfate (DS) · insoluble complex

人蔘은 그 효능을 동양은 물론 최근에는 서양에서까지 인정받기에 이르러 많은 학자들이 人蔘의 효능을 정확히 이해하고 그 작용기전을 밝히기 위하여 생화학적, 약리학적 연구를 수행하였다. 이러한 연구 결과의 일환으로 인삼 saponin은 여러가지 효소를 비특이적으로 활성화시키고¹⁾, 난수용성지질의 분산에 효과가 있으며^{1,2)}, 지질의 흡수, 이화, 합성등을 촉진함으로써 cholesterol 대사를 원활히 진행시키고, 인지질

합성과 lipoprotein lipase의 활성화 등으로 난수용성 지질 운반에 효과가 있다고 밝혀졌다.³⁾ 또한 人蔘 saponin 분획물은 정상 토끼에 8주간 투여하였을 때 혈청 및 간장의 cholesterol 수준을 현저히 저하시키며⁴⁾, 高 cholesterol식으로 사육한 토끼의 대동맥과 관상동맥등에 지질 침착과 섬유화를 억제하며⁵⁾, 동맥경화증 환자에게 약물과 함께 투여하면 환자의 혈청 cholesterol 값을 정상 수준으로 저하시킨다는 사실⁶⁾이 보

고되었다.

지질 대사와 관련된 여러질환들 가운데 동맥경화증은 최근의 식생활 향상에 따른 高脂質과 高 cholesterol 食의 섭취로 우리나라에서도 증가되는 추세이며 그 원인과 발생 기전에 대하여서는 異見이 많고 아직도 정설은 없는 실정이다. 하지만 많은 학자들이 동맥벽에서 볼 수 있는 지질 침착이 高 cholesterol 혈증에 의한 지방 축적이라는 견해하에서 각종 실험동물을 대상으로 高 cholesterol식이성 동맥경화증의 유발 실험을 시도해 왔다. 동맥조직에 축적되는 지질은 주로 cholesterol과 cholesterol ester이며 이들의 체내 운반체인 LDL의 농도와 동맥경화증의 유발은 밀접한 상관 관계가 있다.⁷⁻⁹⁾ 동맥경화증 환자의 동맥조직에서 일어나는 지질 축적 현상을 설명하는 일설로써 체내의 cholesterol 운반체인 LDL과 동맥조직의 구성 성분중의 하나인 acid mucopolysaccharide 사이의 상호 작용에 의한 cholesterol 축적을 들 수 있다.¹⁰⁻¹⁵⁾ 인삼이 동맥경화증 환자의 동맥조직에서 일어나는 지질 축적에 어떻게 영향을 미치는 가를 밝히기 위하여 본 연구는 혈장 lipoproteins 및 lecithin dispersions과 동맥조직의 구성 성분중의 하나인 acid mucopolysaccharide의 model compound로 dextran sulfate를 이용하여 수행되었다.

실험재료 및 방법

인삼 Total Saponin Fraction, PPDG 및 PPTG의 분리 및 정제

인삼의 total saponin fraction, PPDG 및 PPTG는 shibata등의 방법^{16,17)}을 약간 수정하여 분리 정제하였다. 인삼을 무수 ethanol로 수욕상에서 3회 추출, 여과한 다음 추출액을 감압 농축하였다. 농축한 엑기스를 최소량의 증류수에 녹인 후 ether로 세척하여 유상 물질을 제거한 다음 수층의 총 saponin을 n-butanol로 추출하고 5% NaOH용액을 가하여 진탕하였다. n-butanol층을 분리 농축하여 총 PPTG를 얻었고 NaOH층은 1N-HCl로 중화시킨 다음 다시 n-butanol로 추출하여 감압 농축시켜 총 PPDG를 얻었다. 상기의 saponin 분획물은 활성탄으로 처리하여 정제

하였다.

Dextran Sulfate의 조제

평균분자량이 150,000인 dextran (Sigma Chemical Co.)을 사용하여 Ricketts의 방법¹⁸⁾으로 제조한 dextran sulfate는 1.43 sulfate groups/hexose unit로 14.8% sulfur를 함유하였다.

Human Plasma LDL 및 HDL의 분리

및 정제

적십자 혈액원에서 채취한 정상인의 혈장에서부터 혈장 lipoproteins가 각기 다른 비중을 갖는 성질을 이용하여 초원심분리법^{13,19)}으로 LDL 및 HDL을 분리정제하였다.

