

# 폴리페놀의 비타민 C 안정성 유지와 피부 침투성 증가에 관한 연구

<sup>1</sup>서울대학교 의과대학 해부학교실 및 중앙면역의과학연구소, <sup>2</sup>숙명여자대학교 자연과학대학 생명과학과

강재승<sup>1</sup> · 조대호<sup>2</sup> · 이왕재<sup>1</sup>

## Enhancement of the Stability and Skin Penetration of Vitamin C by Polyphenol

Jae Seung Kang<sup>1</sup>, Daeho Cho<sup>2</sup> and Wang Jae Lee<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Anatomy and Tumor Immunity, Medical Research Center, Seoul National University College of Medicine, <sup>2</sup>Department of Life Science, Sookmyung Women's University

### ABSTRACT

**Background:** It is necessary for human beings to uptake vitamin C through diet or supplements. It is also well-known that vitamin C plays an important role in the prevention of scurvy, enhancement of collagen synthesis and anti-tumor immune response. In addition, there are several recent reports regarding the effective role of vitamin C on the regulation of allergic responses, such as atopic dermatitis and asthma. However, the effective therapeutic and preventive measures using vitamin C are not established yet, since vitamin C is seriously unstable in aqueous solution. Therefore, we have investigated the best way to maintain the stability of vitamin C. **Methods:** After we making a mixture of polyphenol (0.001, 0.01, 0.1%) and vitamin C (1 mM), the mixtures were placed at room temperature both with/without light protection. And then the concentration of ascorbic acid was measured with HPLC. To analyze the in vivo effect of vitamin C on the regulation of skin allergic reaction, polyphenol (0.1%)-vitamin C (1 mM) mixture was applied to the skin and the production of histamine from mast cell was analyzed by Evans blue dye staining. **Results:** We have found that the polyphenol has preventive power of oxidation of vitamin C. In addition, the production of histamine was suppressed by the polyphenol (0.1%)-vitamin C (1 mM) mixture. **Conclusion:** We have reached the conclusion that our study suggests the research guideline for the therapy of atopic dermatitis through vitamin C. (*Immune Network* 2004;4(4): 250-254)

**Key Words:** Vitamin C, polyphenol, histamine, atopic dermatitis

### 서 론

비타민C는 지방 · 탄수화물 · 단백질 · 무기질과 함께 5대 영양소에 포함되는 인체에 중요한 필수 영양소로 인간의 경우 생체 내에서는 합성하지 못하므로 음식이나 보조제를 통하여 공급되어야만 하는 특성을 지니고 있다(1). 지금까지 알려진 생체 내 비타민C 효능으로는 괴혈병 예방, 피부 collagen의 합성 증가 유도를 통한 상

처치유 (wound healing) 촉진, NK 세포와 세포독성 T 세포의 활성화, 항바이러스작용 및 항종양작용 등이 있다 (2-5). 본 연구진은 항종양작용에 관여하는 비타민C의 효능에 대한 심도 깊은 연구를 수행하여 비타민 C가 종양세포에만 특이적으로 세포내 에너지 생성기관인 미토콘드리아의 기능을 파괴하며 또한 종양세포 내 철분 이온(Fe ion)의 농도를 조절함으로써 항종양효과를 나타낸다는 새로운 사실을 보고한 바 있다(6).

또한 비타민 C를 피부 악성흑색종세포에 처리하였을 때 종양세포로부터 생성되는 인터루킨-18의 생성이 억제됨을 밝힌 바 있는데 이러한 현상은 염증반응이 유도

책임저자 : 이왕재, 서울대학교 의과대학 해부학교실  
☎ 110-799, 서울시 종로구 연건동 28  
Tel: 02-740-8208, Fax: 02-741-8202  
E-mail: Kinglee@snu.ac.kr

된 정상 피부 세포인 각질세포(keratinocyte)에서도 확인한 바 있다(7,8). 앞서 언급한 인터루킨-18의 경우는 피부에서의 염증반응 유발에 있어서 중간 매개인자로 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 따라서 염증반응이 유도된 각질세포로부터의 인터루킨-18생성이 비타민 C에 의해 억제되었다는 사실은 비타민 C를 이용한 알러지성 피부관련 질환의 치료 및 증상완화의 가능성을 제시하여 주는 것이라 하겠다(9).

