

선방활명음의 항암 및 항산화효과 검증

안봉전^{*,}, 이진태, 이창언, 손준호, 이인철, 이진영, 박태순, 장민정, 송미애, 지선영¹

대구한의대학교 화장품약리학과, 1 : 대구한의대학교 한의학과

Cytotoxicity and Physiological Activity of SunbangHwalmyung-um

Bong-Jeun An^{*,}, Jin-Tae Lee, Chang-Eon Lee, Jun-Ho Son, In-Cheol Lee, Jin-Young Lee, Tae-Soon Park, Min-Jung Jang, Mi-Ae Song, Seon-Young Jee¹

Dept. of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University,
1 : Dept. of Oriental Medicine, Daegu Haany University

ABSTRACT

Objectives : The purpose of this research was physiological activities and investigate cytotoxicity of Sunbanghwalmyung-um extract.

Methods : Physiological activity and a cytotoxicity were examined through the hot water and ethanol extracts from Sunbanghwalmyung-um and its ingredient.

Results : The electron donating ability(EDA) was 66.9%, 71.3% in 1000 ppm water extract and ethanol extract. Above 90% from 1000 ppm ethanol extract showed a higher activities and it is Rhei Radix et Rhizoma, Lonicerae Flos, Gleditsiae Spina, Glycyrrhizae Radix, Myrrh. SOD-like activity was weak as 12.24%, 16.62% in 700 ppm. In water and ethanol extracts cytotoxicity were against G361, B16F10, MDA, A549, high cytotoxicity over 70%. Rhei Radix et Rhizoma, Gleditsiae Spina, Trichosanthis Radix, Paeoniae Radix Rubra showed high cytotoxicity in water and ethanol extracts.

Conclusions : We observed physiological activities and investigated cytotoxicity of Sunbanghwalmyung-um and its ingredients. The results also demonstrated in food or cosmetic industry.

Key words : Sunbanghwalmyung-um, antioxidant, MTT

#*제1저자, 교신저자 : 안봉전, 경북 경산시 유곡동 290번지 대구한의대학교 화장품약리학과

· Tel : 053-819-1429 · E-mail : anbj@dhu.ac.kr

· 접수 : 2005년 7월 23일 · 수정 : 2005년 9월 8일 · 채택 : 2005년 9월 20일

서 론

仙方活命飲은 1236년경 송대 陳自明의 《婦人良方大全 : 부인양방대전》¹⁾에 기록된 처방으로 허²⁾는 “一切癰疽毒腫 未成者內消 已成者潰 排膿止痛消毒之聖藥也”. 라고 하여 일체 癰疽, 惡瘡, 독종을 치료하는 방제로 癰疽 腫毒 초기에 신체가 實하고 癰疽가 陽症에 속할 때 사용하며, 成腫되지 않은 것은 화농을 방지하고 화농된 것을 破하여 배농하게 한다^{3,4)}. 그리고 속이나 길에 생긴 여러 가지 증을 다 치료하는데 고름을 빼내고 아픈 것을 멎게 하며 독을 푸는 아주 좋은 약이다. 이후 여러 역대서적 등에서 약물의 구성에 약간의 변형은 있었으나, 消腫, 止痛, 解熱, 散瘀, 排膿, 補血, 活血하는 효능으로 癰疽, 즉 염증성 질환, 농양, 종양 등의 치료에 사용되어져 왔다⁵⁻⁶⁾.

仙方活命飲의 처방 약제로는 大黃, 金銀花, 當歸, 皂角刺, 陳皮, 乳香, 貝母, 天花粉, 白芷, 赤芍藥, 甘草, 防風, 沒藥, 穿山甲 로 약제들의 효능은 瀉熱通腸, 涼血解毒, 逐瘀通經의 효능을 가진 大黃, 清熱解毒, 涼散風熱의 효능을 가진 金銀花, 補血和血, 調經止痛, 潤燥滑腸의 효능을 가진 當歸, 消腫排膿, 祛風殺蟲의 효능을 가진 皂角子, 理氣, 調中, 燥濕, 化痰의 효능을 가진 陳皮, 活血止痛, 消腫生肌의 효능을 가진 乳香, 清熱潤肺, 化痰止咳, 散結祛瘀의 효능을 가진 貝母, 降火潤燥, 排膿消腫의 효능을 가진 天花粉, 散風除濕, 通竅止痛, 消腫排膿의 효능을 가진 白芷, 清熱涼血, 散瘀止痛의 효능을 가진 赤芍藥, 和中緩急, 潤肺, 解毒, 調和諸藥의 효능을 가진 甘草, 解表祛風, 勝濕, 止痛의 효능을 가진 防風, 散血祛瘀, 消腫定痛의 효능을 가진 沒藥, 活血通經, 下乳, 消腫排膿의 효능을 가진 穿山甲으로 구성되어 있다⁷⁾.

