

삼백초 Ethyl acetate 분획물의 예쁜꼬마선충 내의 항산화 효과

이은별¹ · 김준형¹ · 이재광² · 한순천¹ · 박현미¹ · 김대근^{1*}

¹우석대학교 약학대학, ²(유)산에들에

Anti-oxidative Effects of Ethyl acetate Fraction of *Saururus chinensis* in *Caenorhabditis elegans*

Eun Byeol Lee¹, Jun Hyeong Kim¹, Jae-Gwang Lee², Sooncheon Han¹,
Hyun Mee Park¹ and Dae Keun Kim^{1*}

¹College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonju 55338, Korea

²Co., Ltd. MGWinery, Wanju 55363, Korea

Abstract – *Saururus chinensis* (Lour.) Baill. (Saururaceae) has been used as a traditional medicine for the treatment of dysuria, leukorrhea, eczema, jaundice and ascites in Korea, China and Japan. Ethanol extract of *S. chinensis* was successively partitioned as methylene chloride, ethyl acetate, *n*-butanol and H₂O soluble fractions. Among those fractions the ethyl acetate soluble fraction showed the most potent DPPH radical scavenging and superoxide quenching activities. To verify antioxidant activities of ethyl acetate fraction, we checked the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase, and intracellular ROS level and oxidative stress tolerance in *Caenorhabditis elegans*. Furthermore, to see if increased stress tolerance of worms by treating of ethyl acetate fraction was due to regulation of stress-response gene, we quantified SOD-3 expression using transgenic strain. Consequently, ethyl acetate fraction elevated SOD and catalase activities of *C. elegans*, and reduced intracellular ROS accumulation in a dose-dependent manner. Moreover, ethyl acetate fraction-treated CF1553 worms exhibited significantly higher SOD-3::GFP intensity.

Keywords – *Saururus chinensis*, *Caenorhabditis elegans*, Antioxidant activity

Oxidative stress는 세포가 저항할 수 있는 항산화력을 뛰어 넘는 산화능력을 가진 물질에 의해 발생하고 결국은 세포를 손상시키고 각종 질병을 일으키는 원인이 될 수 있다. 이러한 주된 물질은 호흡에 의해 들어오는 산소에 의해 발생하며 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)의 형태로 작용한다. 활성 산소종은 산소를 가지고 있는 화학물질로 강한 활성을 가지는 것이 특징이다. 이들은 주로 세포 내 미토콘드리아의 호흡과정에서 부산물로 발생하는 것으로 free radical로 superoxide radical($\cdot O_2^-$)과 hydroxyl radical($\cdot OH$) 등이 있으며, non-radical로는 hydrogen peroxide(H₂O₂)가 존재한다. 그 외의 활성 산소종에 포함되는 것으로 singlet oxygen(1O_2), ozone(O₃), lipid peroxide(ROOH) 및 hypochlorous acid(HOCl) 등이 생체 내에 존재하는 것으로 알려져 있다.¹⁻³⁾ 항산화제는 산화적 손상을 늦추거나 방

해하며 혹은 제거할 수 있는 능력을 가진 물질로서 인체 내에 존재하는 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase 및 catalase 등과 같은 항산화 효소들만으로는 불완전하여 건강을 유지하기 위해서는 외부에서 공급되는 vitamin C, E, carotenoid 및 polyphenol 물질 등의 항산화제의 공급이 필요하다.^{4,5)} 이러한 과도한 활성 산소종은 조직 세포의 지질, 단백질과 DNA와 같은 핵산까지 손상을 입히며 oxidative stress를 주어 염증성 질환, 뇌졸중, 심장질환 등과 같은 질병을 비롯하여 노화를 촉진하는 결과로 이어질 수 있어 이를 예방하기 위해서는 외부에서 투여할 수 있는 항산화제의 개발이 필요하다. 최근 몇 종의 합성 항산화제들이 사용되어 오고 있으나 부작용이 상대적으로 적을 것을 판단되는 천연물 유래 항산화제에 대한 관심이 높아지고 있다.^{6,7)}

