

영지의 항산화성 물질에 관한 연구

정 동 옥

일양약품 중앙연구소

Studies on Antioxidative Substances of *Ganoderma lucidum*

Dong-Ok Chung

Il Yang Pharmaceutical Company Research Institute

Abstract

To study antioxidative activities of *Ganoderma lucidum*, its extracts were fractionated by various organic solvents with different polarity the extracts were purified by thin chromatography, silicagel column chromatography and preparative liquid chromatography. In antioxidative activity tests using thiocyanate method, TBA method and weighing method, fraction 5 from the hexane extract and fraction II from the methanol extract showed antioxidative activity. When the antioxidative activities were expressed as TBA value using a homogeneous liver extract of rats, the relative antioxidative activities of fraction 5 and fraction II were increased by 13.0% and 54.6%, respectively.

Key words: *Ganoderma lucidum*, antioxidative activity, TBA value

서 론

영지는 담자균류의 다공균과 *Polyporaceae*에 속하는 버섯으로 학명은 *Ganoderma lucidum*(Fr) Karsten이며 중국 고대약물서인 *신농본초경*과 *본초강목*에 수록된 약으로 *신농본초*의 *상품약*(*신선약*)에 속하며 신비한 지용(신용)이 영묘한 약성을 갖으므로 영지라고 칭하였다⁽¹⁾.

영지에 관한 연구로 *久保 등*⁽²⁾은 고지혈증 개선작용, 고혈압 치료효과를, *上松 등*⁽³⁾은 고혈압, 간기능, 지질 대사에 미치는 영향에 대하여 검토하였고, 영지자실체의 열수 추출물이 당뇨병 치료에 효과가 있을 뿐 아니라 과산화지질 억제작용이 있다고 *木村 등*⁽⁴⁾이 발표하였으며, *Toth 등*⁽⁵⁾은 영지균사체에서 간암세포에만 특이하게 작용하는 성분을 분리하여 구조를 해명하였고, *Kubota 등*⁽⁶⁾은 영지의 고미가 ganoderic acid에 의한 것임을 밝혔다.

합성 항산화제는 대부분 사용 규제를 받고 있으며 현재 phenol계 항산화제인 BHA(Butylated hydroxyanisol)와 BHT(Butylated hydroxytoluene)를 가장 많이 사용하고 있으나 이들도 50 mg/kg/day 이상을 사람이 섭취할 경우 생체효소 및 지방의 변화로 암 등의 질병이 유발된다고 보고되어 있다⁽⁷⁾.

천연 항산화제로는 지금까지 많은 성분이 연구되었으나 토코페롤 이외에는 인체독성이나 양적, 경제적 이유로 실용화되지 못하고 있는 실정으로 인체에 무해한 천연

항산화제에 관한 연구가 질실히 요구되고 있는 실정이다. 지금까지 보고된 천연항산화제의 연구로는 *Fujimoto 등*⁽⁸⁾이 해조추출물로부터 phenol성 물질을 분리하였으며, *Osawa와 Namiki*⁽⁹⁾, *Matsuzaki와 Koiwa*⁽¹⁰⁾는 Eucalyptus의 waxes와 tobacco로부터 항산화물질인 β -diketones를 보고하였고, *Ishikawa 등*⁽¹¹⁾은 미생물의 대사산물로부터 tocopherols의 항산화성에 대한 상승 효과를 주는 물질을, *Inatani 등*⁽¹²⁾은 rosemary로부터 새로운 항산화성 물질인 rosmanol과 그 유도체를 보고하였으며, *Fukuda*⁽¹³⁾은 sesame으로부터 sesamol의 유도체를, *Nakatani와 Kikuzaki*⁽¹⁴⁾은 oregano로부터 새로운 항산화성 물질인 glucoside를 분리하였으며, *광말 등*⁽¹⁵⁾은 herbs와 향신료에서 산화방지 효과를 보고하였다. 생약에 관한 항산화력은 많은 연구자들에 의하여 발표가 되었으며, 그 대부분의 항산화력은 gallate esters, ellagic acid, hydrolysable tannins와 flavonoids와 같은 polyphenol성 화합물에 의한 것으로 보고되어 있다⁽¹⁶⁾. 이 외에도 우리나라에서는 *김 등*⁽¹⁷⁾이 단백질 가수분해물의 항산화작용에 대해서, *최 등*⁽¹⁸⁾은 양조간장에서, *오 등*⁽¹⁹⁾은 칩뿌리에서, *박 등*⁽²⁰⁾은 식용해조류에서, *맹 등*⁽²¹⁾은 더덕의 추출물에서 항산화 물질을 분리하여 보고하였다.

