

서양종 꿀벌 일벌독에 함유된 putrescine 밸리데이션 및 함량 분석

최흥민 · 김효영 · 김세건 · 한상미*

국립농업과학원 농업생물부 잠사양봉소재과

Validation and Content Analysis of Putrescine in the Venom of Honeybee (*Apis mellifera* L.)

Hong Min Choi, Hyo Young Kim, Se Gun Kim and Sang Mi Han*

Sericulture and Apiculture Division, Department of Agricultural Biology, National Institute of Agricultural Sciences, Wanju 55365, Korea

ABSTRACT: The venom of honeybees (*Apis mellifera* L.) is used to treat many diseases because of its anti-inflammatory and analgesic effects. Bee venom consists of several biologically active molecules and exhibits remarkable anti-cancer effects. However, biological amines, which exhibit diverse functionality such as anti-inflammatory and antibacterial effects, have not been previously reported in bee venom. In this study, we determined the content of putrescine in bee venom by using ultra-performance liquid chromatography. The specificity, accuracy, and precision of the assay were assessed, and the assay validated. The linearity of the putrescine assay was $r \geq 0.99$, indicating a moderate level of putrescine in the bee venom. The limit of detection and limit of quantification were both $0.9 \mu\text{g/mL}$, while the rate of recovery was 96.4%–99.9%. The relative standard deviation (RSD) of the intra-day precision and inter-day precision of the putrescine assay were 0.16%–0.23% and 0.09%–0.36%, respectively, with the $\text{RSD} \leq 5\%$ indicating excellent precision. Thus, the linearity, limit of detection, limit of quantification, and recovery rate of the putrescine assay were satisfactory. The analysis of the bee venom showed that the putrescine content was $3.1 \pm 0.09 \text{ mg/g}$. This study provides fundamental data on putrescine content in bee venom, which will prove useful in further studies of its bioactivity.

Key words: *Apis mellifera* L., bee venom, biological amine, putrescine, validation

초록: 서양종 꿀벌(*Apis mellifera* L.)의 봉독은 예로부터 항염증과 탁월한 진통 효과로 인해 많은 질병 치료에 이용되어 왔다. 이러한 기능성은 멜리틴과 같은 봉독의 다양한 활성물질로부터 기인하며 약리기전에 대한 연구도 활발하다. 그러나 아직까지 봉독 내에 존재하는 생체아민에 대한 연구는 미흡하다. 본 연구에서는 초고성능액체크로마토그래피를 이용하여 봉독 내에 존재하는 생체아민인 putrescine의 존재 여부를 확인하였으며 이에 대한 밸리데이션을 수행하였다. 밸리데이션은 특이성, 정확성 및 정밀도를 평가하고 분석법을 검증하였다. Putrescine 분석의 선형성은 $R \geq 0.99$ 로 높은 선형성을 나타냈으며, 검출한계는 $0.9 \mu\text{g/ml}$, 정량한계는 $2.7 \mu\text{g/ml}$ 였으며, 회수율은 96.4%–99.9%로 나타났다. Intra-day 정밀도와 inter-day 정밀도의 상대표준편차(RSD) 값은 각각 0.16%–0.23%와 0.09%–0.36%였으며, 이는 RSD 값이 5%이하의 우수한 정밀도를 보였다. 따라서 본 분석법은 putrescine 분석에 있어서 선형성, 검출한계, 정량한계 및 회수율을 모두 만족하는 것으로 확인되었다. 또한 봉독 내에 존재하는 putrescine의 함량을 조사해본 결과 $3.1 \pm 0.09 \text{ mg/g}$ 존재하였으며 본 연구를 통해 봉독 내 putrescine 함량에 대한 기본적인 데이터를 제공하며, 이는 다양한 생물 활성에 대한 추가 연구에 유용할 것으로 사료된다.