지금까지 알려진 아토피 피부염과 천식을 비롯한 알러지 반응을 조절에 있어서의 비타민 C의 작용은 혈청 내 immunoglobulin E의 혈청 내 농도를 조절하거나 알러지 반응에 동반되는 가려움증 유발인자인 히스타민의 작용을 억제하는 항히스타민 물질의 분비를 촉진하는 방법을 통하여 항알러지 반응을 유도한다(10,11). 특히 Hoppu 등은 최근의 연구를 통하여 모유 속의 비타민 C가 신생아의 아토피 유발을 감소시킨다는 연구결과를 발표한 바 있다(12). 이처럼 비타민 C가 탁월한 항알러지 효과를 가졌음에도 불구하고 비타민 C를 이용한 효과적인 알러지 치료법과 예방법이 확립되지 못한 이유는 비타민 C의 불안정성 때문이라고 할 수 있다. 즉, 수용액 상태에서의 비타민 C는 대단히 불안정하여 산화된 형태인 DHA (dehydroascorbic acid)로 쉽게 변환되는데 DHA는 기존에 비타민 C가 가지고 있는 특성을 잃어버리게 된다(13). 이러한 비타민 C의 산화과정은 비타민 C가 전자공여자(electron donor)로 작용하여 전자를 쉽게 잃어버린다는 특성에 기인한 것이라 할 수 있다. 그러므로 만약 비타민 C가 보다 더 안정적인 항산화제로 작용할 수 있는 물질과 함께 존재하게 된다면 비타민 C의 안정성을 좀 더 오랫동안 유지시킬 수 있으며 이러한 물질로 표적인 것이 polyphenol이다(14). 따라서, 본 연구에서는 비타민 C를 이용한 효과적인 알러지 치료법과 예방법을 확립하기 위한 선행연구로 polyphenol을 이용하여 비타민 C를 수용액 상태에서 보다 안정화시킬 수 있는 방법에 대해 알아보았다.

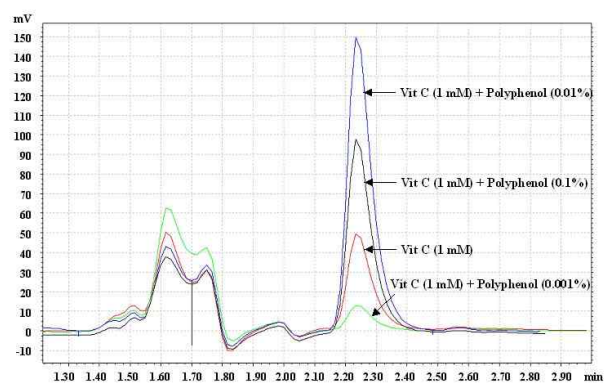
## 재료 및 방법

**비타민 C와 polyphenol과의 혼합.** 비타민 C는 1 mM (196 µg/ml)의 농도로 고정하고 polyphenol의 농도를 0.001, 0.01, 0.1% 가 되도록 혼합한 다음 한 군은 외부로부터의 72시간 동안 빛을 차단하여 주었고 다른 한 군은 14일 동안 빛을 차단하지 않고 방치해 둔 후 HPLC (High Performance Liquid Chromatography)를 이용하여 수용액 속의 산화되지 않은 비타민 C양을 측정하였다.

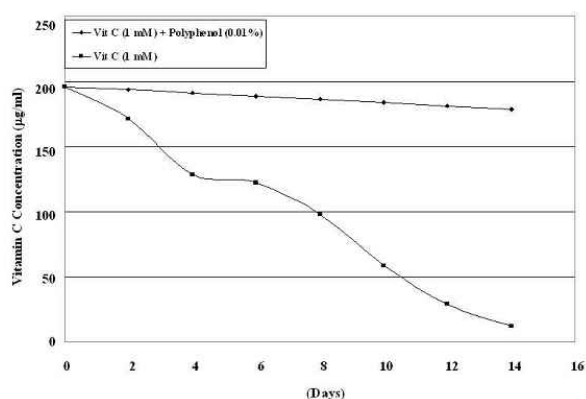
**HPLC를 이용한 비타민 C 측정.** Polyphenol을 첨가에 따른 수용액 상태에서의 비타민 C의 안정성 증가 정도를 알아보기 위하여 수용액 속의 산화되지 않은 비타민 C만을 측정하기 위하여 HPLC (FUTECS; NS-2004 GP)를