본 연구는 영지에 함유된 항산화성물질에 관한 보고가 거의 없어 항산화성물질을 검색하여 천연항산화제로의 이용 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 영지 *Ganoderma lucidum*(Fr.) Kar-

Corresponding author: Dong-Ok, Chung, Il Yang Pharm. Co. Research Institute, 182-4 Hagal-ri, Kiheung-eup, Youngin-gun, Kyunggi-do 449-900, Korea

sten는 1990년 경기도 강화에서 참나무에서 생육된 적지를 사용하였다.

시료의 추출

건조한 영지 자실체 3 kg을 분쇄한 후 중량비 10배량의 n-hexane으로 6시간씩 3회 반복 추출하여 합한 용액을 40°C에서 감압 농축하여 hexane 추출물로 하였고 n-hexane으로 추출한 후의 영지 잔사를 중량비 10배량의 methanol로 6시간씩 3회 반복 추출한 후 50°C에서 감압 농축하여 methanol 추출물로 하였으며, 그 잔사를 중량비 10배량의 물로 6시간씩 3회 반복 추출하여 80°C에서 감압 농축하여 물 추출물로 하였다.

n-hexane 추출물의 정제

n-hexane 추출물을 TLC(silicagel plate 60F₂₅₄, benzene-ethylacetate=9:1, v/v)한 결과 6개의 main spot 1(Rf=0.91), 2(Rf=0.87), 3(Rf=0.64), 4(Rf=0.49), 5(Rf=0.25), 6(Rf=0.12)을 확인하였다. 이것을 정제하기 위하여 glass column에 benzene-ethylacetate(9:1, v/v)를 전개용매로 하여 silicagel(Wakogel C-100, 40~100 mesh) column chromatography를 행하여 용출량을 5 ml씩 test tube에 분취한 후 동일 전개용매로 TLC에 의해 확인하면서 각 spot를 main spot로 하는 부분을 합하여 이를 각각 농축하고 재 column chromatography를 행한 후 다시 TLC로 확인하면서 각각을 fraction 1(Rf=0.91), 2(Rf=0.87), 3(Rf=0.64), 4(Rf=0.49), 5(Rf=0.25), 6(Rf=0.12)으로 하였다.

Methanol 추출물의 분획

Methanol 추출물은 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 용매 분획하여 각 추출물을 chloroform, ethylacetate, n-butanol의 순으로 separatory funnel에서 3회 반복 추출한 후 각 유기용매층을 감압 농축하여 용매별 추출물을 얻었으며 수층을 80°C에서 감압 농축한 후 무수 methanol에 추가하여 methanol 가용부와 불용물질로 분리하였다.

Methanol 불용물의 정제

Methanol 불용물을 Fig. 2와 같이 preparative LC를 이용하여 compound I, compound II 및 compound III으로 분리하였다. (column: JAIGEL GS-310F, solvent: water, flow rate: 6.0 ml/min, injection vol.: 3.0 ml, conc: 2.0g/20 ml, detector: UV(260 nm) & RI).

Thiocyanate method

Mitsuda 등⁽²²⁾의 방법에 따라 200 µl의 chloroform에 각각의 sample을 녹이고 0.13 ml의 linoleic acid를 함유한 99% ethanol 10 ml를 가하며 여기에 0.2 M phosphate buffer 용액(Na₂HPO₄+KH₂PO₄, pH 7.0) 10 ml를 넣고 증류수로 전체량이 25 ml 되게 한다. 이 시료액을 cap