Lecithin의 분리, 정제 및 Lecithin

Dispersions 조제

Lecithin은 Faure의 방법²¹⁾에 의하여 난황에서 분리하여 Wells와 Hanahans의 방법²²⁾으로 정제하였다. Lecithin dispersions는 Nakagawa와 Nighida의 방법²³⁾에 의하여 조제하였다.

불용성 LDL-DS, HDL-DS, Lecithin-DS

화합물 형성

불용성 LDL-DS 화합물 형성은 Nishida와 Cogan의 방법¹³⁾에 의하여 LDL 0.8mg에 여러 다른 양의 DS를 가하고 인산완충액 (pH=7.4, ionic strength=0.1)으로 총 부피를 1.5ml로 맞추어 30분간 상온에서 방치하였다. 형성된 불용성 화합물은 2900×g에서 30분간 원심분리하여 침전시켜 얻었으며 침전된 불용성 화합물의 양은 단백질을 정량하여 측정하였다.

불용성 HDL-DS 화합물은 Kim과 Nishida의 방법¹⁵⁾에 의하여 HDL 0.32mg에 여러 다른 양의 DS를 가하고 30 mmole 농도의 CaCl₂ 용액을 첨가한 다음 tris 완충액 (pH=7.4, ionic strength=0.1)으로 총 부피를 1.5ml로 맞추어 준 다음 상기의 불용성 LDL-DS 화합물과 동일한 방법으로 형성시켜 분리하였다.

불용성 lecithin-DS 화합물은 Kim과 Nishida¹⁴⁾의 방법에 따라 lecithin 0.2mg에 여러 다른 양의 DS를 가하고 0.5 mmole CaCl₂ 용액을 첨가한 다음 tris 완충액 (pH=7.4, ionic strength=0.1)으로 총 부피를 0.75ml로 맞추어 후 상기의 불용성 LDL-DS 화합물과 동일한 방법으로 형성시켜 분리하였다. 침전된 불용성 화합물의 양

은 인을 정량하여 측정하였다.

단백질 정량

단백질은 Lowry방법²³⁾에 의하여 bovine serum albumin(Nutritional Biochemicals corporation)을 표준품으로 사용하여 정량하였다.

인 정량

인은 Rouser의 방법²⁴⁾에 의하여 NaHPO₄를 표준품으로 사용하여 측정하였다. Lecithin양은 lecithin의 분자량을 787로 간주하여 측정한 인의 양에 25.4를 곱해주어 얻었다.

결과 및 고찰

인삼 saponin이 불용성 LDL-DS 화합물 형성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 LDL 0.8mg에 동량의 인삼 total saponin fraction, PPDG, PPTG를 각기 첨가하여 30분간 상온에서 incubation시켜 LDL을 인삼 saponin으로 처리한 다음에 DS의 양을 각기 달리하여 반응시켰을 때 얻을 수 있는 침전곡선은 Fig. 1과 같다. 인삼의 total saponin fraction과 PPDG는 불용성 LDL-DS 화합물의 형성을 약간 증진시키는 경

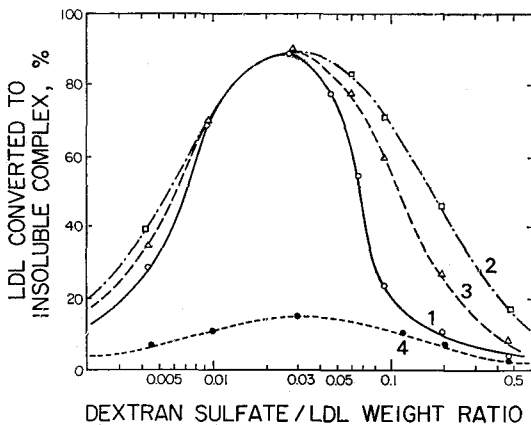


Fig. 1. The effect of totl saponin fraction, PPDG and PPTG of *Panax ginseng* on the formation of the insoluble LDL-DS complex. Curve 1 shows the conversion of LDL to insoluble complex as a function of the DS to LDL weight ratio in the absence of divalent metal ions. Curves 2, 3 and 4 show the conversion of LDL to the insoluble complexes in the presence of total saponin fraction, PPDG and PPTG of *Panax ginseng*, respectively.