실시하였다. 간단히 기술하면, 시료안의 AA (ascorbic acid)의 함유량 측정을 위해 시료를 동량의 10% MPA (metaphosphoric acid)와 섞은 후 ice에서 30분간 반응하였다. 이 후 14,000 rpm에서 5분간 원심분리하여, 상층액을 증류수(J.T. Baker; HPLC grade)로 1 : 1 희석하여 준비하였다. 각각 동량(20 µl)의 시료를 컬럼 C18 (GROM-SIL 120 ODS-5 ST, 5 µm)에 주입하였다. 컬럼은 이동상(mobile phase) 완충용액 (147 mM monochloro-acetic acid, 112.5 mM NaOH, 1.6 mM Na<sub>2</sub>-EDTA, 139 µM 1-octane sulfonic acid, 5% methanol)으로 평형화시켰다. flow rate는 1 ml/min이었고, 이 조건하에서 AA의 retention time은 2.233 min이었다. AA의 peak area는 100 mV의 dominant potential에서 측정되었고, AA의 양은 calibration curve로부터 정량되었다.

**피부조직 내 히스타민 유리 변화 측정.** Polyphenol로 안정화된 비타민 C의 알러지 반응 조절과 관련한 생체 내 효과를 측정하기 위하여 비만세포로부터의 히스타민 분비억제도를 Evans blue dye염색법을 이용하여 알아보았다. 대상이 되는 실험동물로는 7주령의 SD rat (n=7)을 사용하였다. 실험을 위하여 SD rat의 등부위를 면도한 다음 직경이 3 cm가 되도록 동심원모양을 그리면서 알러지반응을 유발하는 물질을 도포해 줌. 알러지 반응 물질 도포 후 1시간 후에 대조군에는 PBS를 주사하고 실험군에는 각각 비타민 C 단독 또는 0.01% polyphenol-비타민 C복합체를 피내로 주사하여 주고 30분 후에 2% evans blue를 정맥을 통하여 주사한 후에 caliper로 evans blue dye로 염색된 부위의 직경을 측정하였다. 히스타민 유리 억제율은 다음의 식을 이용하여 측정하였다. 히스



**Figure 1.** Polyphenol dose titration for the stabilization of vitamin C in aqueous solution. After 0.001, 0.01, and 0.1% polyphenol were added to 1 mM vitamin C, polyphenol-vitamin C mixtures were placed at room temperature without protection from sun-light for 72 hours. And then vitamin C was extracted from each mixture by metaphosphoric acid treatment and vitamin C concentration was measured by HPLC.



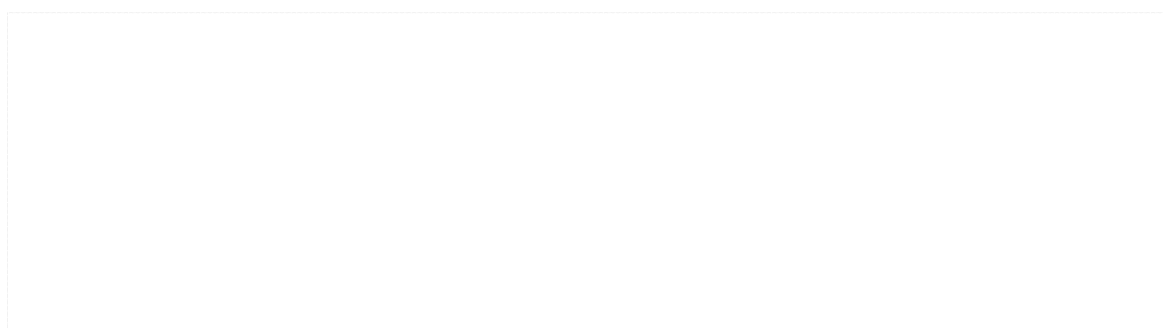
**Figure 2.** Time kinetic study for the stabilization of vitamin C in aqueous solution by polyphenol. After 0.01% polyphenol were added to 1 mM vitamin C, polyphenol-vitamin C mixtures and vitamin C solution were placed at room temperature with protection from sun-light for 2 weeks. By the treatment of meta-phosphoric acid, vitamin C was extracted from mixture at every other day and vitamin C concentration was measured by HPLC.