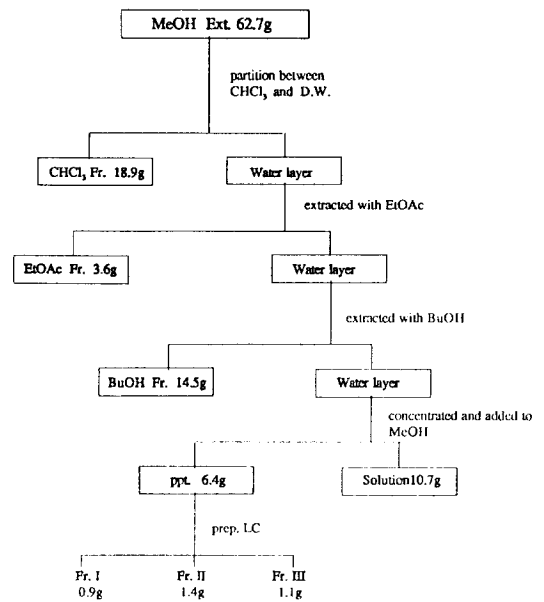


Fig. 1. Extraction procedure of *Ganoderma lucidum* methanol extract

test tube에 넣고 40°C에서 incubation하면서 일정기간의 간격으로 측정하였다. 측정방법은 시료액 200 ml에 75% ethanol 4.7 ml를 넣고 30% ammonium thiocyanate액 0.1 ml에 0.02 M ferrous chloride의 3.5% 염산용액 0.1 ml를 가하여 정확히 3분 후에 500 nm에서 흡광도를 측정하여 과산화물량을 나타내었다.

Weighing method

Olcott 등⁽²³⁾의 방법에 따라 칭량법에 sample을 chloroform용액에 녹여 넣고 N₂ gas로 chloroform을 제거한 후 여기에 linoleic acid 1g을 첨가하여 40°C에서 incubation하면서 무게를 측정하였으며, 무게 측정시에는 칭량 병을 desicator에서 30분간 방치하여 실온까지 냉각시킨 후 측정하였다.

TBA method⁽²⁴⁾

시료액을 thiocyanate method와 같은 방법으로 처리하여 40°C에서 incubation하였으며, 측정방법은 시료액 2 ml를 centrifuge tube에 넣고 35% trichloroacetic acid 1 ml와 0.75% aqueous TBA 2 ml를 가하여 혼합한 후 boiling water bath에 가끔 shaking 하면서 15분간 처리하여 흐르는 물에 냉각시킨 후 70% trichloroacetic acid 2 ml를 가한 다음 최소한 20분 후 2,500~3,000 rpm에서 15분간 원심분리하고, 그 상정액을 532 nm에서 측정하여 TBA 값을 나타내었다.

각 균질액에서의 TBA치 측정

Total liver homogenate의 조제는 Male Spraw-Dawly

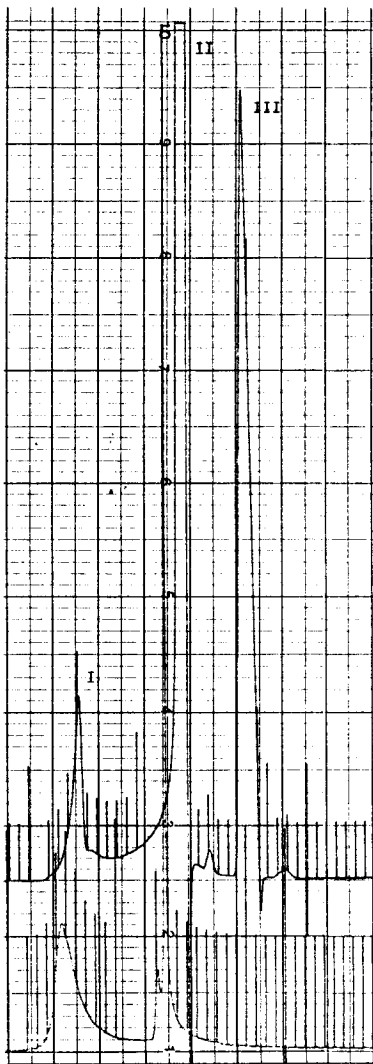


Fig. 2. Liquid chromatograms in the methanol insoluble precipitate of *Ganoderma lucidum* methanol extract
 column: JAIGEL GS-310F, solvent: water, flow rate: 6.0 ml/min, injection vol: 3.0 ml, conc: 2.0g/20 ml, detector: UV(260 nm) & RI

(200~250g) rat를 경추탈골로 치사시킨 후 신속히 liver를 적출하여 cold-KCl(150 mM) phosphate buffer(10 M)로 10% total liver homogenates를 조제하였다.

시료액 조제(지질 산화의 유발)는 *In vitro*에서 지질 산화를 유발시키기 위하여 10% total liver homogenates 0.6 ml, 150 mM KCl 0.2 ml, 영지 추출물 0.2 mg, 0.5 mM ascorbate 0.2 ml, 10 mM phosphate buffer(pH 7.4) 적량, FeSO₄ 20 μ를 각각 사용하여 조제하였다.

이상을 잘 혼합하여 전체량이 2 ml 되게한 후 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 한편 대조군은 phosphate buffer 용액을 추출물과 같은 양으로 넣었다.