검색어: 서양종 꿀벌, 봉독, 생체아민, 푸트레신, 밸리데이션

벌목과(Hymenoptera) 곤충은 다른 동물로부터 종족을 보호하기 위한 방어 수단으로 강력한 독을 갖고 있기 때문에 사람의 생명과 안전에도 위협이 되어 인류의 역사와 함께 많은 연구가

이루어져 왔다. 서양종 꿀벌(*Apis mellifera* L.)의 일벌의 독낭에 저장되어 있는 봉독은 펩타이드, 효소, 저분자량을 가진 다양한 물질로 이루어진 복잡한 혼합물로 15일령 이상의 노봉의 독량은 대략 0.3 mg이다(Piek, 1986; De Lima and Brochetto-Braga, 2003). 봉독의 흰쥐 반수치사농도는 $3.0 \pm 0.2 \text{ mg/kg}$ 로 독성이 강하지 않아 질병의 치료에 이용되어 왔다는 기록이

*Corresponding author: sangmih@korea.kr

Received October 7 2020; Revised March 1 2021

Accepted June 11 2021

집트의 벽화에 남아있으며 우리나라에서도 오래전부터 민간요법의 하나로 관절염, 통풍 등의 질환에 봉침요법으로 사용하였다(Piek, 1986; Lee et al., 2003). 최근에는 기존의 화학적 치료약물에 대한 내성 등 부작용에 대한 천연 의약품 소재로서 연구가 활발히 진행되고 있다(Kim, 2013; Kolayli and Keskin, 2020). 봉독은 펩타이드 성분인 멜리틴(melittin)이 주 성분으로 50% 이상을 차지하며 항염증과 항세균, 항바이러스 등의 생리활성을 갖고 있으며 아파민(apamin)은 뇌하수체-부신체계를 자극하여 코티손 분비를 증가하여 항염증 작용을 한다고 알려져 있다(Fennell et al., 1967; Piek, 1986; Wehbe et al., 2019; Han et al., 2020; Proulx et al., 2020). Hyaluronidase와 phospholipase A2 등의 효소류, 그 밖에 6 phospholipids, γ -aminobutyric acid 등이 보고되어 있다(Lee and Bae, 2016; Wehbe et al., 2019). 뱀과 곤충에서 분비되는 독은 일반적으로 저분자의 생체아민(biological amines) 성분이 함유되어 있으며, 꿀벌에서도 지금까지 봉독의 알리지원으로 알려진 histamine과 dopamine, norepinephrine 등이 보고되어 있다(Piek, 1986; Morgan, 2010; Cho et al., 2008). 그러나 봉독에서의 생체아민에 대한 연구는 포유동물에 비하여 미흡한 실정이다. 본 연구에서는 서양꿀벌의 일벌독에서 생체아민 성분인 putrescine을 확인하고 밸리데이션 및 함량평가를 실시하여 봉독 관련 기초자료를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

공시시료 및 시약

본 실험에 사용한 봉독은 국내 양봉농가에서 봉독채집장치를 사용하여 2017년부터 2020년까지 채집한 40점의 봉독(Chungjin Biotech, Korea)을 구입하여 사용하였다. 표준품으로 이용된 putrescine dihydrochloride은 시그마알드리치(Sigma-Aldrich, USA) 제품을 사용하였다. 봉독 20 mg을 0.1 N 염산(Sigma-Aldrich, USA)에 녹여 사용하였으며, 표준품인 putrescine dihydrochloride은 1 mg/mL 농도로 0.1 N 염산에 녹인 후 필요한 농도로 희석하여 사용하였다. 시험에 사용한 아세토나이트릴(MeCN, Merck, Germany)과 물(Honeywell Burdick & Jackson, Korea) 등 모든 분석용매는 HPLC 등급으로 사용하였다.

유도체화 용액제조

유도체화 용액은 750 mg dansyl chloride (Sigma-Aldrich, USA)를 100 mL 아세톤(Merck, Germany)에 녹이고, 8 g sodium

bicarbonate (Sigma-Aldrich, USA)를 100 mL 물에 녹여 포화상태의 sodium bicarbonate 용액을 제조하였다. 100 mg L-proline (Sigma-Aldrich, USA)을 3차 증류수에 녹여 10% L-proline 용액을 제조하였다.