지금까지 仙方活命飲에 대한 연구로 채⁸⁾는 응저에 응용되는 仙方活命飲의 소염, 항균, 하열작용에 관한 연구를, 최 등⁹⁾의 연구에서는 고행압과 복수압에 대한 세포독성 효과와 면역 증가 효과를, 이 등¹⁰⁾, 장 등¹¹⁾은 항균 효과를, 서¹²⁾는 용매에 따른 마우스의 면역반응에 미치는 효과에 대해 보고한 바 있으나 仙方活命飲의 구성 약물의 항암 및 항산화효과에 대해 보고된 바는 없다.

따라서 본 연구에서는 염증성 질환에 사용되는 선방활명음의 항암·항균 및 항산화 기능을 검증하여 이를 바탕으로 화장품 천연소재로서 활용함에 있어서의 기대효과를 검토하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 추출방법

1) 재료

(1) 약재

본 실험에서 사용한 仙方活命飲은 《東醫寶鑑》¹³⁾에 기록된 내용에 준하였으며, 시료로 사용된 약제는 대구 한의대학교 부속 대구한방병원 약재과에서 구입하여 물로 세척하여 陰乾 후 사용하였다. 시료의 생약명은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Composition of Sunbhanghwalmyeong-um

Herbal name	Scientific name	Weight(g)
大黃	Rhei Radix et Rhizoma	18.75
金銀花	Lonicerae Flos	11.25
當歸	Angelicae gigantis Radix	5.625
皂角子	Gleditsiae Spina	5.625
陳皮	Aurantii nobilis pericarpium	5.625
乳香	Olibanum	3.75
貝母	Fritillariae Rhizoma	3.75
天花粉	Trichosanthis Radix	3.75
白芷	Angelicae Dahuricae Radix	3.75
赤芍藥	Paeoniae Radix Rubra	3.75
甘草	Glycyrrhizae Radix	3.75
防風	Saposhnikoviae Radix	2.625
沒藥	Myrrh	1.875
穿山甲	Manitis Squama	1.125
Total		75

(2) 시료추출

본 실험에 사용된 시료의 추출은 열수의 경우 시료에 1L의 증류수를 가하여 85℃에서 3시간 환류냉각 추출하여 상등액과 침전물을 분리하여 3회 반복 추출하였다. 시료의 에탄올 추출은 시료에 70% 에탄올 1L를 가하여 실온에서 24시간 침지한 후, 상등액과 침전물을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 3회 반복 추출하여 분리된 상등액을 원심분리, 여과, 농축하여 동결건조 후 냉동실에 보관하여 실험의 시료로 사용하였다.

2. 기기 및 시약

본 실험에 사용된 기기는 UV/vis spectrophotometer (Hitachi, Japan), CO₂ Incubator(Hanbaek Scientific Co., Korea), B.O.D Incubator(Hanbaek Co., Korea), Autoclave (Hanbaek Scientific Co., Korea), ELISA reader(Bio Rad, Japan) 등을 사용하여 측정하였으며, 항산화 효과 측정에 사용한 각종 시약으로는 항산화능 검증 실험에 사용된 시약인 1-1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH), pyrogallol등은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 밖의 실험에 사용되는 모든 시약은 특급품을 사용하였다. 암세포 증식에 미치는 영향에 대한 실험의 세포주는 G361(melanoma), B16F10(melanoma), MDA-MB-231(breast cancer), A549(lung cancer)는 Korean Cell Line Bank (KCLB)로부터 구입하였다. 각 세포의 배양은 10% fetal bovine serum(FBS)과 100 unit/ml의 penicillin/streptomycin을 1%를 첨가한 RPMI 1640 배지를 사용하였으며, 37℃, 5% CO₂ incubator에 적응시켜 계대 배양하여 사용하였다.