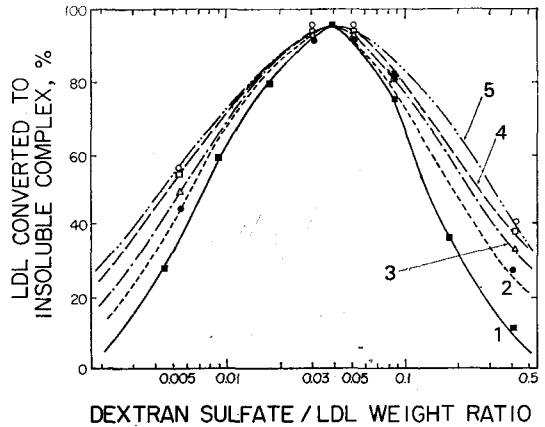


Fig. 2. The effect of the total saponin fraction of *Panax ginseng* on the conversion of LDL to insoluble LDL-DS complex in the absence of divalent metal ions. Curve 1 shows the conversion of LDL to insoluble complex as a function of the DS to LDL weight ratio. Curves 2, 3, 4 and 5 show the conversion of LDL to the insoluble complexes in the presence of 0.2mg, 0.4mg, 0.8mg and 1.6 mg of total saponin fraction, respectively.

향이었으나 PPTG는 이와는 대조적으로 불용성 화합물의 형성을 크게 저하시키는 것을 볼 수 있다. 이러한 인삼 saponin의 LDL-DS 상호 작용에 미치는 영향은 LDL 분자 구조 자체의 변화에서 초래되는지 또는 이미 형성된 불용성 화합물에 영향을 미치는지를 알아보기 위하여 먼저 불용성 LDL-DS 화합물을 형성시킨 다음 각각의 인삼 saponin 분획물들을 첨가시켜 얻은 침전 곡선도 Fig. 1에서 얻은 침전 곡선과 같았다. 인삼 saponin의 양이 불용성 LDL-DS 화합물 형성에 어떻게 영향을 미치는지를 보기 위하여 total saponin fraction을 0.2mg에서 1.6mg까지 증가시켜 주었을 때 얻을 수 있는 침전 곡선은 Fig. 2에서의와 같다. Total saponin fraction의 양을 증가시키에 따라 불용성 화합물 형성도 증가되는 경향이였으나 주목할 만한 차이는 없었다. 그러나 PPTG의 양을 0.2mg에서 1.6mg까지 증가시켰을 때는 Fig. 3에서 볼 수 있듯이 불용성 LDL-DS 화합물 형성이 크게 저하되는 것을 볼 수 있었다.

이상의 결과로 미루어 볼 때 인삼 saponin은 LDL분자의 표면에 분포되어 있는 cholesterol과

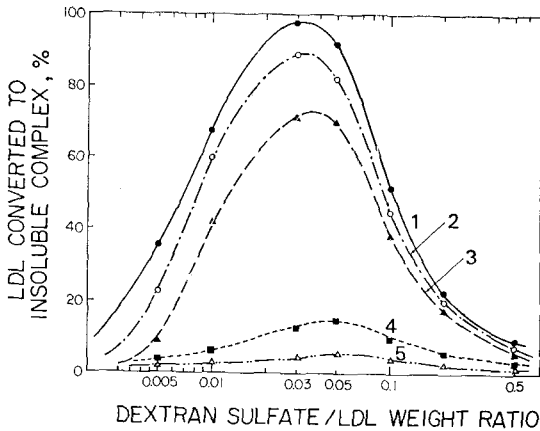


Fig. 3. The effect of PPTG of the *Panax ginseng* on the conversion of LDL to insoluble LDL-DS complex. Curve 1 shows the conversion of LDL to insoluble complex as a function of the DS to LDL weight ratio in the absence of divalent metal ions. Curves 2, 3, 4 and 5 show the conversion of LDL to the insoluble complexes in the presence of 0.2mg, 0.4mg, 0.8mg and 1.6mg PPTG, respectively.