Putrescine 유도체화

봉독 내 생체아민 분석은 dansyl chloride를 이용하여 유도체화한 후 진행하였다(De Figueiredo et al., 2015; He et al., 2015). 봉독 시료와 putrescine 표준품 용액 100 μ L를 1.5 mL 원심분리용 튜브에 덜어 sodium bicarbonate 용액 200 μ L와 유도체화용액 400 μ L를 혼합하여 60°C 압 조건에서 10분간 반응시켜 유도체화하였다. 유도체화된 용액은 L-proline 용액 100 μ L를 첨가하여 실온에서 30분간 반응시켰다. 해당 용액에 500 μ L diethyl ether (Merck, Germany)를 첨가하여 1분간 혼합 후, 4°C에서 5000 g 속도로 10분간 원심분리하였으며, 상층액 200 μ L를 취하여 질소농축기(Caliper life science Inc, USA)를 이용하여 농축하였다. 검액 조제는 농축된 시료를 아세토나이트릴 1 mL에 녹인 후 0.2 μ m syringe filters (Advantec, Japan)로 여과하여 사용하였다.

분석기기 및 조건

봉독 내 putrescine 밸리데이션과 함량분석에 사용된 UPLC(Ultra Performance Liquid Chromatography) 기기는 PDA(photo diode array)검출기가 장착된 Acquity UPLC I-Class(Waters, USA) 모델을 사용하였으며 Table 1과 같은 조건으로 분석하였다.

분석법 검증

봉독 내 생체아민류 putrescine 분석법 밸리데이션은 식품의약품안전처의 “의약품 등 분석법의 밸리데이션에 대한 가이드라인”에 따라 특이성(specificity), 직선성(linearity), 정확성(accuracy), 정밀성(precision), 검출한계(limit of detection, LOD), 정량한계(limit of quantification, LOQ)를 평가하였다(KFDA, 2015). 특이성은 봉독과 표준품을 각각 유도체화 한 후 UV spectrum 패턴과 머무름 시간을 비교하여 분석하였으며, 직선성 평가를 위한 검량선을 얻기 위해 증류수로 희석하여 각 5개의 농도가 되도록 용액을 만들어 실험을 진행하였다. Linear regression equation ($y=ax+b$ y: peak 면적, x: 시료 농도 a: 직선의 기울기, b: y절편)을 구하였으며 상관계수(R^2)의 값을 통해

Table 1. Chromatographic conditions for the analysis of putrescine in honeybee venom

Item	Condition		
Column	Halo C18 (2.1×100 mm, 2.0 μm)		
Flow rate	0.25 mL/min		
Column temperature	20°C		
Injection volume	2 μL		
UV detection	254 nm		
Mobile phase	Time (min)	MeCN (%)	H ₂ O (%)
	0	50	50
	2.64	62	38
	2.87	62	38
	8	75	25
	9	75	25
	13	100	0

직선성을 확인하였다. R²의 값이 0.999 이상인 경우 지표성분의 함량을 평가하는 검량선으로 사용하였다. 정확성은 봉독 시료에 3개 농도의 표준용액을 첨가하여 ± 10% 범위의 회수율로 평가하였으며, 정밀성은 표준용액의 3개의 농도를 설정하여 일내(intra-day) 및 일간(inter-day) 변화를 측정하여 상대표준편차(relative standard deviation, RSD)를 계산하여 정밀도를 평가하였다. 검출한계와 정량한계는 표준용액의 검량선을 이용하여 y절편의 표준편차와 기울기에 근거하여 계산하였다.

$$LOD = 3.3 \times (\text{standard deviation/slope of calibration curve})$$

$$LOQ = 10 \times (\text{standard deviation/slope of calibration curve})$$

함량 분석

Putrescine의 함량은 linear regression equation을 이용해 계산하였다.