3. 실험방법

1) 전자공여능(Electron donating abilities: EDA)에 의한 항산화 측정

전자공여능은 Blois¹⁴⁾의 방법을 따라 측정하였다. 각 시료 2 ml에 0.2 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 1 ml 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료첨가구의 흡광도감소율로 나타내었다.

$$\text{전자공여능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

2) Superoxide dismutase (SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성능은 Marklund¹⁵⁾의 방법에 따라 측정하였다. 각 시료용액 0.2 ml에 Tris-HCl 완충용액(50 mM tris + 10 mM EDTA, pH 8.5) 2.6 ml와 7.2 mM pyrogallol 0.2 ml 가하여 25℃에서 10분간 반응시킨 후 1 M HCl 0.1 ml를 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420nm에서 측정하였다. SOD 유사활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감

소율로 나타내었다.

$$\text{SOD 유사활성능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

3) MTT (3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetazolium bromide) assay에 의한 항암효과 측정

추출물의 암세포 주에 대한 세포독성은 Carmichael 등¹⁶⁾의 방법에 따라 MTT assay를 실시하였다. 즉, 암세포주를 96 well plate에 1×10⁴ cells/well이 되게 0.18 ml 분주하고 시료를 농도별로 조제하여 0.02 ml 첨가한 후 37℃, 5% CO₂ incubator에서 48시간 배양하였고, 대조군은 시료와 동량의 증류수를 첨가하여 동일한 조건으로 배양하였다. 여기에 5 mg/ml 농도로 제조한 MTT 용액 0.02 ml를 첨가하여 4시간 배양한 후 배양액을 제거하고 각 well당 DMSO:EtOH(1:1) 150 μl를 가하여 30분간 교반한 뒤 ELISA reader로 550 nm에서 흡광도를 측정하여 암세포주의 세포독성을 측정하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

4) 통계처리

본 연구의 통계처리는 SPSS 10.0 for windows program을 사용하였으며, 유의차 검증은 분산분석(ANOVA: analysis of variance)을 한 후 p=0.05 수준에서 Duncan의 다중 검증법(DMR: Duncan's multiple range test)에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 전자공여능(EDA) 실험 결과

仙方活命飲 및 약제의 열수 및 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 결과 仙方活命飲의 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 농도가 증가할수록 전자공여능은 증가함을 보였다. 仙方活命飲의 열수 추

출물과 에탄올 추출물은 1000 ppm에서 66.9%, 71.3%로 비교적 높은 효과를 나타내었다(Fig. 1). 구성약물의 열수 추출물 1000 ppm에서 대황, 금은화, 몰약, 천상갑에서 60%이상의 효과를 나타내었으며 유향, 천화분, 백지, 방풍의 에탄올 추출물도 60%이상의 전자공여능을 나타내었다. 그 중 대황, 금은화, 조각자, 적작약, 몰약의 에탄올 추출물은 1000 ppm에서 90% 이상의 높은 효과를 보였다. 백지, 방풍을 제외한 약제에서는 에탄올 추출물이 열수 추출물 보다 20~30%이상의 더 높은 전

자공여능을 나타냈으며(Fig. 2-6), 이와 같은 농도에서 열수 추출물보다 에탄올 추출물의 경우 더 높은 전자공여능을 나타내었으며 이러한 결과는 Lee & Han¹⁷⁾의 보고와 일치하였고, 열수 및 에탄올 추출물 모두에서 1000 ppm에서 70%이상의 효과를 나타낸 약제는 조각자 적작약, 천상갑인 것으로 나타났다. 실험결과 선방황명음 및 구성약제의 우수한 소거능을 알수 있었으며, 특히 에탄올 추출물의 항산화 효과가 우수함을 알 수 있었다.