삼백초(三白草)는 삼백초(*Saururus chinensis*, Saururaceae)의 지상부를 건조한 것으로 한국, 중국, 일본 등에서 배노

*교신저자(E-mail): dkkim@woosuk.ac.kr
(Tel): +82-63-290-1574

통, 백대하, 습진, 황달 및 복수 등을 치료하는 전통약물로 오랫동안 사용되어 왔다.⁸⁾ 이 식물에 대한 식물화학적 성분 연구로는 sauchinone, machilin D, saurulignans A-E 등과 같은 lignin 화합물들이 주로 보고되어 있으며, 그 외에 몇 종의 flavonoid 화합물이 보고되어 있다.⁹⁻¹³⁾ 삼백초에 대한 약리활성연구로는 항염증, apoptosis, 조골활성, 항암활성 및 멜라닌 생성 억제효능 등 다양한 활성이 보고되어 있다.¹⁴⁻¹⁸⁾

본 연구에서는 삼백초 알코올 추출물의 용매 분획을 DPPH free radical 및 superoxide 소거능을 측정하여 가장 강한 항산화능을 나타낸 ethyl acetate 분획을 예쁜꼬마선충 (*Caenorhabditis elegans*)을 이용하여 선충 내의 항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD)와 catalase의 활성과 세포 내의 활성 산소종(ROS)의 축적 억제 능력을 측정하였다. 또한, juglone으로 유도된 oxidative stress에 대한 저항능력을 확인하고 이와 관련하여 선충 내의 oxidative stress 저항 단백질의 증가여부를 확인하기 위하여 SOD-3을 포함한 형질 전환 선충 CF1553을 이용하여 SOD 발현 증가 여부를 확인하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 실험에 사용한 삼백초는 2016년에 완주군 구이에서 채배한 것을 제공받아 김대근교수가 검증한 후에 실험에 사용하였으며, 표준품은 우석대학교 약학대학 생약표본실에 보관하고 있다(WSU-16-007).

추출 및 분획 - 삼백초 600 g을 분쇄하여 50% 주정으로 가끔 진탕하면서 50°C에서 5시간씩 2회 추출하였다. 그 추출액을 수욕상에서 감압농축하여 ethanol엑스 약 84 g을 얻었으며, 이 ethanol엑스를 증류수로 현탁시키고 상법에 따라 동량의 methylene chloride(9.3 g), ethyl acetate(7.2 g) 및 *n*-butanol(17.4 g)의 순으로 용매 분획하여 각각의 분획물을 얻었다.

DPPH Free Radical 소거활성 측정¹⁹⁾ - 96 well plate에 시료를 ethanol로 각 분획 별로 조제한 용액에 13 µM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)을 일정량씩 가하였다. 10 초간 진탕한 후 25°C에서 30분간 방치한 후 microplate reader를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조약물은 L-ascorbic acid를 사용하였다. 항산화 효과는 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도와 비교하였다. 각 시료에 대한 DPPH radical 소거작용을 3회 반복하여 측정하였다.

Superoxide 억제 활성²⁰⁾ - 시료의 superoxide 억제능력은 methionine, riboflavin, NBT로 구성된 평가 시스템을 이용하여 광화학 작용을 측정하는 것으로, 반응 혼합액은 2.6 µM riboflavin, 3 mM methionine, 75 µM NBT, 0.1 mM EDTA, PBS(pH 7.4) 및 여러 농도의 시료로 이루어졌다. 혼합물을 light box에 넣은 후 5분마다 자리를 임의로 바꾸어 주면서

15분 동안 방치하였다. Light box 안의 온도는 20±1°C, 빛의 밝기는 5,500 lux를 유지하였으며, NBT가 빛 아래에서 blue formazan으로 환원되어 생성되는 blue formazan 형성 억제능을 560 nm에서 측정하였다.