결과

분석조건 확립

봉독 내에 존재하는 생체아민류를 분석하기 위한 용매 조성, 컬럼의 종류, 온도, 파장 등의 분석 조건을 Table 1과 같이 확립하였다. 총 분석 시간은 13분이었으며, 이동상으로는 아세트나이트릴과 물을 사용하고, C18 (2.1×100 mm, 2.0 μm) 컬럼의

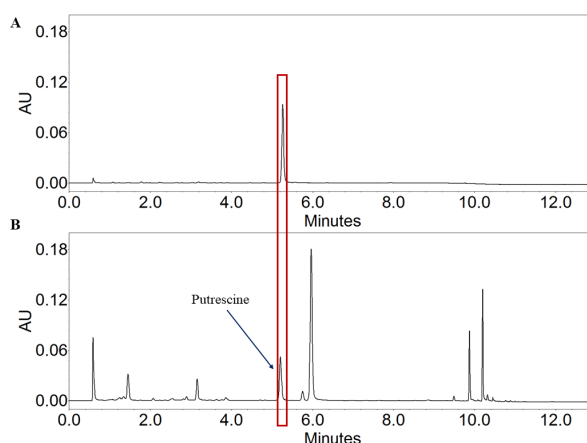


Fig. 1. Chromatogram of (A) putrescine and (B) honeybee venom at 254 nm

온도를 20°C로 설정하였을 때 피크 분리도가 가장 좋았다. 이러한 분석조건에서 putrescine 표준물질은 다른 피크의 간섭 없이 짧은 시간 내에 분리되는 것으로 확인하였다(Fig. 1).

분석법 검증

봉독 내 생체아민류를 분석하기 위한 UPLC 분석법의 타당성을 검증하기 위하여 특이성, 직선성, 정확성, 정밀성, 검출한계, 정량한계 등을 평가하였다. UPLC를 이용해 봉독의 chromatogram을 비교해 화합물의 retention time (RT)을 확인한 결과, putrescine의 피크와 봉독의 putrescine의 피크는 5.209분으로 일치하며 다른 물질의 간섭 없이 성분의 피크가 분리된

것을 일치하였으며 봉독과 Putrescine의 UV 흡수 패턴을 확인함으로써 특이성을 검증 하였다(Fig. 2). 직선성은 봉독 내 표준품의 농도가 포함되는 구간으로 설정하였고 putrescine 농도는 25, 50, 100, 200, 400 µg/mL로 검량선을 그려 직선성을 나타내었다. 검량선의 linear regression equation은 $Y=3063.9x + 4104.2$ 이며, 검량선의 상관계수(R^2)는 0.9999로 높은 직선성을 나타냈었다(Table 2). 직선성을 나타내는 범위 내에서 putres-

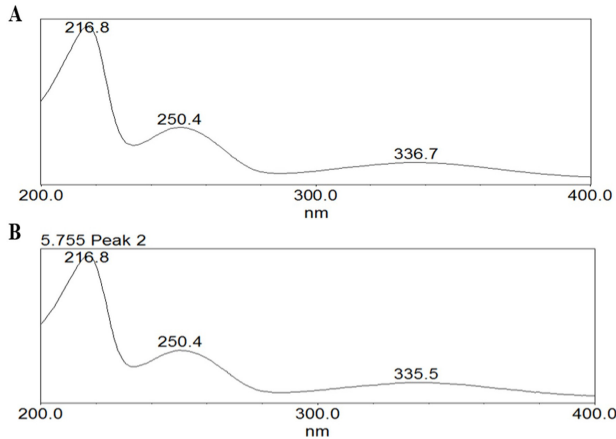


Fig. 2. UV spectrum of (A) putrescine and (B) honeybee venom

cine의 검출한계 값은 0.9 µg/mL, 검량한계 값은 2.7 µg/mL으로 측정되었으며, 이를 통해 정량이 가능함을 확인하였다 (Table 2). 분석 시간의 변동에 따른 분석 시료의 함량 변화를 확인하기 위한 일내 정밀도 측정은 상대 표준편차 값이 0.18 ~ 0.23%였으며, 일간 정밀도는 0.09 ~ 0.36%로 상대 표준편차 값이 5% 이내의 우수한 정밀성을 갖는 것으로 확인되었다(Table 3). 분석조건의 정확성은 봉독 시료에 putrescine을 첨가하여 회수율을 측정하여 평가하였다. 그 결과 Table 4와 같이 높은 회수율을 나타내었다(Table 4). 따라서 Table 1의 분석 조건으로 봉독에서 생체아민류인 putrescine의 정량 분석에 충분한 재현성을 가지고 있음을 의미하였다.