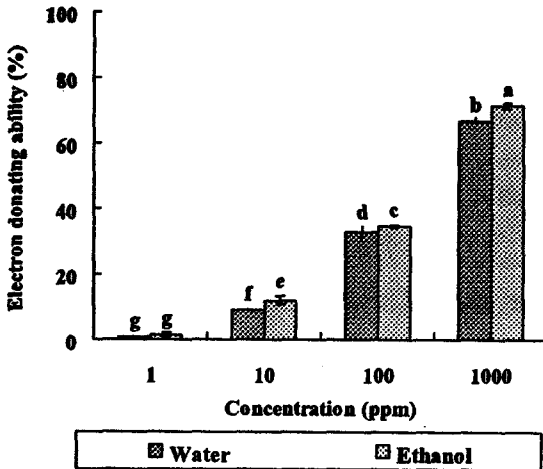


Fig. 1. Electron donating ability of Sunbanghwalmyeong-um. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

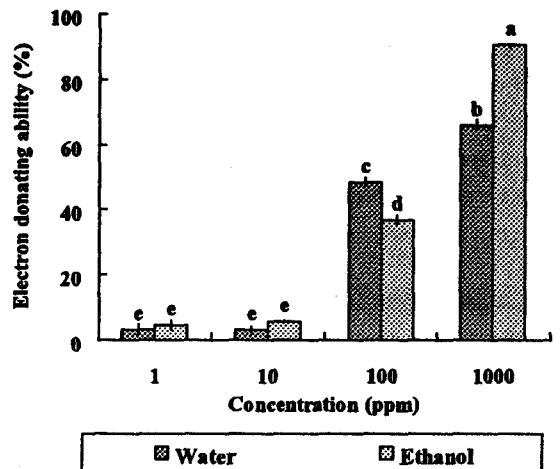


Fig. 3. Electron donating ability of Lonicerae Flos. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

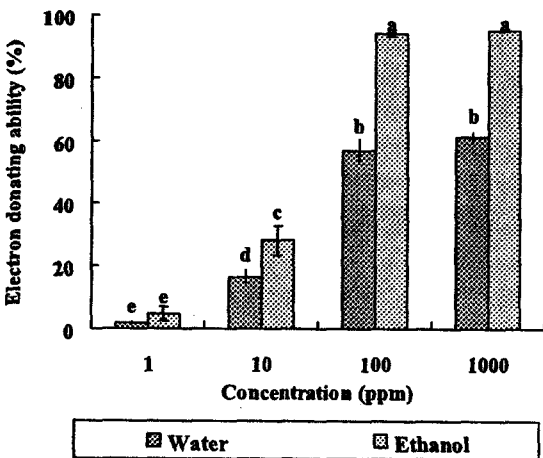


Fig. 2. Electron donating ability of Rhei Radix et Rhizoma. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

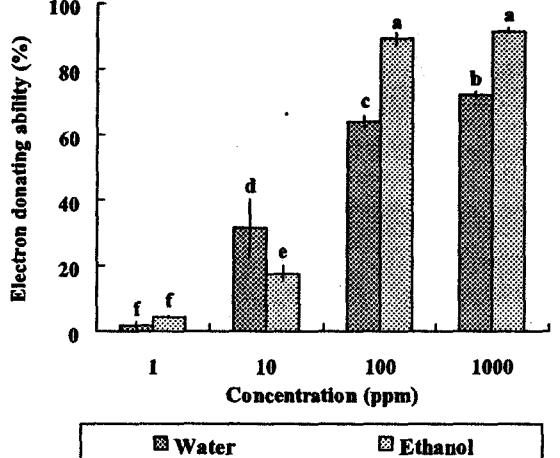


Fig. 4. Electron donating ability of Gleditsiae Spina. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

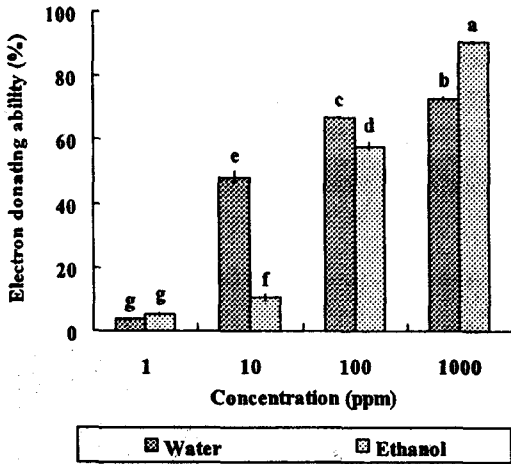


Fig. 5. Electron donating ability of *Paeoniae Radix Rubra*. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