타민(Histamine) 유리 억제율(%) = (1-각 추출물 ring 직경/대조군 ring 직경)×100

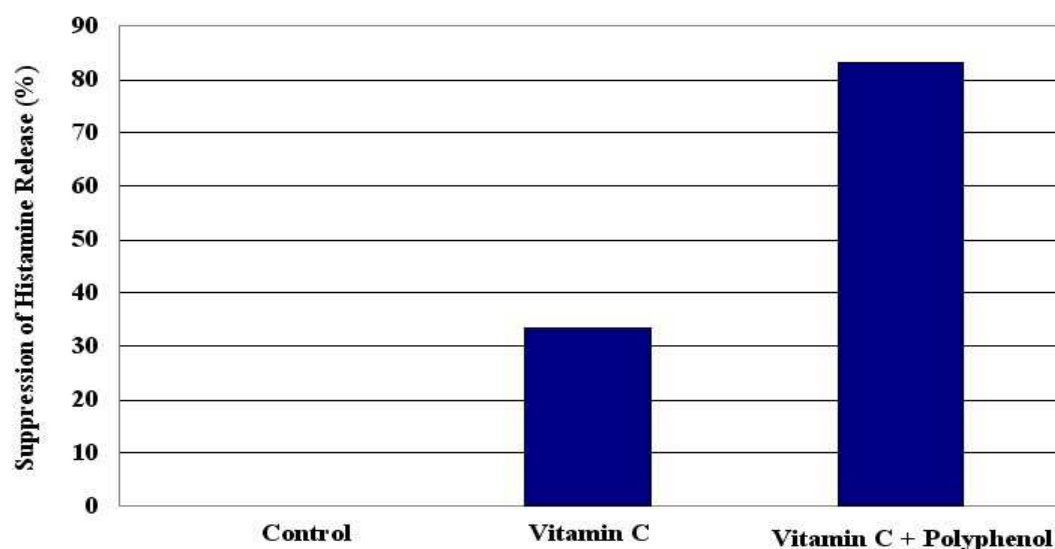
## 결 과

**비타민 C 안정화 유도를 위한 polyphenol의 농도 측정.** 비타민 C의 안정화시킬 수 있는 polyphenol의 농도를 알아보고자 1 mM (196µg/ml) 농도의 비타민 C 용액에 polyphenol의 농도가 0.001, 0.01, 0.1%가 되도록 혼합한 다음 외부로 부터의 빛을 차단하지 않은 상태에서 72시간 동안 방치해 두었다. 그 후 각 실험군으로부터 시료를 채취하고 HPLC를 이용하여 시료 내의 비타민 C의 농도를 측정한 결과 0.01%의 polyphenol 농도에서 비타민 C의 농도가 제일 높게 유지되고 있음을 알 수 있었다(Fig. 1). 이상의 결과를 근거로 하여 볼 때 수용액속의 비타민 C가 빛에 노출된다 하더라도 0.01%의 polyphenol과 함께 존재할 때에는 polyphenol이 비타민C의 빛에 의한 산화

(A)



(B)



**Figure 3.** Effect of polyphenol-vitamin C mixture on the regulation of histamin release from mast cell. (A) Evans blue dye staining: Inflammation was chemically induced on SD rat (n=7), and the PBS (a), vitamin C (b), and Polyphenol (0.01%)-vitamin C mixture (c) were applied onto the inflammatory sites of SD rat skin. After 30 min, 2% Evans blue dye was injected into inflammatory site and then measured the stained area by caliper. (B) Suppression of histamin release: After measurement of stained area by caliper, the rate of the suppression of histamin release was caculated by this fomula: Suppression of Histamine Release (%) = (1-각 추출물 ring직경/대조군 ring직경)×100.

를 지연시켜 준다는 사실을 알 수 있다.

**Polyphenol 첨가 후 시간에 따른 비타민 C 안정성의 변화.** 앞의 실험에서 얻은 결과를 바탕으로 하여 1 mM의 비타민 C 수용액을 만들고 0.01%의 polyphenol을 넣어준 군과 넣어주지 않은 군을 만든 다음, 수용액이 들어있는 tube를 foil로 싸서 외부로부터의 빛을 차단해 주었다. 그리고 난 후 2주간에 걸쳐서 수용액 상태에서의 비타민 C의 산화 정도를 HPLC를 이용하여 측정하여 보았다. 그 결과, 빛이 차단 된 상태에서 0.01%의 polyphenol과 함께 존재하는 비타민C의 경우 2주 동안 거의 산화되지 않았으나 비타민 C 단독으로 존재할 경우 빛을 차단해 주어도 2주 이내에 상당량의 비타민 C가 산화됨을 관찰할 수 있었다(Fig. 2). 따라서, 수용액 속의 비타민 C가 polyphenol과 함께 존재할 경우 빛이 차단 된 상태에서 장시간 동안 산화되지 않고 안정화된 상태로 보존될 수 있음을 알 수 있다.