Putrescine 함량 분석

국내 양봉농가에서 채취한 봉독의 putrescine 함량은 $3.1 \pm$

Table 5. Content of putrescine in honeybee venom

Compound	Content (mg/g)	RSD ¹⁾ (%)
Putrescine	3.1 ± 0.09	2.90

¹⁾RSD, Relative standard deviation

Table 2. Linear regression equation, LOD¹⁾, and LOQ²⁾ of putrescine

Compound	Calibration equation ($y=Ax+B$)			LOD ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)
	Slope (A)	Intercept (B)	Correlation coefficient (R^2)		
Putrescine	3063.9	4104.2	0.9999	0.9	2.7

¹⁾LOD, Limit of detection

²⁾LOQ, Limit of quantification

Table 3. Precision of the putrescine assay

Compound	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Intra-day ($\mu\text{g/mL}$)		Inter-day ($\mu\text{g/mL}$)	
		Mean \pm SD	RSD ¹⁾ (%)	Mean \pm SD	RSD (%)
Putrescine	50	51.89 ± 0.08	0.16	52.99 ± 0.06	0.12
	100	100.62 ± 0.23	0.23	102.79 ± 0.37	0.36
	200	202.02 ± 0.37	0.18	205.87 ± 0.18	0.09

¹⁾RSD, Relative standard deviation

Table 4. Accuracy of the putrescine assay

Compound	Spiked amount ($\mu\text{g/mL}$)	Measured amount ($\mu\text{g/mL}$)	Recovery (%)	RSD ¹⁾ (%)
Putrescine	50	48.5 ± 0.2	97.1	0.35
	100	96.4 ± 1.6	96.4	1.65
	200	199.8 ± 0.7	99.9	0.37

¹⁾RSD, Relative standard deviation

0.09 mg/g 함유되어 있음을 확인하였다(Table 5).

고찰

국내에는 2종(種)의 꿀벌이 서식하고 있으며 동양종꿀벌 (*Apis cerana*)은 고구려 동명성왕 시대 사육 기록이 남아있으며, 양봉농가에서 대부분 사육하고 있는 서양종꿀벌은 1904년 독일에서 들여온 것으로 알려져 있다. 현재 국내에서 산업적으로 사용되는 봉독은 서양종꿀벌의 일벌 독으로 2005년 본 연구팀에서 꿀벌은 죽이지 않고 봉독만을 채집할 수 있는 봉독채집 장치를 개발함에 따라 다량의 봉독을 채집할 수 있게 되어 가능해졌다. 서양종꿀벌을 사육하는 유럽에서는 기원전부터 질병의 치료와 예방에 봉독을 사용해왔기 때문에 약리 효능과 알러지 유발 성분에 대한 연구도 매우 활발히 이루어져왔다. 국내에서도 봉독은 한의원에서 주사제로 이용될 뿐만 아니라 가축적용 항생제, 화장품과 세정제의 원료 등 다양한 실용화 소재로서 사용되고 있으며 최근 여드름 치료를 위한 의약품 임상시험이 추진되고 있으나(임상 2상), 봉독의 임상 및 독성평가 등을 통해 안전성이 확보되었음에도 불구하고 여전히 봉독은 식용이 불가능한 원료로 되어 있어 다양한 소재로의 개발에 한계를 갖고 있는 실정이다(Han et al., 2010; Han et al., 2012; Han et al., 2013; Han et al., 2015; Han et al., 2016). 본 연구에서는 생리활성을 갖는 기능성 물질 이외에 아직까지 보고된 바 없는 미량의 봉독 성분을 분석하여 산업화를 위한 기초자료로 이용하고자 하였다. 생체아민은 생물체의 세포 내 아미노산의 탈탄산 작용(decarboxylation), 아미노기 전이작용(transamination) 등의 화학적 작용에 의해 생성되는 생리활성을 지닌 저분자량의 유기 질소 화합물을 말한다(Clark and Camargo, 2007; Kim et al., 2011). 생체아민은 생체 내 생리기능을 유지하는데 관여하는 물질로서 세포 증식 및 분화, 핵산기능 조절, 단백질 합성, 두뇌 발달, 신경세포 성장과 조절 등 살아있는 세포에 있어 필수 성분 중의 하나이다(Kalač and Krausová, 2005). 한편 생체아민은 인체 내의 신경 및 혈관계 등을 자극하여 임상병리학적 증상을 유발시킬 수 있으며 체내 대사과정에서 휘발성 N-nitrosamine과 같은 강력한 발암 물질을 발생시킬 수 있는 잠재성을 지니고 있다(Shalaby, 1996). 지금까지 보고된 봉독 성분 중 생체아민류는 histamine과 dopamine, norepinephrine으로, 각각 약 0.1%, 0.13% 그리고 0.5% 가량 함유 되어 있는 것으로 알려져 있다(Piek, 1986; Kim, 2013). 봉독에서 histamine은 알러지를 유발하는 원인 물질로, dopamine과 norepinephrine은 신경자극에 관여하는 것으로 알려져 있으나 이러한 물질들이 인체에 어떠한 영향을 미치는 지에 대한 연구는 미흡하다. 또한 이들 이외

