

고려인삼 사포닌류의 생합성에 관한 연구

홍석주·이용우·주충노

연세대학교 이과대학 생화학과

(1987년 11월 26일 접수)

Biosynthesis of Saponins in *Panax ginseng*

Seok Joo Hong, Yong Woo Lee and Chung No Joo

Department of Biochemistry, College of Science, Yonsei University, Seoul 120, Korea

(Received November 26, 1987)

Abstract

Biosynthesis of saponins from acetate, mevalonate and squalene using root slices of *Panax ginseng* C.A. Meyer was investigated. The sliced roots (2g) were incubated with the reaction mixture containing 20 mM sodium acetate ($500\mu\text{Ci} [\text{U}-^{14}\text{C}]$ -acetate), 10 mM mevalonate ($25\mu\text{Ci} [2-^{14}\text{C}]$ -mevalonate) or 10 mM squalene ($10\mu\text{Ci} [4, 8, 12, 13, 17, 21-^3\text{H}]$ -squalene) respectively at 30°C for 72 hours. Biosynthesis of labelled ginseng saponins from [$\text{U}-^{14}\text{C}$]-acetate, [$2-^{14}\text{C}$]-mevalonate and [$4, 8, 12, 13, 17, 21-^3\text{H}$]-squalene was confirmed by autoradiography. Analysis of the products from [$\text{U}-^{14}\text{C}$]-acetate by T.L.C. showed that the % radioactivities in panaxadiol, panaxatriol, squalene and mevalonate were found to be 2.1%, 2.7%, 2.6% and 0.2% respectively. Some of the sugars were also highly labelled. Analysis of the products from [$2-^{14}\text{C}$]-mevalonate by T.L.C. showed that squalene was highly labelled and the products from [$4, 8, 12, 13, 17, 21-^3\text{H}$]-squalene showed that panaxadiol, panaxatriol and sterol were highly labelled. From the above results, it was suggested that saponins might be synthesized from acetate via mevalonate-squalene route as expected in ginseng root.

서 론

고려인삼 (*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 오감피나무과 (Araliaceae)에 속하는 다년생식물로 Garrique가 북미산 인삼 뿌리 (*Panax quinquefolium* L.)에서 saponin 성분을 추출한 이후 인삼 성분에 관한 화학적, 생리적, 약리적 연구가 진행되어 왔으며 본 실험실에서도 인삼의 유효 성분의 하나로 주목된 saponin류가 직접 농도에서 여러가지 효소의 활성을 비특이적으로 촉진함을 보고한 바 있다¹⁻²⁾.

식물체 내에 배당체로 존재하는 saponin류는 가수분해되면 당이 분리되고 genin을 생성한다. 고려인삼의 saponin류는 genin 부분이 dammarane계의 panaxadiol과 panaxatriol이

당과 결합하고 있는 배당체이며 ginsenoside라고 불리우고 있다.

동물체에서는 cholesterol을 비롯하여 steroid계의 화합물들의 생합성 과정이 대부분 밝혀져 있으나 식물체에서 saponin류의 생합성 과정은 깊이 연구되어 있지 않으며 인삼에서의 saponin류의 합성 과정이 동물계에서의 sterol 합성 과정과 유사할 것으로 예측되고 있을 뿐 분명하게 밝혀진 바는 없다.

Nicholas³⁾는 *Salvia officinalis*의 잎, 줄기, 꽃에서 [2^{-14}C]-acetate로부터 sterol과 oleanolic acid, ursolic acid 같은 triterpenoid 합성됨을 보고하였다. Kasprzyk⁴⁾ 등은 *Calendula officinalis*의 각 부위에서 방사능으로 표지된 acetate로부터 oleanolic acid 배당체가 합성됨을 보고하였다.

Capstack⁵⁾ 등은 벌아 시의 완두에서 방사능으로 표지된 mevalonate로부터 squalene과 β -amyrin이 합성되고, β -amyrin의 양이 증가함에 따라서 squalene의 양이 감소함을 보고하였으며, Knapp과 Nicholas⁶⁾는 바나나 껌질에 [2^{-14}C]-mevalonate를 주입하고 반응시간에 따른 방사능 분포를 조사한 결과 8시간 후에 cycloartenol과 24-methylene steroid류에서 방사능이 회수되었음을 보고하였다.