예쁜꼬마선충의 배양²¹⁾ - 예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*, wild type)은 Caenorhabditis Genetic Center(CGC; University of Minnesota, Minneapolis, MN)로부터 제공받은 것을 사용하였으며, *Escherichia coli* OP50을 도말한 Nematode Growth Medium(NGM) agar plate에서 배양하였다(20°C). EDZ은 DMSO를 용매로 한 stock solution 상태로 멸균된 NGM plate(50°C)에 첨가되었으며, 최종 DMSO 농도는 모든 상태에서 0.1%(v/v)를 유지하였다.

선충 체내의 항산화 효소(SOD, Catalase) 활성 측정^{22,23)} - 성장 단계가 동일한 N2 선충을 각각의 농도별 plate에서 배양하였다(EDZ 250, 500 µg/mL). 성체가 된 후 4일째에 선충을 모아 M9 buffer로 3회 세척 후 분쇄하여 효소활성 측정에 사용하였다(homogenization buffer: 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, pH 7.5). SOD 활성은 Ibrahim 등의 방법을 응용하여 측정하였다. 먼저 10 mM phosphate buffer(pH 8.0)를 용매로 반응혼합물(1.6 mM xanthine과 0.48 mM NBT) 0.49 mL를 만든 뒤 sample 10 µL와 37°C에서 5분간 pre-incubation시켰다. 그 후 xanthine oxidase 1 mL(0.05 U/mL)을 첨가하고 37°C에서 20분 동안 incubation시킨 다음 69 mM SDS로 반응을 멈추고 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Catalase activity는 Aebi의 방법을 응용하여 25 mM H₂O₂에 시료 50 µL(EDZ 250, 500 µg/mL)를 3분 동안 반응시키고 240 nm에서 흡광도를 측정하였다.

선충 세포 내 활성 산소종(ROS) 분석²⁴⁾ - 세포 내 활성 산소종은 2',7'-dichlorodihydro fluorescein diacetate(H₂DCF-DA)를 사용하여 측정하였다. 성장 단계가 동일한 N2 선충을 각각 농도별로 plate에서 배양하였다. 성체가 된 후 4일째 50 µM juglone을 함유한 M9 buffer에 넣고 2시간 노출시킨 뒤 96 well plate에 담긴 50 µL M9 buffer에 5마리씩 옮겼다. 마지막으로 25 µM H₂DCF-DA 50 µL를 첨가한 뒤 여기 485 nm, 방출 535 nm에서 흡광도를 각각 측정하였다.

Oxidative Stress 저항성 평가²⁵⁾ - 성장 단계가 동일한 선충을 각각의 농도별 plate에서 배양하였다(EDZ 250, 500 µg/mL). Oxidative stress에 의한 내성은 기존 방법을 약간 변형하여 평가하였으며, 성체가 된 후 7일째에 일시적으로 선충을 1 mM juglone이 함유된 M9 buffer가 담긴 96 well plate의 well에 옮기고 시간 별로 생존율을 확인하였다.

형질전환 선충 내 SOD-3::GFP 형광 측정 - 형질 전환된 선충으로 SOD-3::GFP를 포함한 CF1553을 농도별로 투여된 배지에 배양하였다. 성체가 된 후 4일째에 사용하였으며, 선충은 sodium azide(2%)로 마취시켰고 GFP 발현은 형

광 실체 현미경(Olympus, Japan)으로 관찰하였다. 발현강도를 정량, 분석하기 위해 현미경을 이용한 사진 촬영과 ImageJ 소프트웨어를 사용하여 분석하였다. 모든 실험은 3회 반복하였다.