**안정화된 비타민 C의 피부 내 흡수 증가로 인한 히스타민 분비 억제.** 시험관 내에서 수행한 지금까지의 실험을 통해 0.01%의 polyphenol이 첨가되었을 때 비타민 C가 장시간 동안 안정화된 상태로 존재함을 알 수 있었다. 이번 실험에서는 동물 실험을 통하여 0.01% polyphenol-비타민 C 복합체가 생체 내에 미칠 수 있는 영향에 대해서 알아보려고 하였다. 기존에 비타민 C가 피부에서의 알러지 반응을 완하시켜 준다는 많은 보고들이 있었으나 이 보고의 대부분에서 제시한 문제점이 바로 비타민 C의 불안정성이었다. 따라서, 비타민 C 안정화를 유도함이 확인된 0.01% polyphenol-비타민 C 복합체를 피부에 도포 하였을 때의 안정화된 비타민 C의 피부 내로의 침투성 증가와 이를 통한 알러지 반응 완화효과가 유도될 수 있는지를 SD rat피부 조직 내의 비만세포(mast cell)로부터의 히스타민(histamine)의 유리정 도를 측정하는 방법을 이용하여 알아보았다. SD rat의 피부에 1 mM의 비타민 C만이 들어있는 시료와 1 mM의 비타민 C와 0.01%의 polyphenol이 함께 들어있는 시료를 도포한 후 Evans blue dye를 이용하여 히스타민의 분비 정도를 측정한 결과, 비타민 C만을 넣어 준 군에서control군에 비해 히스타민의 유리가 억제되었음을 알 수 있으며 0.01% polyphenol-비타민 C 복합체를 도포하여 준 군에서 더욱 뚜렷한 히스타민 유리의 억제를 관찰할 수 있었다(Fig. 3). 따라서, 0.01% polyphenol을 비타민 C 수용액에 첨가할 경우 시험관 내에서 비타민 C 안정화는 물론 안정화된 비타민 C의 피부로의 침투성을 증가시켜 알러지 반응을 완하시켜 줄 수 있음을 알 수 있다.

## 고 찰

현대사회 의 산업화와 환경오염으로 인해 최근 들어 천식과 아토피와 같은 알러지성 질환이 급격히 증가되

고 있다. 아토피의 경우는 인간의 생명을 위협하는 질환은 아니지만 발생과정에 있어서 다양한 원인이 복잡하게 연관되어 완화와 재발을 반복하는 질병이기 때문에 치료가 어려운 질환이다. 아토피 알러지를 가진 사람에게서 나타나는 대표적 피부질환인 아토피 피부염(atopic dermatitis)의 경우 피부건조증 및 가려움증을 주증상으로 하는 만성피부 질환으로 전체 환자 중 25% 정도는 성인이 되어도 없어지지 않고 계속되는 것으로 알려져 있다.

최근 들어 아토피의 원인으로 알려진 것이 체내의 활성산소와 지질이 결합되어 만드는 과산화지질이다. 과산화지질은 피부의 보습기능을 파괴하는데 아토피 피부염 환자의 경우는 활성 산소의 제거에 요구되는super-oxide dismutase (SOD)의 활성도가 떨어지기 때문에 체내 활성 산소를 제거하지 못하게 되고 이로 인해 아토피 피부염이 발생된다(15). 따라서 아토피 피부염 환자에게서 활성도가 저하된 SOD의 활성도를 정상으로 돌려주거나 이를 대신할 수 있는 물질을 피부에 주입하여 주면 아토피 피부염의 증상은 완화 될 수 있을 것이며 이러한 역할을 할 수 있는 대표적인 물질이 비타민 C이다(16,17). 그런데 비타민 C의 경우 수용액 상태에서 빛에 노출될 경우 짧은 시간 내에 산화되어 버린다고 알려져 있으며 본 연구자의 실험에서도 수용액 상태의 비타민 C가 72 시간 동안 빛에 노출되었을 때 대부분의 비타민 C가 산화되어 없어짐을 확인하였고(Fig. 1), 빛에 노출되지 않더라도 수용액에서 14일 정도가 경과하면 수용액 내에는 비타민 C가 거의 존재하지 않음을 알 수 있다(Fig. 2). 그러나 Fig. 1에서 보듯이 비타민 C 수용액에 polyphenol을 첨가해 주었을 경우 수용액 내의 비타민 C는 거의 산화되지 않고 남아 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 이상의 결과는 polyphenol-비타민 C의 복합체를 이용한 치료제를 개발할 경우 SOD의 기능저하 또는 결핍이 한 원인을 차지하는 아토피 피부염의 증상완화에 도움이 될 수 있음을 의미한다.