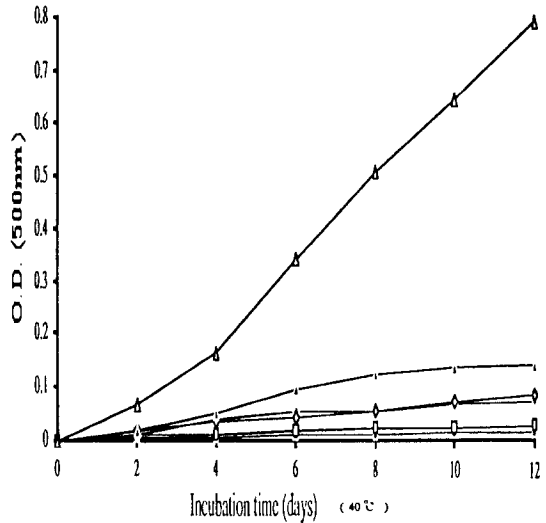


Fig. 3. Antioxidative activity of *Ganoderma lucidum* extract by thiocyanate method

■-■; BHT(200 ppm), □-□; Sesamol(200 ppm), ◆-◆; MeOH Ex.(4000 ppm), ◇-◇; n-Hexane Ex.(4000 ppm) ▲-▲; Water Ex.(4000 ppm), △-△; Control

TBA치 측정

Sato 등⁽²⁵⁾의 방법에 따라 반응 시료액 2 ml에 25% trichloacetic acid 2 ml와 0.67% thiobarbituric acid 1 ml를 넣은 후 95°C water bath에서 가끔 shaking하면서 1시간 동안 반응시킨 다음 흐르는 물에 냉각한 후 n-butanol 5 ml를 가하여 격렬히 교반하였다. 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 butanol층을 532 nm에서 O.D.를 측정하여 TBA치를 구하였으며 항산화력의 활성은 Inhibition Ratio(I.R)로 나타냈으며 이는 대조군(영지 추출물 대신 phosphate buffer용액 사용군)을 기준으로 하여 얻은 TBA값과 시료들이 과산화지질의 생성을 억제하여 나타나는 TBA값과의 차이를 대조군과 비교하여 percent inhibition ratio로 나타내었다.

결과 및 고찰

영지 추출물의 항산화 활성

n-hexane, methanol 및 물 추출물의 항산화 활성을 thiocyanate method(Fig. 3)와 weighing method(Fig. 4)에 의하여 항산화 활성을 검정한 결과 n-hexane 추출물과 methanol 추출물에서 BHT, sesamol 보다는 낮았으나 control에 비하여 상당히 강한 활성을 보여주었으며 물 추출물도 control에 비하여 약간 강한 활성을 보여주었으나 n-hexane 추출물이나 methanol 추출물에 비하여는 약한 활성을 나타내었다.

n-hexane 추출물의 항산화 활성

n-hexane 추출물을 benzene-ethylacetate(90 : 10, v/

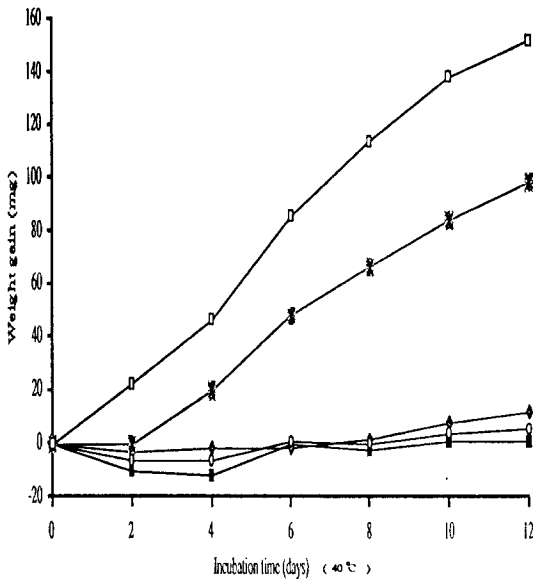


Fig. 4. Antioxidative activity of *Ganoderma lucidum* extract by weighing method
 ■—■; BHT(40 ppm), ◇—◇; Hexane Ex.(3000 ppm), ○—○; MeOH Ex.(3000 ppm), ×—×; Water Ex.(3000 ppm), □—□; Control