한편 Benveniste⁷⁾, Rees⁸⁾ 등은 담배와 콩 잎에 방사능으로 표지된 acetate와 mevalonate를 각각 주입한 결과 두 경우 모두 cycloartenol에서는 방사능이 회수되었으나 lanosterol에서는 방사능이 회수되지 않았다고 보고함으로써 동물체와 달리 식물체에서 phytosterol 생합성 과정의 첫번째 고리형 선구물질은 cycloartenol이라고 주장하였다.

주⁹⁾ 등은 인삼 saponin류의 합성 부위를 알고자 [U^{-14}C]-acetate를 줄기에 주입하여 잎, 줄기, 뿌리에서의 분포를 확인한 결과 인삼 saponin류는 뿌리에서 당, ATP, NADPH 등을 잎으로부터 공급받아 합성된다고 보고하였다. 김과 Staba¹³⁾ 등은 북미산 인삼에서 [U^{-14}C]-acetate로부터 sapogenin이 합성됨을 보고한 바 있다.

본 연구에서는 인삼 saponin류의 주요 합성 부위로 알려진 인삼 뿌리를 사용하여 [U^{-14}C]-acetate, [2^{-14}C]-mevalonate 또는 [$4, 8, 12, 13, 17, 21^{-3}\text{H}$]-squalene으로부터 각각 방사성 인삼 saponin류가 합성됨을 확인함으로써 예측했던 acetate \rightarrow mevalonate \rightarrow squalene \rightarrow sapogenin \rightarrow saponin 경로가 존재함을 제시하였다.

실험재료 및 방법

1. 시 약

NAD⁺, NADPH, coenzyme A, sodium acetate, DL-mevalonic acid lactone, squalene은 Sigma사 제품, ATP, silica Gel 60 F₂₅₄, glutathione, nicotinamide는 Merck사 제품, PPO와 POPOP은 Fisher Scientific Co. 제품, [U^{-14}C]-acetic acid sodium salt, RS-[2^{-14}C]-mevalonic acid DBED salt, [$4, 8, 12, 13, 17, 21^{-3}\text{H}$]-squalene은 New England Nuclear사 제품을 구입하여 사용하였고 인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer, 금산산, 4년생), 인삼 saponin 혼합물, ginsenoside Rb₁, -Rb₂, -Re, -Rg₁, panaxadiol, panaxatriol 등은 한국인삼 연구소에서 분양받아 사용하였다. 그밖의 시약은 시중에서 구입한 특급품을 사용하였다.

2. 실험방법

1) 방사성 인삼 saponin의 제조^{9~12)}

4년생 인삼 뿌리의 질량 2g을 3.3 ml의 반응 혼합물 [0.6 M phosphate buffer(pH 6.8),

8 mM NAD⁺ (0.25 M nicotinamide에 용해), 40 mM MgCl₂, 40 mM MnCl₂, 1.25 M sucrose, 50 mM ATP, 3 mM NADPH, 5 mM coenzyme A, 0.1 M glutathione (reduced form), 20 mM sodium acetate (500 μ Ci [U -¹⁴C]-acetate 함유), 또는 10 mM mevalonate (25 mCi [2 -¹⁴C]-mevalonate 함유), 또는 10 mM squalene (10 μ Ci [4, 8, 12, 13, 17, 21-³H]-squalene 함유]에 넣고 30°C에서 72시간 혼들어 주면서 반응시킨 다음 물을 가하고 균질화 한 후 12,000×g에서 20분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 불용성 부분에서 더 이상 방사능이 회수되지 않을 때까지 소량의 물과 methanol로 반복 추출하고 그 추출액을 처음의 상층액과 합한 후에 감압 농축하였다.