통계 분석 - 통계 자료의 값은 평균값±표준오차(mean±S.E.M.)로 표시하였다. 그룹 간의 통계적 유의성 검정은 Student's t-test를 통해서 분석하였고 선충의 연속적인 생존도는 Log-rank test 분석 방법을 이용하였다. p값은 * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$ 일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

DPPH Radical 소거능 - 삼백초 분획 중에서 DPPH radical 소거 효과는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 분획들 중 ethyl acetate분획(IC₅₀; 54.9 µg/mL)이 대조군인 비타민 C(IC₅₀; 24.0 µg/mL)보다는 낮았으나 분획물 중 가장 높은 DPPH free radical 소거 효과를 나타냈다(Fig. 1).

Superoxide 소거 활성 - Riboflavin 유래 superoxide quenching 활성에서는 대조군 비타민 C가 IC₅₀값이 66.2 µg으로 superoxide quenching 활성을 보였으며, 삼백초 분획 중 ethyl acetate층은 IC₅₀값이 26.1 µg/mL으로 나타나 대조군보다 높은 superoxide 소거 활성을 나타냈다(Fig. 2).

선충 체내의 항산화 효소 SOD 및 Catalase 활성증가 효능 - Xanthine을 기질로 xanthine oxidase의 효소반응 과정 중에 생성되는 superoxide anion을 활용하여 SOD의 활성을 측정한 결과 Fig. 3A에서 나타난 바와 같이 선충의 삼백초 ethyl acetate 500 µg/mL 투여군은 SOD의 활성을 농도의존적으로 증가시켰으며, ethyl acetate분획 500 µg/mL

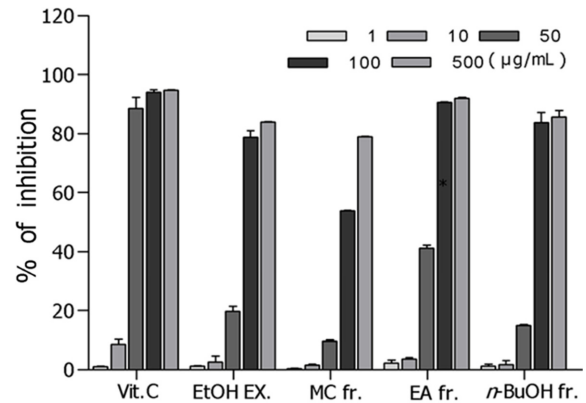


Fig. 1. DPPH radical scavenging effects of the ethanol extract, and its fractions of *S. chinensis*.

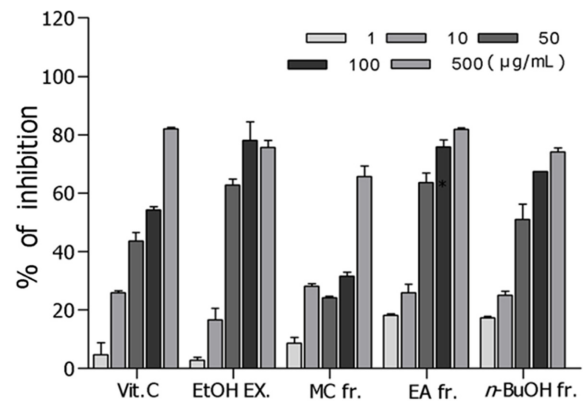


Fig. 2. Riboflavin-originated superoxide quenching activities of ethanol extract, and its fractions of *S. chinensis*.