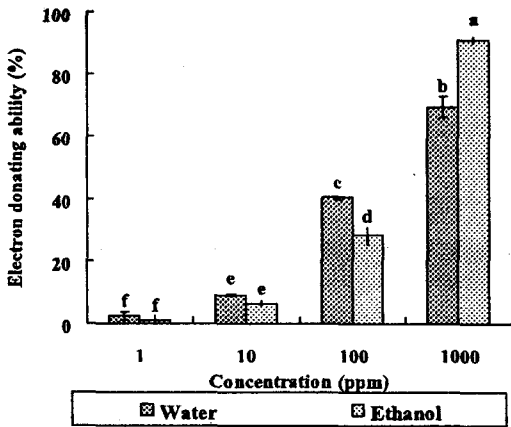


Fig. 6. Electron donating ability of *Myrrh*. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

2. SOD 유사활성.

항산화 효소중의 하나인 superoxide dismutase는 세포에 해로운 산소종(superoxide)을 과산화수소(H_2O_2)로 전환시키는 반응을 촉매하는 효소이다¹⁸⁻¹⁹. SOD에 의해 생성된 H_2O_2 는 peroxidase나 catalase에 의하여 무해한 물분자와 산소분자로 전환된다²⁰⁻²¹.

생체내에서 superoxide radical을 과산화수소로 전환시키는 SOD의 유사능은 낮은 활성을 보였다. 仙方活命飲 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 700 ppm에서 12.24%, 16.62%로 그 활성이 미약하였다(Fig. 7). 구성

약제의 SOD 유사능은 앞서한 전자공여능과 비슷하게 열수추출물보다 에탄올 추출물이 더욱 높은 활성을 나타내었다. 그 중 에탄올 추출한 유향, 당귀, 조각자, 몰약이 각각 91.64%, 47.81%, 39.49%, 39.43% 로 비교적 높은 활성을 나타내었고, 열수 추출물에서는 조각자, 적작약이 각각 40.99% 40.21%의 활성을 보였다(Fig. 8). 이는 Hong 등²²의 과실, 과채류의 착즙의 SOD 유사활성에서 사과착즙액의 경우 14.6%, 케일농축액의 경우 26.7%, 키위착즙액의 경우 27.6%, 무착즙액의 경우 24.1%의 활성에 비하여 비교적 높은 SOD 유사활성을 나타낸 것이다. 仙方活命飲과 구성약제의 SOD 유사활성은 낮은 활성을 보였지만 농도가 증가할수록 유의적인 증가를 나타내었다.

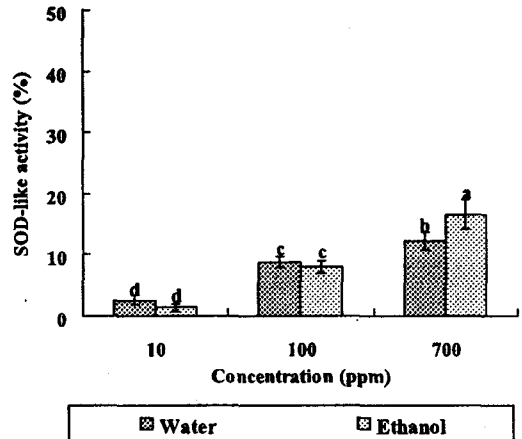


Fig. 7. SOD-like activity of *Sunbanghwalmyeong-um*. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

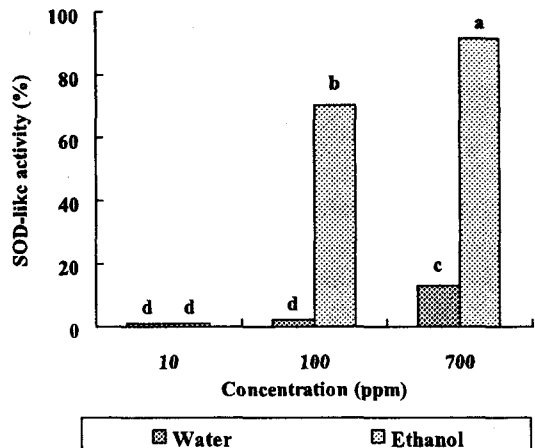


Fig. 8. SOD-like activity of *Olibanum*. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