2) 방사성 인삼 saponin의 정제 및 확인

감압 농축한 시료에 인삼 saponin 혼합물 20 mg을 가하고 10 ml의 methanol에 녹인 후 일정량을 취하여 Thin Layer Chromatography (T. L. C.) 방법으로 분리하였다. 전개용매는 CHCl₃ : MeOH : H₂O (65 : 40 : 9, v/v/v)를 사용하였고 황산 또는 요오드 증기로 확인하여 표준 saponin과 일치하는 부분 (saponin 부분)을 긁어내어 methanol로 추출한 후 회수된 방사능 값을 조사하였다. 한편 squalene을 포함하는 부분 (지방질 부분)과 mevalonate를 포함하는 부분 (당 부분)도 긁어내어 각각 chloroform과 물로 추출한 후 각 부분에서 회수된 방사능 값을 조사하였다 (Fig. 1). Saponin 분획을 CHCl₃ : MeOH : H₂O (65 : 40 : 9, v/v/v)

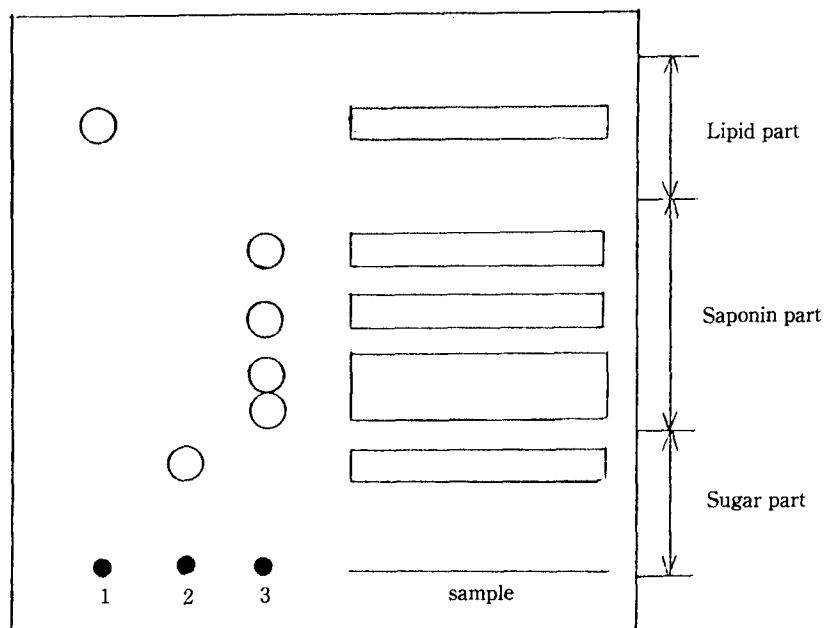


Fig. 1. Thin layer chromatogram of H₂O : MeOH (50 : 50, v/v) extract of *Panax ginseng* C.A. Meyer root slices (2g) incubated with the reaction mixtures containing [U -¹⁴C]-acetate or [2 -¹⁴C]-mevalonate or [4, 8, 12, 13, 21-³H]-squalene, respectively. The chromatography was carried out using CHCl₃ : MeOH : H₂O (65 : 40 : 9, v/v/v).

Rf values:	1. squalene	0.87
	2. mevalonate	0.24
	3. ginseng saponin mixture	0.31, 0.36, 0.41, 0.53

의 전개용매를 이용하여 T. L. C. 법으로 재분리, 정제하고 autoradiography¹⁵⁻¹⁷⁾으로 saponin임을 확인하였다.

3) 인삼 saponin 합성 중간 물질의 분석

인삼 saponin 합성 중간 물질을 규명하기 위하여 2)에서 일은 당 부분과 지방질 부분을 다음과 같이 분석하였다.

당 부분의 물 추출물을 감압 농축하여 표준 당들과 표준 acetate, 표준 mevalonate를 각각 100 μg 씩 가하고 소량의 물에 녹인 후 전개용매¹⁸⁾로 $\text{CHCl}_3 : \text{MeOH} : \text{Acetic Acid}(70 : 30 : 15, \text{v/v/v})$ 를 사용하여 T. L. C. 법으로 분리하였고, 황산 또는 요오드 증기로 확인하여 표준 당들과 일치하는 부분의 방사능 값을 조사하였다. Acetate와 mevalonate가 혼합된 부분을 떼어내고 물로 추출하여 감압 농축한 시료에 표준 acetate와 표준 mevalonate를 각각 100 μg 씩 가하고 소량의 물에 녹인 후 Methyl Acetate : 2.5% Ammonia(95 : 5, v/v)의 전개용매¹⁹⁾를 이용하여 T. L. C. 법으로 3회 전개시켜서 분리하였다. 이를 Methyl Red(0.1% 알코올 용액)로 확인하여 표준 acetate, 표준 mevalonate와 일치하는 부분의 방사능 값을 조사하였다. 표준 당으로는 glucose, fructose, arabinose, xylose, rhamnose, maltose, sucrose를 사용하였다.