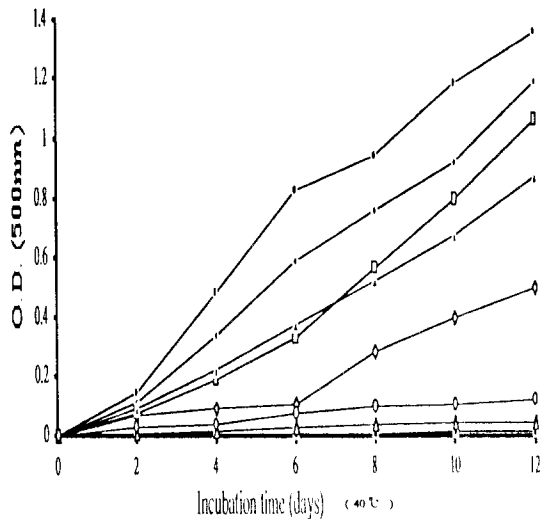


Fig. 5. Antioxidative activity of *Ganoderma lucidum* hexane fraction by thiocyanate method
 ■—■; BHT(200 ppm), □—□; Fraction I(100 ppm), ◆—◆; Fraction II(100 ppm), ◇—◇; Fraction III(100 ppm), ▲—▲; Fraction IV(100 ppm), △—△; Fraction V(100 ppm), ●—●; Fraction VI(100 ppm), ○—○; Control

v)를 용매로 사용하여 silicagel(wakogel C-100, 40~100 mesh) column chromatography를 시행하여 TLC로 확인 후 6개의 fraction으로 나누었다. 각각의 fraction을

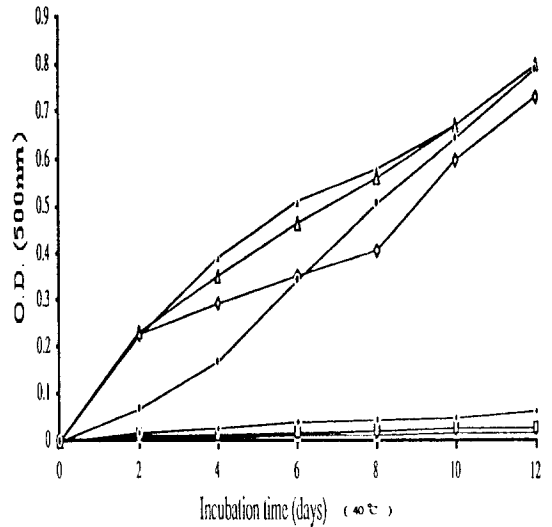


Fig. 6. Antioxidative activity of fraction from *Ganoderma lucidum* methanol extract by thiocyanate method
 ■—■; BHT(200 ppm), □—□; Sesamol(200 ppm), ◆—◆; Water Fr.(4000 ppm), ◇—◇; Chloroform Fr.(4000 ppm), ▲—▲; Ethylacetate Fr.(4000 ppm), △—△; Butanol Fr.(4000 ppm), ●—●; Control

thiocyanate method에 의하여 항산화 활성을 검정한 결과 Fig.5와 같이 fraction V에서 가장 강한 활성을 보여주었다. 이는 항산화 활성을 나타내는 물질이 n-hexane 추출물의 fraction V에 존재함을 알 수 있었다.

Methanol 추출물의 항산화 활성

Methanol 추출물을 용매의 극성에 따라 chloroform, ethylacetate, n-butanol 및 수층으로 분획하여 각 분획에 대하여 thiocyanate method(Fig.6)와 weighing method(Fig.7)에 의하여 항산화성을 검정한 결과 수층에서 가장 강한 항산화력을 나타내었다.

수층의 항산화 활성

Methanol 추출물중 항산화 활성이 가장 강한 수층을 Fig.1과 같이 methanol에 추가할 때 생성되는 불용성 분획과 가용성 분획을 thiocyanate method로 검정한 결과 Fig.8과 같이 methanol 불용성 분획에서 강한 활성이 나타났다. 이러한 결과는 methanol 불용성 분획에 강한 항산화 활성을 나타내는 물질이 존재함을 알 수 있었다.