3. MTT assay에 의한 항암 효과

MTT 검색법으로 각 well의 흡광도를 ELISA reader 로 550 nm에서 항암효과를 측정하였다. 仙方活命飲 및 각 약제들의 항암효과를 측정한 결과, 모든 약제에 대하여 암세포 모두 시료 농도가 증가함에 따라 유의성 있게 높은 효과를 나타내었다. 仙方活命飲 복합처방에 있어서 시료농도 1000 ppm의 경우, A549를 제외한 모든 세포에 대하여 약 70% 이상의 높은 항암효과를 나타내었다. 열수 추출물의 경우 10, 100 ppm에서 특히 G361에 대한 항암효과가 가장 뛰어났으며, 1000 ppm에서는 MDA의 항암효과가 가장 뛰어났다. 에탄올 추출물의 경우 10, 100 ppm에서는 B16F10의 항암효과가 가장 뛰어났고, 1000 ppm에서는 G361, MDA의 항암효과가 가장 우수하였다(Fig. 9).

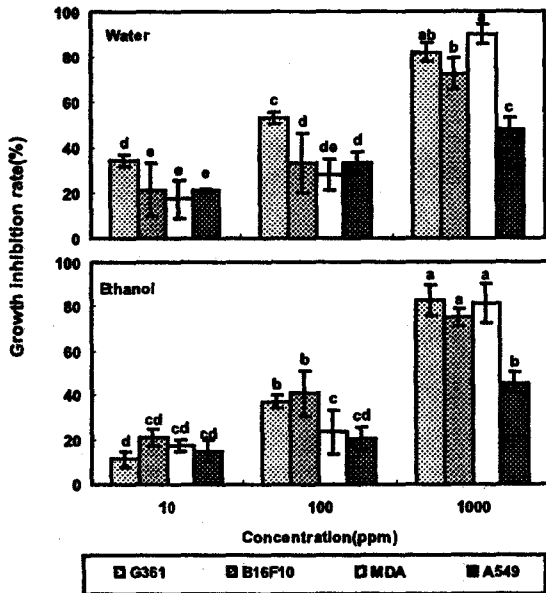


Fig. 9. Growth inhibition rate of Sunbanghwalmyeong against cancer cell. Values are means of 5 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

구성 약제 각각의 항암효과를 관찰한 결과, 열수 추출물의 경우 대황, 조각자, 방풍, 감초가 뛰어난 항암효과를 나타내었으며 에탄올 추출물의 경우 대황, 조각자,

적작약, 몰약, 진피의 항암효과가 뛰어났다. 그중 대황, 조각자는 열수와 에탄올 추출물 모두 높은 항암효과가 나타났으며, 대부분의 약제에서 A549에 대한 항암효과가 낮게 측정 되었지만 대황, 감초의 열수 추출물과, 적작약, 진피의 에탄올 추출물에서는 80%이상의 항암효과가 관찰 되었다.

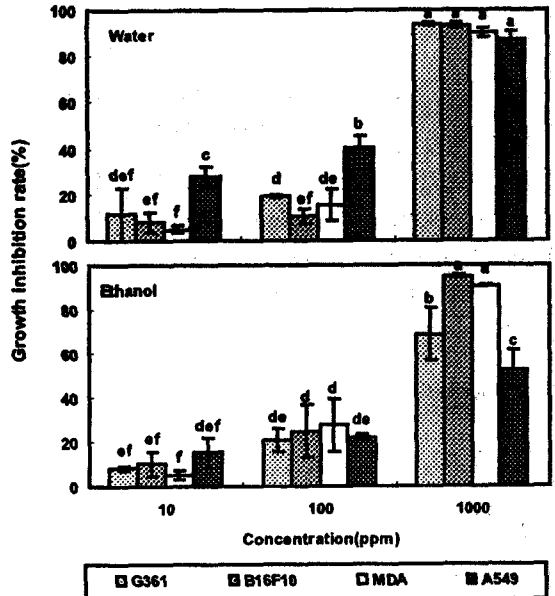


Fig. 10. Growth inhibition rate of *Rhei Radix et Rhizoma* against cancer cell. Values are means of 5 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