아토피 피부염에 증상완화를 위하여 사용하는 대표적인 치료제인 스테로이드성 연고는 뛰어난 소염효과와 면역억제 효과를 보이는 물질로 가려움증의 완화에 있어서 좋은 효과를 보이기는 하지만 장기간 사용에 따른 부작용과 스테로이드성 연고제의 사용 중단에 수반되는 여러 심각한 증상으로 인하여 사용에 있어서 각별한 주의가 요구된다. 지금까지 알려진 아토피 피부염에 있어서의 가려움증의 원인은 피부 내 비만세포(mast cell)로부터 분비되는 히스타민(histamine)때문이라고 알려져 있다(18). 따라서 히스타민의 기능을 억제하는 항히스타민제가 아토피 피부염의 증상완화에 사용되고 있다(19, 20). 그러나 이 역시 장기간에 따른 부작용이 심각하기 때문에 이를 대체할 수 있는 안정적이면서 부작용이 없

는 물질에 관한 연구가 요구되고 있다. 실정인데 본 연구자들에 의해 수행된 비타민 C 처리 시 Rat의 피부 내 비만세포로부터 히스타민의 분비가 억제되는 실험결과(Fig. 3)는 이에 부합되는 결과라 할 수 있다. 비타민 C에 polyphenol을 첨가한 경우에 있어서 비타민 C 단독으로 사용하였을 때 보다 훨씬 뛰어난 효과를 보인다는 것도 관찰하였는데 이는 앞선 시험관 내의 실험결과에서도 보여주었듯이 polyphenol에 의한 비타민 C의 안정화로 인한 결과라 생각된다(21,22). 이와 함께 비타민 C의 안정화를 유도하는 polyphenol 또한 항산화제로서 역할 한다는 것이 이미 알려진 바 있기 때문에 polyphenol이 비타민 C의 안정화를 유도하는 기능과 함께 안정화된 비타민 C의 피부 내 흡수를 도와주거나 polyphenol 자체가 비만세포로부터의 히스타민 분비를 억제하는 작용을 하였을 가능성도 있을 것으로 생각된다(23).