투여군은 대조군과 비교하여 SOD 활성을 약 39.8% 정도 증가시켰다(*** $p<0.001$). 강력한 반응성을 가진 활성 산소

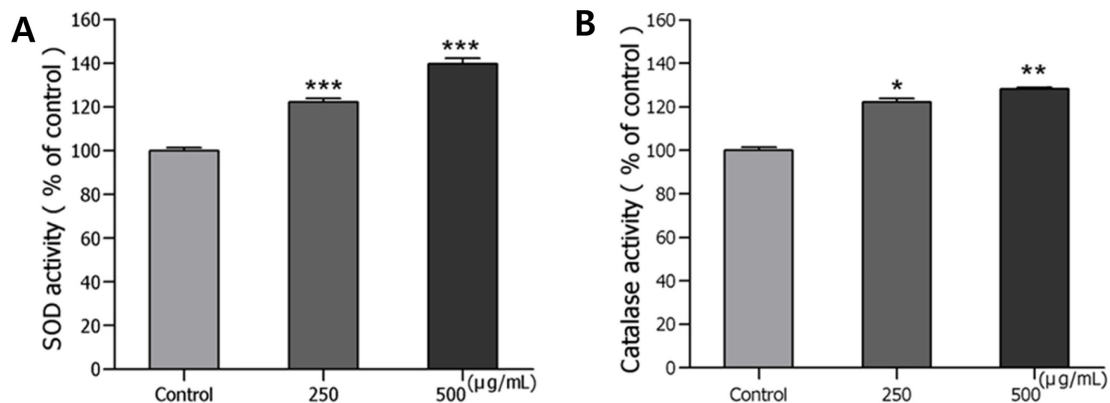


Fig. 3. Effects of ethyl acetate fraction of *S. chinensis* on the antioxidant enzyme activity of wildtype N2 nematodes. (A) The enzymatic reaction of xanthine with xanthine oxidase was used to generate $\bullet\text{O}_2^-$ and the SOD activity was estimated spectrophotometrically through formazan formation by NBT reduction. SOD activity was expressed as a percentage of the scavenged amount per control. (B) Catalase activity was calculated from the concentration of residual H_2O_2 , as determined by a spectrophotometric method. Catalase activity was expressed in U/mg protein. Data are expressed as the mean \pm S.E.M. of three independent experiments (N=3). Differences compared to the control were considered significant at * $p<0.05$ and *** $p<0.001$ by one-way ANOVA.

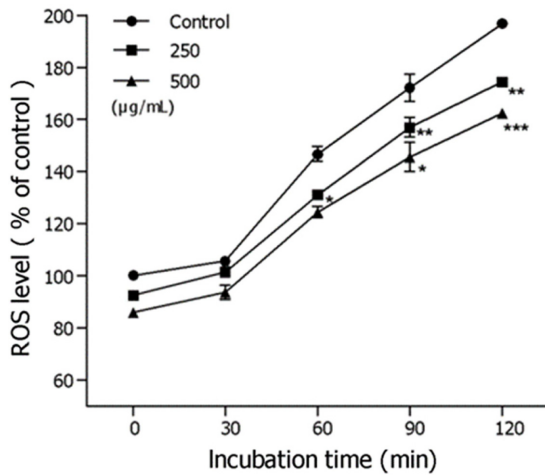


Fig. 4. Effect of ethyl acetate fraction of *S. chinensis* on the intracellular ROS accumulation of wild-type N2 nematodes. The worms were incubated with 50 µM juglone for 2 h, and subsequently treated with the fluorescent probe H₂-DCF-DA. Intracellular ROS accumulation was quantified spectrometrically at excitation 485 nm and emission 535 nm. Plates were read 30 min for 90 min. Data are expressed as the mean ± S.E.M. of three independent experiments (N=3). Differences compared to the control were considered significant at **p*<0.05, ***p*<0.01 and ****p*<0.001 by one-way ANOVA.

중인 hydrogen peroxide를 체내에서 대사시키는 catalase의 활성은 Fig. 3B에서 나타난 바와 같이 ethyl acetate분획 500 µg/mL 투여군이 대조군에 비해 catalase활성을 약 28.2% 정도 증가시켰다(***p*<0.01)(Fig. 3).