의 생체아민에 대한 연구는 거의 없는 실정이었다. Putrescine은 cadaverine과 같이 생물체에서 아미노산 분해에 의해 생성되며 악취를 유발하는 생체아민 중의 하나로 세포분열에 필요한 성장인자인 것으로 보고되어 있다. 다량의 putrescine은 독성을 일으킬 수도 있으나 낮은 수준의 독성으로 알려져 있다(Morgan, 2010).

본 연구에서는 지금까지 봉독에서 보고된 바 없는 생체아민 putrescine이 약 0.31% 함유된 것으로 확인하였으며 putrescine 분석법에 대한 조건을 확립하였다. 이러한 연구결과로 봉독에 존재하는 생체아민 putrescine에 대한 역할 및 봉독의 다양한 소재 활용을 위한 기초자료로 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

사사

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린연계농생명혁신기술개발사업(과제번호: PJ01563403)에 의하여 수행되었습니다.

저자 직책 & 역할

최홍민: 국립농업과학원, 전문연구원; 시험설계 및 실험수행
김효영: 국립농업과학원, 전문연구원; 실험수행
김세건: 국립농업과학원, 농업연구사; 자료 분석 검토 및 실험수행
한상미: 국립농업과학원, 농업연구관; 시험설계 및 논문작성

모든 저자는 원고를 읽고 투고에 동의하였음.

Literature Cited

- Cho, Y.J., Son, M.J., Kim, S.M., Park, H.K., Yeo, H.K., Shim, K.B., 2008. Effect of storage conditions on biogenic amine levels in dark-fished fishes. *J. Fish. Mar. Sci. Edu.* 20, 135-145.
- Clark, S., Camargo, C.A., 2007. Epidemiology of anaphylaxis. *Immunol. Allergy Clin North Am.* 27, 145-163
- De Figueiredo, T.C., de Assis, D.C.S., Menezes, L.D.M., da Silva, G.R., Lanza, I.P., Heneine, L.G.D., de Vasconcelos Caçado, S., 2015. HPLC-UV method validation for the identification and quantification of bioactive amines in commercial eggs. *Talanta*, 142, 240-245.
- De Lima, P.R., Brochetto-Braga, M.R., 2003. Hymenoptera venom review focusing on *Apis mellifera*. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.* 9, <https://doi.org/10.1590/S1678-91992003000200002>
- Fennell, J.F., Shipman, W.H., Cole, L.J., 1967. Antibacterial action of a bee venom fraction (melittin) against a penicillin-