지방질 부분의 chloroform 추출물을 감압 농축하여 표준 지방질들을 각각 100 μg 씩 가하고 소량의 chloroform에 녹인 후 Petroleum Ether : Ethyl Ether : Acetic Acid(80 : 20 : 1, v/v/v)와 Ethyl Acetate : Cyclohexane(50 : 50, v/v)의 전개용매¹⁷⁾를 이용하여 T. L. C. 법으로 분리하였고 황산 또는 요오드 증기로 확인하여 표준 지방질들과 일치하는 부분의 방사능 값을 조사하였다. 표준 지방질로는 panaxadiol, panaxatriol, squalene, triglyceride, lecithin, cholesterol, oleic acid를 사용하였다.

4) 방사능 측정

방사능 측정은 liquid scintillation cocktail(PPO 10g, POPOP 0.25g, naphthalene 100 g, dioxane 1,000 ml)과 toluene-based scintillation mixture(PPO 4g, POPOP 0.1g, toluene 1,000 ml)을 사용하여 Packard Tri-Carb 4530 liquid scintillation spectrophotometer에 의해 측정하였다.

실험결과 및 고찰

인삼 뿌리 절편을 효소원으로 사용하여 [$\text{U}-^{14}\text{C}$]-acetate, [$2-\text{H}^{14}\text{C}$]-mevalonate, [4, 8, 12, 13, 17, 21- H^3]-squalene을 각각 포함하는 반응 혼합물을 30°C에서 72시간 반응시켰을 때의 전체 방사능 회수율은 각각 7.8%, 62.6%, 39.8%이었다. [$\text{U}-^{14}\text{C}$]-acetate로부터의 방사능 회수율이 낮은 것은 식물체 내에서 acetate가 여러가지 화합물들의 선구물질로 활발히 대사되는데 기인했다고 추측된다(Table 1).

[$\text{U}-^{14}\text{C}$]-acetate를 포함하는 반응 생성물의 당 부분에서 방사능 회수율(21.2%)이 [$2-\text{H}^{14}\text{C}$]-mevalonate와 [4, 8, 12, 13, 17, 21- H^3]-squalene의 경우(각각 2.7%, 2.85%)보다 훨씬 크게 나타났다는 사실로부터 acetate의 일부가 당으로 전환되었다고 생각된다(Table 1). [4, 8, 12, 13, 17, 21- H^3]-squalene을 포함하는 반응 생성물 중 saponin 분획에서의 방사능 회수율이 적고(2.8%) 지방질 부분에서 방사능 회수율(94.35%)이 크게 나타난 것은 squalene으로부터의 saponin 합성이 조절하에 있음을 시사하는 것으로 생각된다(Table 1, 4).

방사능으로 표지한 acetate, mevalonate, squalene을 각각 포함하는 반응 생성물의

Table 1. Radioactivity distribution in sugar, saponin and lipid fraction of the reaction products of *Panax ginseng* C.A. Meyer root slices incubated with the [^3H]-acetate, [$^2\text{-}^{14}\text{C}$]-mevalonate, and [4, 8, 12, 13, 17, 21- ^3H]-squalane respectively. 2g of root slices was incubated with the reaction mixture (3.3 ml) containing 0.6 M phosphate buffer, pH 6.8, 8mM NAD⁺ (in 0.25 M nicotinamide), 40mM MgCl₂, 40mM MnCl₂, 1.25 M sucrose, 50mM ATP, 3mM NADPH, 5mM coenzyme A, 0.1M glutathione (reduced form) and 20mM sodium acetate (500 μCi [^3H]-acetate) or 10mM mevalonate (25 μCi [$^2\text{-}^{14}\text{C}$]-mevalonate) or 10mM squalene (10 μCi [4, 8, 12, 13, 17, 21- ^3H]-squalene) at 30°C for 72 hours. After incubation the mixture was extracted and fractionated by T.L.C.