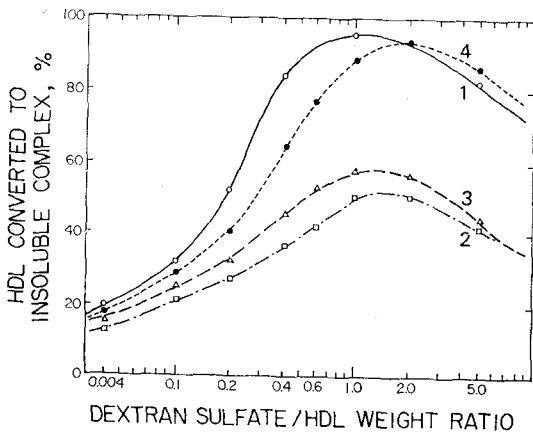


Fig. 4. The effect of total saponin fraction, PPDG and PPTG of *Panax ginseng* on the conversion of HDL to the insoluble HDL-DS complex in the presence of 30mM CaCl₂ concentration. Curve 1 shows the conversion of HDL to the insoluble complex as a function of the DS to HDL weight ratio at the concentration of 30mM CaCl₂. Curves 2, 3 and 4 represent the precipitation curve of the HDL-DS interaction in the presence of total saponin fraction, PPDG and PPTG, respectively at the concentration of 30mM CaCl₂.

결합함으로써 LDL의 3차분자 구조에 변화를 초래하는 듯 하다. 이와 같은 추정은 *Digitalis*속의 식물에서 얻은 saponin의 일종인 digitonin이 cholesterol과 결합하여 불용성화합물을 형성하는 것으로^{25,26} 미루어 보아 가능하다 하겠다. 또한 이러한 추정은 digitonin을 적혈구에 작용시키면 용혈 현상이 일어나는데 이는 digitonin이 적혈구 막의 cholesterol과 견고한 화합물을 형성함으로써 적혈구가 파괴되어 일어나며, digitonin에 붙어있는 당분자의 수에 크게 좌우되며 digitonin에 붙어있는 당분자의 수를 인위적으로 증가시켰을 때 용혈 현상은 더욱 심해지며 당분자의 수를 줄여주었을 때는 약화된다고²⁷ 하는 사실을 감안할 때 더욱 확실해진다고 할 수 있겠다. 불용성 LDL-DS 화합물 형성에 인삼의 total saponin fraction, PPDG 및 PPTG가 달리 작용하는 것은 이들에 함유되어 있는 당의 종류, 수 및 배치가 다른데 기인하는 것 같다. 본 연구의 실험 결과로 미루어 본다면 PPDG는 LDL표면에 존재하는 양성으로 하전된 group을 더욱 노출시켜 반응에 참여할 수 있도록 LDL 분자 구조를 팽창된 상태로 변화시켜 주는 듯 하다. 이와는 반대로 PPTG는 LDL분자 구조를 밀집된 덩어리의 형태로 만들어 양성으로 하전된 group을 은폐시켜 불용성 LDL-DS 화합물 형성을 저하시키는 듯 하다.

인삼 saponin이 불용성 HDL-DS화합물 형성에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 HDL 0.32mg에 동량의 인삼 total saponin fraction, PPDG 및 PPTG를 각각 첨가하여 상온에서 30분간 HDL은 처리한 다음, DS의 양을 각기 달리 하여 30mM CaCl₂ 농도에서 반응시켰을 때 얻을 수 있는 침전 곡선은 Fig. 4와 같다. HDL은 LDL과 달리 칼슘이온을 불용성화합물은 형성하는데 꼭 필요로 한다. 칼슘농도 30mM 존재하에서 인삼의 total saponin fraction, PPDG 및 PPTG 모두 불용성 HDL-DS 화합물 형성을 크게 저하시키는 것을 알 수 있었다. 인삼 saponin의 양과 불용성 HDL-DS 화합물 형성 저해 정도를 알아 보기 위하여 total saponin fraction의 양을 0.16mg에서 2.56mg까지, 또한 PPTG의 양을 0.16mg에서 1.28mg까지 변화시켰을 때 얻