선충 세포 내 활성 산소종(ROS) 감소 효능 - 삼백초 ethyl acetate 분획의 농도별 세포 내 활성 산소종의 감소 효능을 알아보기 위해 H₂DCF-DA와 선충 내부의 활성 산소종을 반응시켜 형광을 관찰하였다. 활성 산소종 형광의 감소 폭은 대조군과 비교하여 ethyl acetate층 500 µg/mL 투여군에서 평균 약 15.2%(****p*<0.001) 활성 산소종을 감소시키는 것으로 확인되었다(Fig. 4).

Oxidative Stress 저항성 증가 효능 - 삼백초 ethyl acetate 분획이 선충의 stress 저항성에 미치는 영향은 oxidative

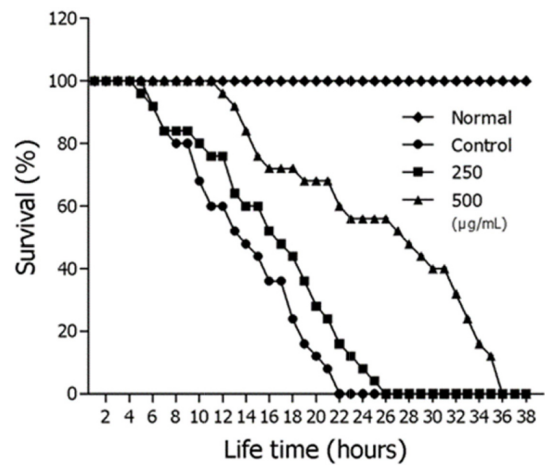


Fig. 5. Effect of ethyl acetate fraction of *S. chinensis* on the stress tolerance of wild-type N2 nematodes. For the oxidative stress assays, worms were transferred to 96-well plate containing 1 mM of juglone liquid culture, and then their viability was scored. Statistical difference between the curves was analyzed by log-rank test. All experiments were done in triplicates.

stress 조건에서 선충을 배양하여 생존율을 확인하였다. 선충에 oxidative stress를 유도하기 위해서 juglone이 함유된 plate에서 배양한 대조군 선충의 최고 생존시간은 22시간이었으나, ethyl acetate분획 500 µg/mL 농도에서는 생존시간을 36시간으로 증가시켰다. 대조군의 평균 생존시간이 14.0±0.0시간이었으나 500 µg/mL 농도 처리군은 평균 생존시간을 25.6±0.7시간으로 82.8%를 향상시켰다(****p*<0.001)(Fig. 5, Table I).

형질 전환 선충 내 SOD-3의 발현 증가 효능 - 선충 내에서 oxidative stress에 저항하기 위한 단백질의 증가여부를 확인하기 위해서 SOD 발현 유전자의 증가 여부를 확인하였다. SOD-3을 포함한 형질 전환 선충 CF1553을 사용하여 실험한 결과 CF1553 형질전환 선충에 삼백초 ethyl acetate 분획 처리군이 처리되지 않은 선충에 비해 상당히 높은 SOD-3::GFP 발현율(41.8%, ****p*<0.001)을 보여주었다(Fig. 6A, 6B).

Table I. Effect of ethyl acetate fraction of *S. chinensis* on the oxidative stress tolerance of *C. elegans*

Stress condition	Concentration	Mean lifespan (h)	Maximum lifespan (h)	Change in mean lifespan (%)	Log-rank test
1 mM Juglone	Control	14.0 ± 0.0	22	-	-
	250 µg/mL	16.2 ± 0.2	26	16.2	* <i>p</i> <0.05
	500 µg/mL	25.6 ± 0.7	36	82.8	*** <i>p</i> <0.001

Mean lifespan presented as mean ± S.E.M data. Change in mean lifespan compared with control group (%). Statistical significance of the difference between survival curves was determined by log-rank test using the Kaplan-Meier survival analysis. Differences compared to the control were considered significant at **p*<0.05 and ****p*<0.001.