Starting material	Radioactivity (DPM)			
	Sugar	Saponin	Lipid	Total
Acetate	18,248,750 (21.2)*	31,638,670 (36.9)	35,942,500 (41.9)	85,829,920 (100)
Mevalonate	923,750 (2.7)	24,703,350 (71.7)	8,818,500 (25.6)	34,445,600 (100)
Squalene	250,311 (2.85)	243,756 (2.8)	8,265,800 (94.35)	8,759,867 (100)

* The figures in brackets are relative percentages assuming that of total radioactivity being 100. The percentages of recovered radioactivity were 7.8%, 62.6% and 39.8% respectively.

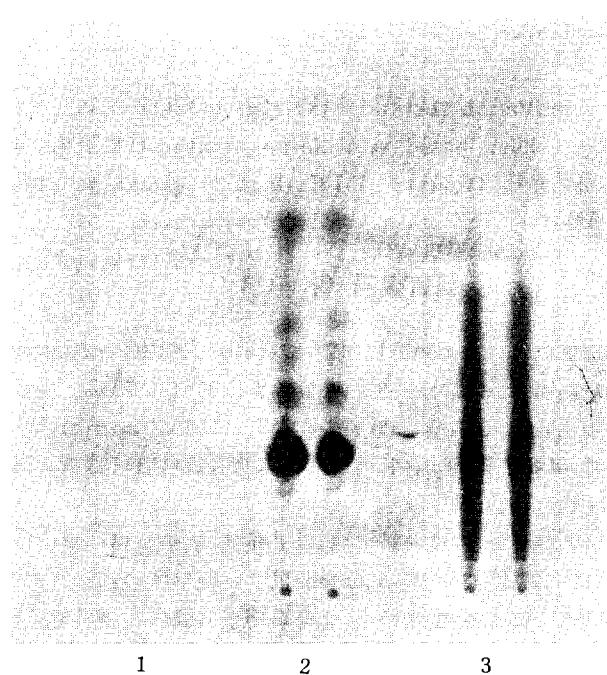


Fig. 2. Autoradiogram of saponin parts of *Panax ginseng* C.A. Meyer root slices incubated with [4, 8, 12, 13, 17, 21- ^3H]-squalene (1) or [$^2\text{-}^{14}\text{C}$]-mevalonate (2) or [^3H]-acetate (3) respectively. T.L.C. (pre-coated T.L.C. plates, Silica Gel 60 F₂₅₄, 20*20 cm) was carried out using CHCl₃: MeOH: H₂O (65: 40: 9, v/v/v) as a developing solvent.

saponin 부분에서의 방사능 회수율은 각각 36.9%, 71.7%, 2.8%로 관찰되었다(Table 1). saponin 분획을 autoradiography로 분석한 결과 [^{14}C]-acetate 또는 [$2\text{-}^{14}\text{C}$]-mevalonate와 함께 배양한 반응 생성물에서는 표준 saponin과 일치되는 부분에서 큰 방사능이 선명하게 관찰되었으며 [$4, 8, 12, 13, 17, 21\text{-}^3\text{H}$]-squalene에서도 탐지되었다(Fig. 2).

Nicholas³⁾는 *Salvia officinalis*의 잎, 줄기, 꽃에서 [$2\text{-}^{14}\text{C}$]-acetate로부터 sterol과 여러 가지 triterpene-류가 합성되었다고 보고하였는데 본 실험의 결과도 식물체 내에서 triterpene-류나 acetate를 선구물질로 하여 합성된다는 사실과 일치하였다.

[^{14}C]-acetate로부터 합성된 생성물의 방사능 분포는 mevalonate와 squalene⁴⁾ 각각 0.2%와 2.6%, 당 부분이 6.7%였다(Table 2). 특히 maltose+sucrose 분획, glucose+fructose 분획에서 방사능이 많이 회수된 사실로 미루어 보아 acetate로부터 당이 합성되는 효소계가 존재함을 시사하고 있다. 지방산 부분에서 다량의 방사능(24.7%)이 회수되었고 panaxadiol, panaxatriol, sterol 분획에서도 각각 2.1%, 2.7%, 2.97% 회수되었다(Table 2).

Table 2. Analysis of lipid and sugar parts of the reaction product of *Panax ginseng* C.A. Meyer root slices incubated with [^{14}C]-acetate

Components	Radioactivity (DPM)	Relative* %
Phospholipid	3,306,710	3.8
Panaxadiol	1,833,068	2.1
Panaxatriol	2,372,209	2.7
Sterol	2,551,917	2.97
Fatty Acid	21,242,017	24.7
Triglyceride	2,048,722	2.4
Squalene	2,228,435	2.6
Maltose + Sucrose	3,540,258	4.1
Glucose + Fructose	1,003,681	1.1
Arabinose + Xylose	583,960	0.68
Rhamnose	729,950	0.85
Acetate	91,243	0.1
Mevalonate	164,239	0.2

* Relative percentages are the values assuming that of total recovered radioactivity from acetate being 100.