Methanol 불용성 물질의 항산화 활성

강한 항산화 활성을 나타낸 methanol 불용성 분획을 preparative LC를 사용하여 Fig.2와 같이 3개의 compound로 분리하였으며, 이들을 동결 건조시켜 thiocyanate method(Fig.9)와 TBA method(Fig.10)를 이용하

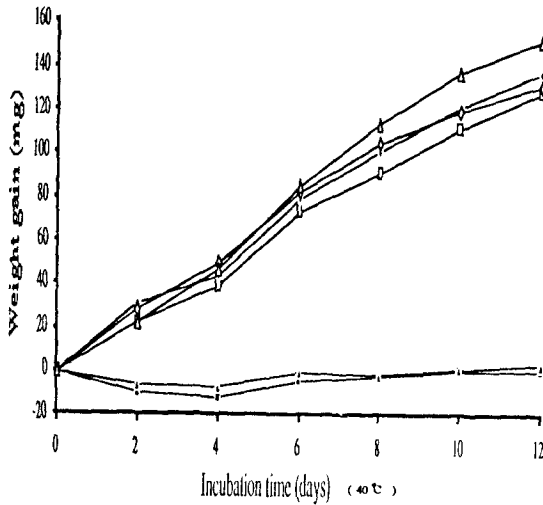


Fig. 7. Antioxidative activity of fraction from *Ganoderma lucidum* methanol extract by weighing method
 ■—■; BHT(40 ppm), □—□; Chloroform Fr.(3000 ppm),
 ◆—◆; Ethyl acetate Fr.(3000 ppm), ◇—◇; Butanol Fr. (3000 ppm), ▲—▲; Water Fr.(3000 ppm), △—△; Control

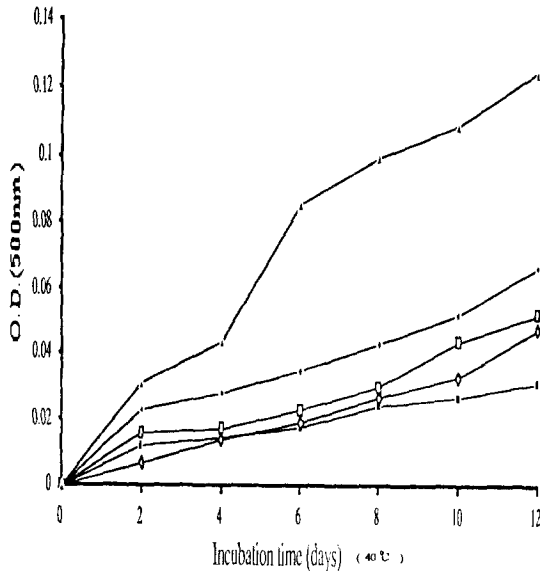


Fig. 8. Antioxidative activity of water fraction from *Ganoderma lucidum* methanol extract by thiocyanate method
 ■—■; BHT(200 ppm), □—□; r-Tocopherol(200 ppm),
 ◆—◆; MeOH sol.(1000 rpm), ◇—◇; MeOH insol.(1000 ppm), ▲—▲; Control

여 항산화 활성을 검정한 결과 compound II에서 강한 활성을 나타내었다.

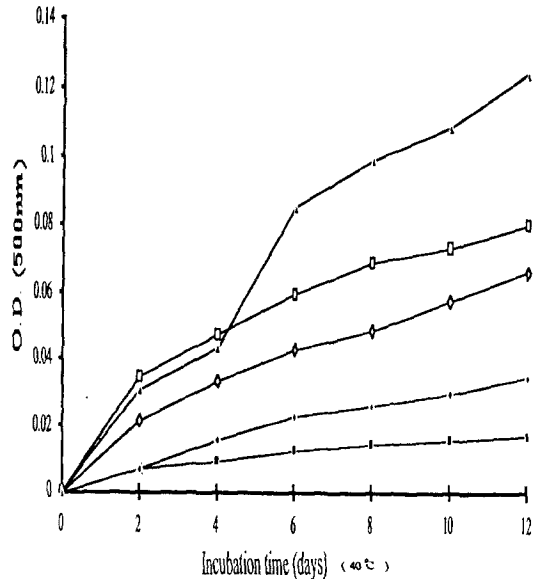


Fig. 9. Antioxidative activity of methanol insoluble precipitate from *Ganoderma lucidum* methanol extract by thiocyanate method
 ■—■; BHT(200 ppm), □—□; Fraction I(200 ppm),
 ◆—◆; Fraction II(200 rpm), ◇—◇; Fraction III(200 ppm), ▲—▲; Control

간 균질액에서의 항산화 활성

항산화 활성이 가장 강한 n-hexane 추출물의 fraction V와 methanol 불용성 물질로부터의 compound II를 Rat의 10% Total 간 균질액에서의 TBA 값을 측정 한 결과 Table 9와 같이 n-hexane fraction 5는 0.435, methanol 불용물의 compound II는 0.229로 각각 13%와 54.6%의 항산화 효과를 나타내었다.