- resistant Staphylococcus and other microorganisms. Res. Dev. Tech. Rep. 5, 1-13.
- Han, S.M., Hong, I.P., Woo, S.O., Chun, S.N., Park, K.K., Nicholls, Y.M., Pak, S.C., 2015. The beneficial effects of honeybee venom serum on facial wrinkles in humans. Clin. Interv. Aging. 10, 1587-1592.
- Han, S.M., Kim, S.G., Kim, H.Y., Choi, H.M., Moon, H.J., Woo, S.O., Pak, S.C., 2020. Antiviral assessment of honeybee (*Apis mellifera* L.) venom. Phcog. Mag. 16, 382-385.
- Han, S.M., Lee, K.G., Park, K.K., Pak, S.C., 2013. Skin sensitization study of bee venom (*Apis mellifera* L.) in guinea pigs and rats. Cutan. Ocul. Toxicol. 32, 27-30.
- Han, S.M., Lee, K.G., Yeo, J.H., Oh, B.Y., Kim, B.S., Lee, W., Baek, H.J., Kim, S.T., Hwang, S.J., Pak, S.C., 2010. Effects of honeybee venom supplementation in drinking water on growth performance of broiler chickens. Poult. Sci. 89, 2396-2400.
- Han, S.M., Lee, K.G., Yeo, J.H., Pak, S.C., 2012. Dermal and ocular irritation studies of honeybee (*Apis mellifera* L.) Venom. Am. J. Chinese Med. 40, 795-800.
- Han, S.M., Pak, S.C., Nicholls, Y.M., Macfarlane, N., 2016. Evaluation of anti-acne property of purified bee venom serum in humans. J. Cosmet. Dermatol. 15, 324-329.
- He, X., Li, J., Zhao, W., Liu, R., Zhang, L., Kong, X., 2015. Chemical fingerprint analysis for quality control and identification of Ziyang green tea by HPLC. Food chem. 171, 405-411.
- Kalač, P., Krausová, P., 2005. A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. Food Chem. 90, 219-230.
- KFDA (Ministry of Food and Drug Safety), 2015. Drug etc. test method validation guidelines. Osong.
- Kim, C.M.H., 2013. Apitherapy-Bee venom therapy, in: Grassberger, M., Sherman, R.A., Gileva, O.S., Kim, C.M.H., Muncuolu, K.Y. (Eds.), Biotherapy-History, principles and practice. Springer, Dordrecht, pp. 77-112.
- Kim, M.J., Kim, B.K., Kim, S.M., Park, J.S., Hong, J.K., 2011. Profiling analysis of catecholamines and polyamines in biological samples. J. Anal. Sci. Technol. 24, 319-335.
- Kolayli, S., Keskin, M., 2020. Chapter 7 - Natural bee products and their apitherapeutic applications. Stud. Nat. Prod. Chem. 66, 175-196.
- Lee, G., Bae, H., 2016. Bee venom phospholipase A2: Yesterday's enemy becomes today's friend. Toxins. 8, 48.
- Lee, H.S., Lee, J.D., Koh, H.K., 2003. The review on the study of bee venom in the domestics papers. J. Acupunct. Res. 20, 154-165.
- Morgan, E.D., 2010. Biosynthesis in insects. RSC publishing, Cambridge.
- Piek, T., 1986. Venoms of the Hymenoptera: Biochemical, pharmacological and behavioural aspects. Academic Press, London.
- Proulx, E., Power, S.K., Oliver, D.K., Sargin, D., McLaurin, J., Lambe, E.K., 2020. Apamin improves prefrontal nicotinic impairment in mouse model of Alzheimer's disease. Cereb. Cortex. 30, 563-574.
- Shalaby, A.R., 1996. Significance of biogenic amines to food safety and human health. Food Res. Int. 29, 675-690.
- Wehbe, R., Frangieh, J., Rima, M., Obeid, D.E., Sabatier, J.M., Fajloun, Z., 2019. Bee venom: Overview of main compounds and bioactivities for therapeutic interests. Molecules. 24, 2997.