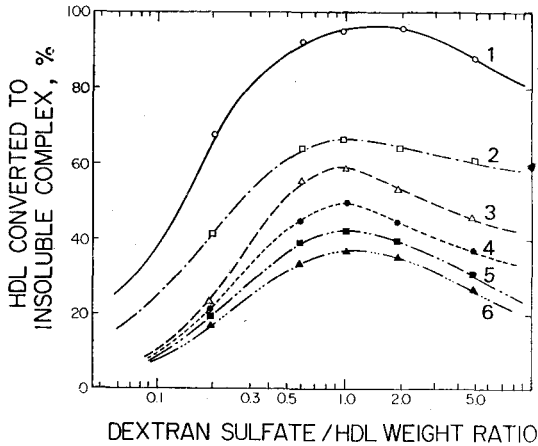


Fig. 5. The conversion of HDL to the insoluble HDL-DS complex in the presence of total saponin fraction of *Panax ginseng* at the concentration of 30mM CaCl_2 . Curve 1 shows the conversion of HDL to the insoluble complex as a function of the DS to HDL weight ratio. Curves 2, 3, 4, 5 and 6 show the conversion of HDL to the insoluble complexes in the presence of 0.16mg, 0.32mg, 0.64mg, 1.28mg and 2.56mg total saponin fraction at the concentration of 30mM CaCl_2 , respectively.

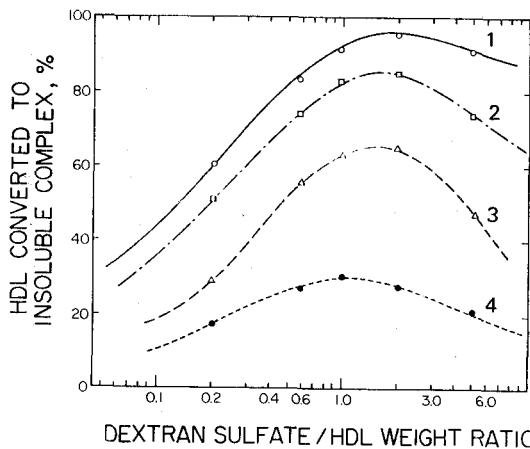


Fig. 6. The conversion of HDL to the insoluble HDL-DS complex in the presence of PPTG of *Panax ginseng* at the concentration of 30mM CaCl_2 . Curve 1 shows the conversion of HDL to the insoluble complex as a function of the DS to HDL weight ratio. Curves 2, 3 and 4 show the conversion of HDL to the insoluble complexes in the presence of 0.16mg, 0.32mg and 0.64mg PPTG, respectively, at the concentration of 30mM CaCl_2 .

을 수 있는 침전 곡선은 각기 Fig. 5, Fig. 6과 같다. 두 경우 모두 saponin의 양을 증가시킬수록 불용성 HDL-DS 화합물 형성을 저해시키는 정도도 큰 것을 알 수 있었다.

HDL의 경우는 LDL의 경우와는 달리 실험에 사용한 모든 인삼 saponin이 불용성 HDL-DS 화합물 형성을 저해시키며 특히 LDL의 경우 PPTG가 가장 효과적으로 불용성 화합물의 형성을 저해시키는데 비하여 HDL의 경우에는 그 반대로 작용하고 있는 것을 알 수 있었다. PPTG가 HDL과 LDL에서 다르게 작용하는 것은 HDL과 LDL의 분자구조, 크기 및 구성성분이 다르기 때문인 것 같다. LDL은 분자량이 대략 2.5×10^6 인 거대분자이며 지질 80%와 단백질 20%로 구성되어 있으며 체내에서 cholesterol과 cholesterol ester의 운반체로 알려져 있다. HDL은 분자량이 대략 3.5×10^5 정도이며 지질 50%와 단백질 50%로 구성되어 있고 지질의 대부분은 인지질로 체내에서 인지질의 운반체로 알려져 있다. 인삼 saponin은 HDL 분자 구조에 크게 변화를 야기시켜 칼슘이온 존재하에서도 불용성 HDL-DS 화합물 형성을 저해시키는 것 같다.

인삼 saponin이 불용성 lecithin-DS 화합물 형성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 lecithin 0.2mg에 동량의 total saponin fraction, PPDG 및 PPTG를 각각 첨가하여 상온에서 30분간 lecithin dispersion을 처리한 다음 DS의 양을 달리하여 0.5mM CaCl_2 농도에서 반응시켰을 때 얻을 수 있는 침전 곡선은 Fig. 7과 같다. total saponin fraction과 PPDG는 DS/lecithin weight ratio 0.01에서 1.0 전구간에서 불용성 lecithin-DS 화합물 형성을 현저히 증가시켰으나 PPTG는 저해시키는 것을 볼 수 있었다. 불용성 lecithin-DS 화합물 형성에 미치는 PPDG의 양에 따른 효과를 보기 위하여 0.1mg에서 0.8mg까지 그 양을 변화시켰다. PPDG는 0.2mg까지는 불용성 화합물의 형성을 증진시키다가 0.32mg 이상에서는 오히려 불용성 화합물의 형성을 저해하며 0.4mg 이상에서는 거의 완전히 불용성 화합물의 형성을 억제하는 것을 Fig. 8에서 볼 수 있다.