이는 木村 등⁽⁴⁾이 rat의 간 mitochondria에서 과산화 지질 생성 억제율이 영지의 물 추출물은 16%, Acetone 추출물은 23%인 것에 비하여 약간 높았으나, microsome에서 과산화지질 생성 억제율이 물 추출물은 44%, acetone 추출물은 75%인 것에 비하여 다소 낮은 활성을 보여주었다.

간 균질액에서의 TBA치 측정은 직접적인 생체 실험은 아니지만 rat의 간을 적절하여 여기에 지질의 산화를 유발시킨 후 영지 추출액을 첨가하여 rat의 간에서 유발되는 지질의 산화에 미치는 영향을 생체를 통하여 검토한다는 의의 뿐만 아니라, 다른 항산화 활성 측정법에 비하여 보다 시간이 단축되는 이점도 있다.

요 약

영지 추출액의 항산화 활성을 thiocyanate method, TBA method, weighing method를 이용하여 검색한 결과

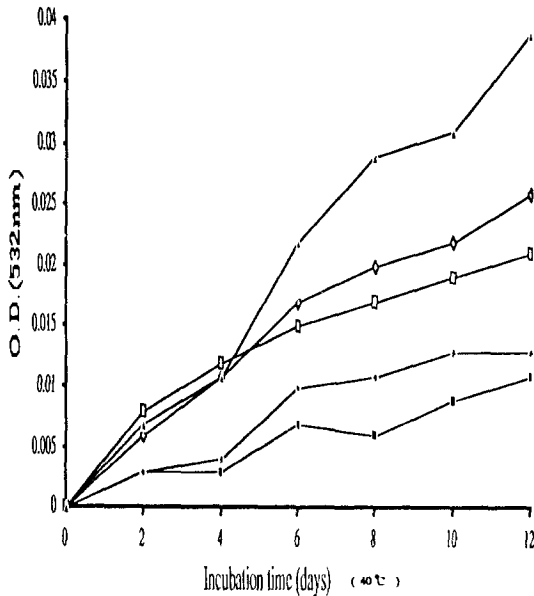


Fig. 10. Antioxidative activity of methanol precipitate from *Ganoderma lucidum* methanol extract by TBA method

■—■; BHT(200 ppm), □—□; Fraction I(200 ppm), ◆—◆; Fraction II(200 ppm), ◇—◇; Fraction III(200 ppm), ▲—▲; Control

Table 1. Effect of *Ganoderma lucidum* extract on lipid peroxidation in rat liver homogenates stimulated by Fe²⁺ and AsA

Extracts	Concentration(mg)	TBA Value	IR(%) ¹⁾
Control	—	0.504 ± 0.114	—
Hexane Fr.5	0.2	0.436 ± 0.137	13.0
MeOH ppt Fr.II	0.2	0.229 ± 0.014	54.6

$$^1) \text{Percent inhibition ratio} = \frac{C_m - T_m}{C_m} \times 100$$

C_m: TBA mean value of control

T_m: TBA mean value of extract

n-hexane 추출물, methanol 추출물에서 항산화활성이 나타났으며 그 중에서 n-hexane 추출물의 fraction V와 methanol 추출물의 methanol 불용성 fraction II에서 강한 활성을 나타내었다. 이들 항산화 활성을 나타내는 fraction 5와 fraction II를 rat의 간 균질액을 이용한 항산화 활성 검색에서 과산화 지질 생성억제물 TBA값으로 나타내어 inhibition ratio(I.R.)를 산출하였으며 그 결과 n-hexane 추출물의 fraction V는 15%, methanol 추출물의 methanol 불용성 fraction II는 54.6%의 억제율을 나타내었다. 이는 rat의 간 mitochondria에서 과산화지질 생성 억제율이 영지의 물 추출물은 16%, acetone 추출물은 23%인 것에 비하여 약간 높았으나, micro-

some에서 과산화지질 생성 억제율이 물 추출물은 44%, acetone 추출물은 75%인 것에 비하여 다소 낮은 활성을 보여주었다.