약제별로 자세히 살펴보면 대황은 열수 및 에탄올 추출물 모두 항암효과가 나타났으나 열수 추출물에서 더욱 높은 항암효과가 나타났으며, 열수 추출물에서 G361의 항암효과가 뛰어났다. 조각자는 열수 및 에탄올 추출물 모두 A549를 제외한 G361, B16F10, MDA에서 80%이상의 높은 항암효과를 나타내었다. 특히 1000 ppm 에탄올 추출물의 경우 B16F10이 94.20%로 항암효과가 뛰어났다. 진피는 에탄올 추출물 100 ppm에서 A549의 항암효과가 뛰어났다. 적작약은 열수 추출물 1000 ppm에서 MDA의 항암효과가 높게 관찰되었고 에탄올 추출물의 경우 1000 ppm에서 G361, B16F10, MDA, A549의 항암효과가 90%이상으로 전반적으로 높은 효과를 나타내었다.

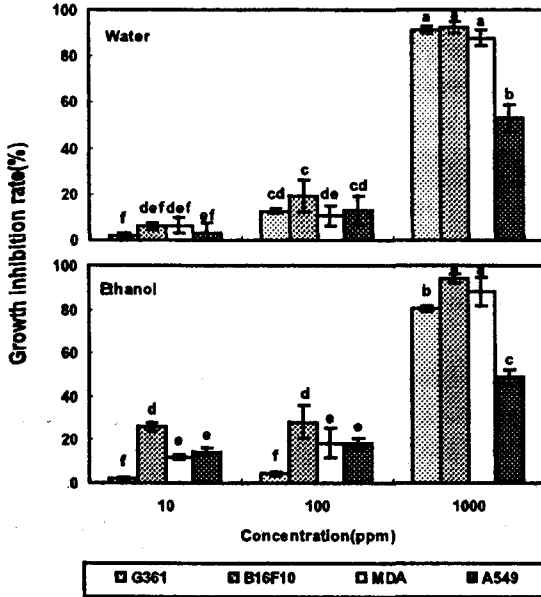


Fig. 11. Growth inhibition rate of *Gleditsiae Spina* against cancer cell. Values are means of 5 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

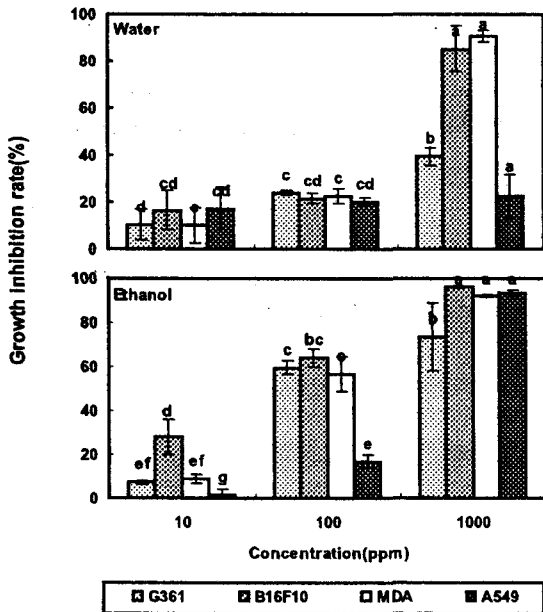


Fig. 12. Growth inhibition rate of *Paeoniae Radix Rubra* against cancer cell. Values are means of 5 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.

감초의 경우 열수 추출물 1000 ppm에서 G361, B16F10, MDA, A549 모두 80% 이상으로 높은 항암효과를 나타내었다. 방풍은 열수 추출물 1000 ppm에서 G361의 효과가 가장 높게 나타났다.

항암효과를 살펴본 결과 仙方活命飲 복합처방에서 G361, B16F10, MDA는 높은 항암효과가 나타났으며 미미하지만 A549에 대한 효과도 나타났으며 구성약재 중에서는 대황, 조각자, 적작약이 높은 항암효과를 나타내었다(Fig. 10-12).