이상의 결과로 미루어 보아 인삼의 total saponin fraction과 PPDG는 0.2mg 이하에서는

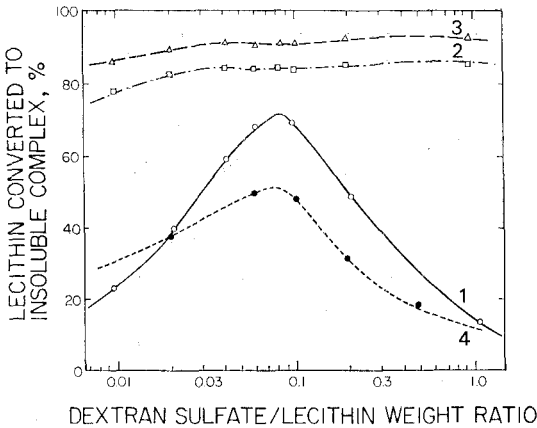


Fig. 7. The effect of total saponin fraction, PPDG and PPTG of *Panax ginseng* on the conversion of lecithin to the insoluble lecithin-DS complex in the presence of 0.5mM CaCl₂ concentration. Curve 1 shows the conversion of lecithin to the insoluble complex as a function of the DS to lecithin weight ratio. Curves 2, 3 and 4 represent the precipitation curve of the lecithin-DS interaction in the presence of total saponin fraction, PPDG and PPTG of *Panax ginseng* at the concentration of 0.5mM CaCl₂, respectively.

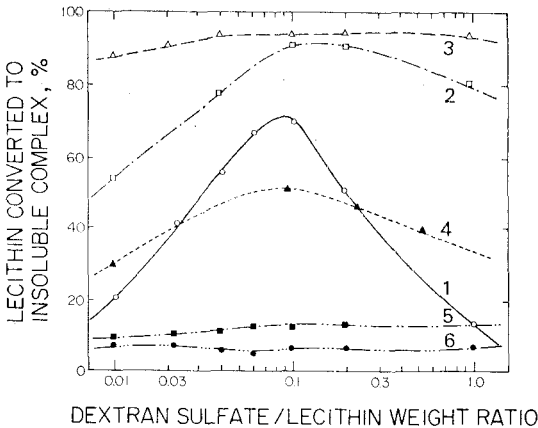


Fig. 8. The conversion of lecithin to insoluble lecithin-DS complex in the presence of PPDG of *Panax ginseng* at a concentration of 0.5 mM CaCl₂. Curve 1 show the conversion of lecithin to the insoluble complex as a function of the DS to lecithin weight ratio. Curves 2, 3, 4, 5 and 6 show the conversion of lecithin to the insoluble complexes in the presence of 0.1mg, 0.2mg, 0.3mg, 0.4mg, and 0.8mg of PPDG, respectively at the concentration of 0.5mM CaCl₂.

lecithin dispersion의 vesicle을 개열하여 반응에 참여할 수 없었던 lecithin분자들까지도 노출시켜 칼슘이온 존재하에서 DS와 반응할 수 있도록 하여 불용성 lecithin-DS화합물 형성을 크게 증가시키는 듯 하다. 그러나 PPDG의 양을 0.32 mg이상으로 증가시켰을 때는 lecithin dispersion의 vesicle의 개열은 물론 lecithin의 bilayer까지도 수 많은 작은 조각들로 갈라놓아 실제로 불용성화합물의 형성을 억제하는 것 같다.