[$2\text{-}^{14}\text{C}$]-mevalonate로부터 합성된 지방질 부분의 방사능 분포는 panaxadiol, panaxatriol, squalene, sterol, 지방산에서 각각 0.6%, 3%, 5%, 1.1%, 2.3%로 관찰되었다. squalene의 방사능 분포가 [^{14}C]-acetate로부터 합성한 경우에 비해서 증가한 사실은 saponin 합성 과정에서 mevalonate가 acetate의 다음 단계 물질임을 암시하는 것이다(Table 3). 이는 Capstack⁵⁾ 등이 벌아시의 원두에서 방사능으로 표지된 mevalonate로부터 squalene과 β -amyrin⁶⁾이 합성되었고, β -amyrin의 양이 증가함에 따라서 squalene의 양이 감소했다고 보고한 것과도 일치한다.

[$4, 8, 12, 13, 17, 21\text{-}^3\text{H}$]-squalene으로부터 합성된 지방질 부분의 방사능 분포는 panax-

Table 3. Analysis of lipid and sugar parts of the reaction product of *Panax ginseng* C.A. Meyer root slices incubated with [2-¹⁴C]-mevalonate

Components	Radioactivity (DPM)	Relative* %
Phospholipid	3,465,670	10
Panaxadiol	211,644	0.6
Panaxatriol	1,040,583	3
Sterol	379,195	1.1
Fatty Acid	793,665	2.3
Triglyceride	590,839	1.7
Squalene	1,719,607	5
Maltose + Sucrose	65,586	0.2
Glucose + Fructose	37,873	0.11
Arabinose + Xylose	65,586	0.2
Rhamnose	31,407	0.09
Acetate + Mevalonate	25,865	0.07

* Relative percentages are the values assuming that of total recovered radioactivity from mevalonate being 100.

Table 4. Analysis of lipid and sugar parts of the reaction product of *Panax ginseng* C.A. Meyer root slices incubated with [4, 8, 12, 13, 17, 21-³H]-squalene.

Components	Radioactivity (DPM)	Relative* %
Phospholipid	1,744,083	19.9
Panaxadiol	1,024,959	11.7
Panaxatriol	1,628,362	18.5
Sterol	686,061	7.8
Fatty Acid	438,087	5
Triglyceride	99,189	1.1
Squalene	43,808	0.5
Maltose + Sucrose	11,514	0.13
Glucose + Fructose	10,763	0.12
Arabinose + Xylose	19,023	0.22
Rhamnose	8,510	0.09
Acetate + Mevalonate	43,303	0.49

* Relative percentages are the values assuming that of total recovered radioactivity from squalene being 100.

adiol, panaxatriol, sterol, 지방산에서 각각 11.7%, 18.5%, 7.8%, 5%였으며 [¹⁴C]-acetate 또는 [¹⁴C]-mevalonate로부터 합성한 경우에 비해서 방사능 분포율이 높은 것은 squalene¹³ acetate¹⁴ mevalonate의 다음 단계 물질임을 시사하는 것이다(Table 4).

김과 Staba^{13,14)} 등은 북미산 인삼줄기에 [¹⁴C]-acetate 또는 [³H]-squalene을 주입한 후 생성물을 분석한 결과 방사성 panaxadiol¹³ [¹⁴C]-acetate로부터 합성됨이 확인되었으나, [³H]-squalene으로부터의 panaxadiol의 합성은 확인되지 않았다. 그들은 이러한 실험 결

과가 squalene의 소수성으로 인하여 식물 성취율이 저하된데 (40%) 기인하는 것이라고 생각하였다.