문 헌

1. 이시진: 본초강목, 고문사(1985)
2. 久保道徳, 松田秀秋, 野上眞理, 有地 滋, 高橋 猛: 靈芝 (*Ganoderma lucidum*)의 研究; 播種性血管内 凝固に對する 作用. 藥學雜誌, 103, 871(1983)
3. 上松瀬勝男, 梶原長雄, 林 恭子, 下垣内秀二, 富金原由, 石河秀夫, 田村力: 靈芝に 關する 研究(第1報) 高血壓症に對する 效果 及び 副作用について. 藥學雜誌, 105, 942(1985)
4. 木村 善行, 奥田 拓道, 有地 滋, 高橋 滋, 高橋 猛: 靈芝 (*Ganoderma lucidum*, 子實體)의 過酸化脂質 形成 抑制作用について. 基礎と臨床, 18, 2071(1984)
5. Jorge O. Toth, Bang Luu, et Guy Ourisson: Triterpenes cytotoxiques de *Ganoderma lucidum*(Polyporaceae). *Tetrahedron Letters*, 24, 1081(1983)
6. Takashi Kubota, Yukihiko Asaka, Iwao Miura and Hideo Mori: Structures of ganoderic acid A and B, Two new lanostane type bitter triterpenes from *Ganoderma lucidum*(Fr. Karst.). *Helv. Chem. Acta*, 65, 611 (1982)
7. 過酸化地質と生體: 日本營養. 食糧學會, 1985
8. Kenshiro Fujimoto, Hiroko Ohmura and Takashi Kaneda: Screening for antioxygenic compounds in marine algae and bromophenols as effective principles in a red algae polysiphonia ulceolate. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 51, 1139(1985)
9. Toshihiko Osawa and Mitsuo Namiki: Natural antioxidants isolated from Eucalyptus leaf waxes. *J. Agric. Food Chem.*, 33, 777(1985)
10. Toshiaki Matsuzaki and Akira Koiwai: Antioxidative β-diketones in stigma lipids of tobacco. *Agric. Biol. Chem.*, 52, 2341(1988)
11. Yukihiko Ishikawa, Kyozyo Morimoto and Takashi Hamasaki: Citrinin as a potent antioxidant compound from *Penicillium* species. 油化學 37, 51(1988)
12. Reiko Inatani, Nobuji Nakatani and Hidetsugu Fuwa: Antioxidative effect of the constituents of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and their derivatives. *Agric. Biol. Chem.*, 47, 521(1983)
13. Yasuko Fukuda, Toshihiko Osawa, Mitsuo Namiki and Tatsuhiko Ozaki: Studies on antioxidative substances in sesame seed. *Agric. Biol. Chem.*, 49, 301(1985)
14. Nobuji Nakatani and Hiroe Kikuzaki: A new antioxidative glucoside isolated from oregano(*Origanum vulgare* L.). *Agric. Biol. Chem.*, 51, 2727(1987)
15. 廣末トシ子, 松澤睦子, 入江逸子, 川井英雄, 細貝祐太郎: ハーブおよび 香辛料の 酸化防止效果. 日食工誌, 35, 630(1988)
16. 戸田靜男, 木村通郎, 大西基代, 中嶋恭三: 天然 抗酸化劑の 研究: 五味子の 抗酸化成分の 檢索. 生藥學雜誌, 42, 156(1988)
17. 김선봉, 엄동민, 여생규, 지정일, 이용우, 박영호: 효소에 의한 단백질 가수분해물의 항산화 작용. 한국식품과학회지, 21, 492(1989)

18. 최홍식, 이정수, 문갑순, 박진영 : 지방산의 산화에 대한 양조간장의 항산화 특성. 한국식품과학회지, 22, 332 (1990)
19. 오만진, 이기순, 손화영, 김성렬 : 칩 뿌리의 항산화 성분. 한국식품과학회지, 22, 793(1990)
20. 박재한, 강규찬, 백상봉, 이운형, 이규순 : 식용 해조류에서 항산화물질의 분리. 한국식품과학회지, 23, 256 (1991)
21. 맹영선, 박혜경 : 더덕 에탄올추출물의 항산화 효과. 한국식품과학회지, 23, 311(1991)
22. 満田久輝, 安本教傳, 岩見公和 : リノール酸の自動酸化に對するインドル化合物の抗酸化作用. 營養と食糧, 19, 210(1966)
23. H.S. Olcott and E. Einset: A weighing method for measuring the induction period of marine and other oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 35, 161(1958)
24. A. Ottolenghi: Interaction of ascorbic acid and mitochondrial lipids. *Arch. Biochem. Biophys.*, 79, 355(1959)
25. Kimie Imai, Tachio Aimoto, Masaki Sato, Yoshihisa Kato, Ryohei Kimura and Toshiro Murata: Antioxidative effect of protoporphyrin on lipid rat liver subcellular fractions. *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 1104(1988)

(1992년 8월 24일 접수)