인삼 saponin이 DS와 LDL, HDL 및 lecithin dispersion 사이의 상호작용에 다양하게 영향을 미치므로 이들 사이의 작용 기전을 좀 더 구체적으로 규명하기 위하여서는 여러 다른 배당체의 혼합물인 total saponin fraction이나 PPDG, PPTG를 연구에 이용하기 보다는 이들 계통의 순수한 ginsenoside들을 분리하여 연구를 수행하여야 하겠으므로 이를 진행 중에 있다. 더욱 연구가 수행되어야 하지만 본 연구의 결과로 미루어 볼 때 인삼의 total saponin fraction이나 protopanaxadiol glycosides 보다는 protopanaxatriol glycosides가 동맥조직내의 지질 침착을 효과적으로 억제할 수 있겠다고 하겠다.

결 론

인삼 saponin은 사람의 혈장 lipoproteins 및 lecithin dispersion과 acid mucopolysaccharide 사이의 상호작용에 다양하게 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 특히 인삼의 protopanaxatriol glycosides는 LDL, HDL 및 lecithin과 dextran sulfate 사이의 상호작용에 의하여 형성되는 불용성 화합물의 형성을 현저하게 저하시켰다.

감사의 말씀 : 이 연구에 소요되는 경비의 일부는 서울대학교 약학대학 부설 종합약학연구소의 연구비로 충당되었으며 이에 대하여 감사하는 바이다.

〈1984년 11월 2일 접수 : 12월 5일 수리〉

문 헌

1. Joo, C.N., Lee, H.B. and Kim, D.S.: *Korean*

- Biochem. J.*, 10, 71 (1977).
2. Joo, C.N., Cho, O.Y., Koo, J.H., Kim, C.W. and Lee, S.J.: *Korean Biochem. J.*, 13, 1 (1980).
 3. Joo, C.N., Kim, D.S. and Koo, J.H.: *Korean Biochem. J.*, 13, 51 (1980).
 4. Park, J.W.: *JungAng Euihak*, 17, 41 (1969).
 5. Nam, J.S.: *Daehan Naiguahak Jabgi*, 4, 231 (1961).
 6. Popov, I.M.: *Symposium of Gerontology*, Lugano (1975).
 7. Haust, M.D. and More, R.H.: "The Pathogenesis of Atherosclerosis", Wissler, R.W. and Geer, J.C. ed. page 1, The Williams and Wikins, Baltimore (1972).
 8. Papahadjopoulos, D.: *J. Theor. Biol.*, 43, 329 (1974).
 9. Lee, K.T., Nam, S.C., Florentin, R.A. and Thomas, W.A.: *Med. Clin. N. Amer.*, 58, 281 (1974).
 10. Cornwell, D.G. and Kruger, F.A.: *J. Lipid Res.*, 2, 110 (1961).
 11. Nishida, T.: *J. Lipid Res.*, 9, 627 (1968).
 12. Cogan, U. and Nishida, T.: *Biophys. Acta*, 187, 444 (1969).
 13. Nishida, T. and Cogan, U.: *J. Biol. Chem.*, 245, 4689 (1970).
 14. Kim, Y.C. and Nishida, T.: *J. Biol. Chem.*, 252, 1243 (1977).
 15. Kim, Y.C. and Nishida, T.: *J. Biol. Chem.*, 254, 9621 (1979).
 16. Sanada, S., Kondo, N., Shoji, J., Tanaka, O. and Shibata, S.: *Chem. Pharm. Bull.*, 22, 421 (1974).
 17. Sanada, S., Kondo, N., Shoji, J., Tanaka, O. and Shibata, S.: *Chem. Pharm. Bull.*, 22, 1407 (1974).
 18. Ricketts, C.R.: *Biochem. J.*, 51, 129 (1952).
 19. Janado, M. and Nishida, T.: *J. Lipid Res.*, 6, 331 (1965).
 20. Faure, M.: *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 32, 503 (1950).
 21. Wells, M.A. and Hanahan, D.J.: *Biochemistry*, 8, 414 (1969).
 22. Nakagawa, M. and Nishida, T.: *Biochem. Biophys. Acta*, 296, 577 (1973).
 23. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951).
 24. Rouser, G., Siakotos, A.N. and Heisher, S.: *Lipids*, 1, 85 (1966).
 25. Fisher, L.F. and Figher, M.: "Steroids," page 27 Reinhold, New York (1959).
 26. Brooks, C.J.W.: "Chemistry of Carbon Compound" Coffey, S. ed. page 39, Elsevier, New York (1970).
 27. Akiyama, T., Takagi, S., Sankawa, U., Inari, S. and Saito, H.: *Biochemistry*, 19, 1904 (1980).