위와 같은 실험 결과는 인삼 뿌리에 acetate → mevalonate → squalene → sapogenin → saponin과 같은 동물계에서와 유사한 saponin 합성계가 존재함을 의미하는 것으로 생각된다. 그러나 인삼 saponin류의 그 이외의 경로도 존재할 수 있으므로 정확한 생합성 경로를 규명하기 위해서는 이에 관련된 중간 물질들의 분리와 효소들에 관한 자세한 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

요 약

고려인삼 (*Panax ginseng* C. A. Meyer) 뿌리의 주요 성분 중의 하나인 saponin류 (ginsenosides)의 생합성 경로를 규명하기 위하여 인삼 뿌리 질편 (2g)을 20 mM sodium acetate (500 μ Ci[U-¹⁴C]-acetate), 10 mM mevalonate (25 μ Ci[2-¹⁴C]-mevalonate), 10 mM squalene (10 μ Ci[4, 8, 12, 13, 17, 21-³H]-squalene)을 각각 포함한 반응액에 가하고 30°C에서 72시간 가온처리하여 얻은 생성물을 분석한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. [U-¹⁴C]-acetate, [2-¹⁴C]-mevalonate, [4, 8, 12, 13, 17, 21-³H]-squalene으로부터 각각 방사성 인삼 saponin이 합성됨을 autoradiography로 확인하였다.

2. [U-¹⁴C]-acetate로부터의 생성물을 T. L. C.로 분리 분석한 결과 panaxadiol, panaxatriol, squalene, mevalonate에서 회수된 방사능이 각각 가해준 총 방사능의 2.1%, 2.7%, 2.6%, 0.2%였으며 당에서도 상당량의 방사능이 탐지되었다.

3. [2-¹⁴C]-mevalonate로부터의 생성물을 T. L. C.로 분리 분석한 결과 squalene에서 많은 방사능이 회수되었고 [4, 8, 12, 13, 17, 21-³H]-squalene으로부터의 생성물을 T. L. C.로 분리 분석한 결과 panaxadiol, panaxatriol, sterol에서 많은 방사능이 회수되었다.

이상과 같은 실험 결과로부터, 인삼 뿌리에서의 saponin류 합성이 acetate로부터 mevalonate, squalene 등의 중간 물질을 거치는 경로가 있음을 확인할 수 있었다.

인용문헌

1. Joo, C.N. and Lee, S.J.: *Kor. Biochem. J.* **10**, 59 (1977).
2. Joo, C.N. and Lee, S.J.: *Kor. Biochem. J.* **6**, 177 (1973).
3. Nicholas, H.J.: *J. Pharm. Sci.* **50**, 623 (1961).
4. Kasprzyk, Z., Wojciechowski, Z. and Janiszowska, W.: *Phytochemistry* **9**, 561 (1970).
5. Capstack, Jr., E. et al.: *Biochem.* **1**, 1178 (1962).
6. Knapp, F.F. and Nicholas, H.J.: *Phytochemistry* **10**, 85 (1971).
7. Benveniste, P., Hirthk, L. and Ourisson, G.: *Phytochemistry* **5**, 45 (1966).
8. Rees, H.H., Goad, L.J. and Goodwin, T.W.: *Tetrahedron Lett.* No. 6, 723 (1968).
9. Joo, C.N., Kwak, H.S., Lee, H.B. and Lee, C.H.: *Kor. J. Ginseng Sci.* Vol. 7, No. 2, 108 (1983).
10. Eberhardt, F.M. and Kates, M.: *Can. J. Botany* **35**, 907 (1957).
11. Kates, M.: *Biochem. Biophys. Acta* **41**, 315 (1960).
12. Sastry, P.S. and Kates, M.: *Biochem.* **3**, 1271 (1964).
13. Kim, J.Y. and Staba, E.J.: *Kor. J. Pharmacog.* **5**, 111 (1974).
14. Kim, J.Y. and Staba, E.J.: *Kor. J. Pharmacog.* **5**, 103 (1974).
15. Mangold, H.K.: in E. Stahl (ed.) *Thin Layer Chromatography* (Springer-Verlag, N.Y.), 155 (1969).
16. Gretchen, H. Stein and Rosalind, Y.: *Methods in Enzymology*, Academic Press, **58**, 279 (1979).

17. Morris, K.: in T.S. and E. Work (ed.) *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 3, 500-579 (1975).
18. Frederick, C.H.: *An Introduction to Chromatography on Impregnated Glass Fiber*, Ann Arbor Science Publishers, Inc., 133-140 (1971).
19. Lynes, A.: *J. Chromatography* 15, 108 (1964).