이상의 사실들을 토대로 하여 생각하여 볼 때, 비타민 C 수용액에 polyphenol을 첨가하여 줌으로써 1) 비타민 C의 안정화를 유도, 2) 안정화된 비타민 C의 피부 내 침투효과 상승효과로 인한 비만세포로부터의 히스타민 분비억제의 현상을 확인할 수 있었고 이를 적절히 잘 이용할 경우 효과적인 아토피 피부염 치료제를 개발할 수 있을 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Olson JA, Hodges RE: Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin C in humans. *Am J Clin Nutr* 45;693-703, 1987
- Weber P, Bendich A, Schalch W: Vitamin C and human health--a review of recent data relevant to human requirements. *Int J Vitam Nutr Res* 66;19-30, 1996
- Ohkura K, Fujii T, Konishi R, Terada H: Increased attachment and confluence of skin epidermal cells in culture induced by ascorbic acid: detection by permeation of trypan blue across cultured cell layers. *Cell Struct Funct* 15;143-150, 1990
- Siegel BV, Morton JI: Vitamin C and immunity: natural killer (NK) cell factor. *Int J Vitam Nutr Res* 53;179-183, 1983
- Wenzel U, Nickel A, Kuntz S, Daniel H: Ascorbic acid suppresses drug-induced apoptosis in human colon cancer cells by scavenging mitochondrial superoxide anions. *Carcinogenesis* 25;703-712, 2004
- Cho D, Hahm E, Kang JS, Kim YI, Yang Y, Park JH, Kim D, Kim S, Kim YS, Hur D, Park H, Pang S, Hwang YI, Lee WJ: Vitamin C downregulates interleukin-18 production by increasing reactive oxygen intermediate and mitogen-activated protein kinase signalling in B16F10 murine melanoma cells. *Melanoma Res* 13;549-554, 2003
- Kang JS, Cho D, Kim YI, Hahm E, Yang Y, Kim D, Hur D, Park H, Bang S, Hwang YI, Lee WJ: L-ascorbic acid (vitamin C) induces the apoptosis of B16 murine melanoma cells via a caspase-8-independent pathway. *Cancer Immunol Immunother* 52;693-698, 2003
- Boyce ST, Supp AP, Swope VB, Warden GD: Vitamin C regulates keratinocyte viability, epidermal barrier, and basement membrane in vitro, and reduces wound contraction after grafting of cultured skin substitutes. *J Invest Dermatol* 118;565-572, 2002
- Sivakumar PV, Westrich GM, Kanaly S, Garka K, Born TL, Derry JM, Viney JL: Interleukin 18 is a primary mediator of the inflammation associated with dextran sulphate sodium induced colitis: blocking interleukin 18 attenuates intestinal damage. *Gut* 50;812-820, 2002
- Ram FS, Rowe BH, Kaur B: Vitamin C supplementation for asthma. *Cochrane Database Syst Rev* CD000993, 2004
- Johnston CS, Martin LJ, Cai X: Antihistamine effect of supplemental ascorbic acid and neutrophil chemotaxis. *J Am Coll Nutr* 11;172-176, 1992
- Hoppu U, Rinne M, Salo-Vaananen P, Lampi AM, Piironen V, Isolauri E: Vitamin C in breast milk may reduce the risk of atopy in the infant. *Eur J Clin Nutr* 59;123-128, 2005
- Jansson PJ, Jung HR, Lindqvist C, Nordstrom T: Oxidative decomposition of vitamin C in drinking water. *Free Radic Res* 38;855-860, 2004
- Siegenberg D, Baynes RD, Bothwell TH, Macfarlane BJ, Lamparelli RD, Car NG, MacPhail P, Schmidt U, Tal A, Mayet F: Ascorbic acid prevents the dose-dependent inhibitory effects of polyphenols and phytates on nonheme-iron absorption. *Am J Clin Nutr* 53;537-541, 1991
- Loesberg C, Henricks PA, Nijkamp FP: Superoxide anion production by alveolar macrophages of guinea pigs fed different diets in a model of atopy. *Agents Actions* 23;99-100, 1988
- Iino K, Iwase M, Sonoki K, Yoshinari M, Iida M: Combination treatment of vitamin C and desferrioxamine suppresses glomerular superoxide and prostaglandin E production in diabetic rats. *Diabetes Obes Metab* 7;106-109, 2005
- Lee JS, Kim JW, Han SH, Chang IS, Kang HH, Lee OS, Oh SG, Suh KD: The stabilization of L-ascorbic acid in aqueous solution and water-in-oil-in-water double emulsion by controlling pH and electrolyte concentration. *J Cosmet Sci* 55;1-12, 2004
- Li A, Mackay GA, Hopkin JM: Functional analysis of histamine release from basophils and mast cells in subjects with the Ile-181→Leu variant of Fc epsilon RI-beta. *Clin Sci (Lond)* 93;279-286, 1997
- Szeinbach SL, Williams B, Muntendam P, O'Connor RD: Identification of allergic disease among users of antihistamines. *J Manag Care Pharm* 10;234-238, 2004
- Oh C, Nakano K: Reversal by ascorbic acid of suppression by endogenous histamine of rat lymphocyte blastogenesis. *J Nutr* 118;639-644, 1988
- Gahler S, Otto K, Bohm V: Alterations of vitamin C, total phenolics, and antioxidant capacity as affected by processing tomatoes to different products. *J Agric Food Chem* 51;7962-7968, 2003
- Sakagami H, Satoh K: Modulating factors of radical intensity and cytotoxic activity of ascorbate (review). *Anticancer Res* 17;3513-3520, 1997
- Siegenberg D, Baynes RD, Bothwell TH, Macfarlane BJ, Lamparelli RD, Car NG, MacPhail P, Schmidt U, Tal A, Mayet F: Ascorbic acid prevents the dose-dependent inhibitory effects of polyphenols and phytates on nonheme-iron absorption. *Am J Clin Nutr* 53;537-541, 1991