결론

仙方活命飲 및 구성약물의 열수, 에탄올추출물로 항암 및 항산화효과를 검증한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 仙方活命飲 및 약제의 열수 및 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 결과 仙方活命飲의 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 농도가 증가할수록 전자공여능은 증가함을 보였으며, 백지, 방풍을 제외한 약재에서는 에탄올 추출물이 열수 추출물 보다 20~30% 이상의 더 높은 전자공여능을 나타내었다.
2. 仙方活命飲 및 구성약제의 SOD의 유사능은 낮은 활성을 보였으나, DPPH 라디칼 소거 활성과 같이 열수 추출물에 비하여 에탄올 추출물의 SOD 활성효과가 대체로 큰 것으로 나타내었다.
3. 仙方活命飲 및 구성약제의 항암효과 결과로 보아 선방활명음은 농도가 증가함에 따라 높은 세포독성이 있으며, 그 중 대황, 조각자, 천화분, 적작약의 세포독성이 가장 높은 것으로 나타내었다.

이상의 결과로 보아 仙方活命飲 및 구성약제의 DPPH 라디칼 소거 활성능과 A549, G361, B16F10, MDA에 대한 항암효과의 기능을 살펴 화장품 산업에 이용시 천연소재로서의 활용가능성이 높을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 기초과학연구(R12-2003-002-05001-0) 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 陳自明. 婦人良方校注補遺. 上海:上海科學技術出版社. 1991:637
2. 許浚. 東醫寶鑑Ⅲ. 서울:대성문화사. 1999:391, 420.
3. 한의과대학 방제학교수 공편저. 방제학. 정경4판 개정증보판. 서울:영림사. 1999:587
4. 申載鎭. 方藥合編解脫(4). 서울:傳統醫學研究所. 1993:315
5. 李擬. 醫學入門. 서울:翰成社. 1977:457-459, 589-590.
6. 汪劬庵. 醫方集解(3).台北:文光圖書有限公司. 1986:375-6.
7. 전국한의과대학 본초학교수 공편저. 본초학(3). 서울:영림사. 1995:129, 131, 165, 195, 198, 242, 347, 410, 412, 428, 440, 463, 540, 578.
8. 蔡炳允. 癰疽에 응용되는 仙方活命飲의 消炎 鐵痛 下熱작용에 관한 연구. 경희대논문집. 1980:3:67-90.
9. 崔仁和, 蔡炳允. 仙方活命飲의 항암 및 면역반응에 관한 실험적 연구. 경희대논문집. 1992:15:341-359.
10. 이범용, 안덕균, 우은란, 박호근. 仙方活命飲의 항균 효능 및 구성성분에 관한 연구. 한의학회지. 1998:19(1):89-99.
11. 張恩勳, 鄭貴力. 方劑學(中國傳統醫學總書). 北京:科學出版社. 1992:430.
12. 徐毅錫. 仙方活命飲이 마우스의 로켓형성 및 항체생성에 미치는 영향. 원광대학교대학원 석사학위논문. 1984:1-18.
13. 許浚. 東醫寶鑑Ⅲ(3). 서울:대성문화사. 1999:391, 420.
14. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 26. 1958:1198-1202.
15. Stirpe F, Corte ED. The Regulation of rat liver xanthine oxidase. J. Biol. Chem. 1969:244, 3855-3861.
16. Carmichael J, Degraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Michell JB. Evaluation of a thiazolium based semiautomated colorimetric assay. Assissment of chemosensitivity testing. Cancer Res. 1987:47, 936-942.
17. Lee YJ, Han JP. Antioxidative activities and nitric scavenging abilities of extracts from *Ulmus devidiana*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 2000:29:893-899.
18. Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY. Anti-oxidative activity and physiological activity of some korean medical plants. Korean J. Food Sci. Technol. 1995:27, 80-85.
19. Donnelly JK, McLellan KM, Walker JL, Robinson DS. Superoxide dismutase in foods: Rev. Food Chem. 1989:243-270
20. Kim SJ, Han D, Moon KD, Rhee JS. Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. Biosci. Biotech. Biochem. 1995:59, 822-826
21. Bannister JV, Bannister WH, Rotilio G : Aspect of the structure, function and application of superoxide dismutase, Rev. Biochem. 1987:22-111
22. Hong HD, Kang NK, Kim SS. Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. Korean J. Food Sci. Technol. 1998:30, 1484-1487.