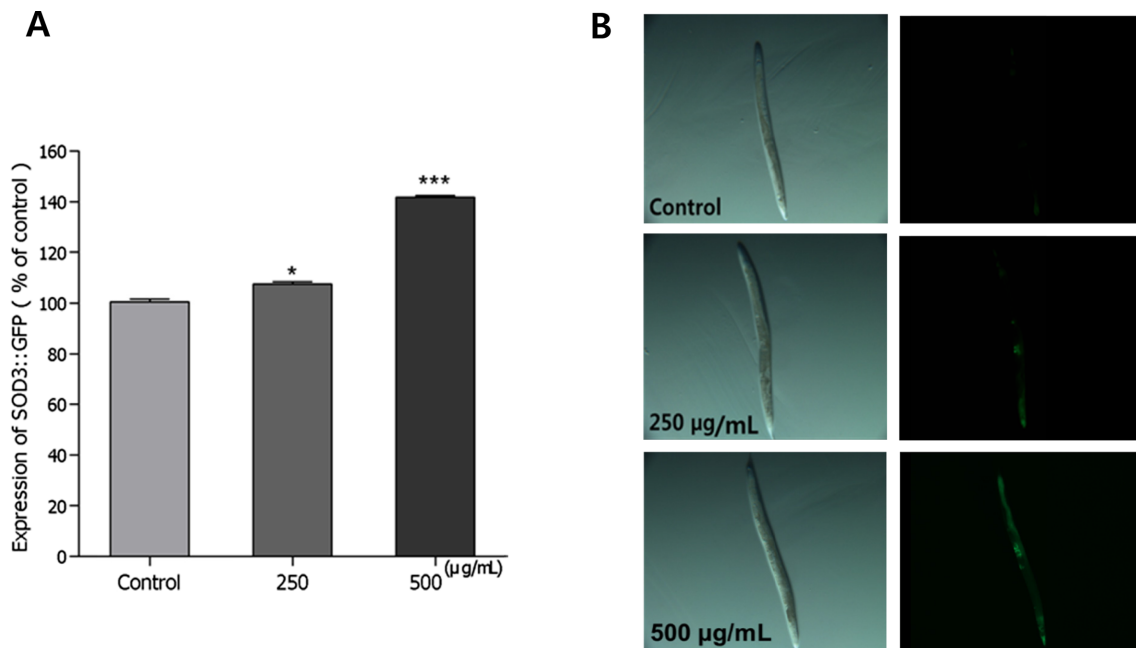


Fig. 6. Effect of ethyl acetate fraction of *S. chinensis* on the expression of SOD-3 was determined using transgenic nematodes. Mean GFP intensity of CF1553 mutant was represented as mean \pm S.E.M. of values from 19 to 25 animals per each experiment. The GFP intensity was quantified using Image software by determining average pixel intensity. Images of SOD-3::GFP expression of CF1553 worm in the presence or absence of ethyl acetate fraction. Data are expressed as the mean \pm standard deviation of three independent experiments (N=3). Differences compared to the control were considered significant at $*p < 0.05$ and $***p < 0.001$ by one-way ANOVA.

고 찰

삼백초는 오랫동안 부종, 염증이나 비뇨기계 질환에 이용되어 왔다.⁸⁾ 본 실험에서는 20°C에서 약 1 mm 정도까지 자라며 대략 20일 정도의 짧은 수명을 가지는 몸이 투명한 예쁜꼬마선충을 대상으로²⁶⁾ 삼백초 추출물이 선충 내의 항산화 체계에 미치는 영향에 대해서 살펴보았다. 삼백초의 분획 중 ethyl acetate 분획은 DPPH radical과, superoxide 소거활성시험에서 가장 강한 소거활성을 보여 주었다. 선충 세포의 양을 정량한 후 선충 내의 항산화 효소인 SOD 및 catalase의 활성을 알아본 결과 삼백초 ethyl acetate 분획은 농도 의존적으로 SOD 및 catalase의 활성을 높이는 것으로 확인되었다. 또한 선충에 ethyl acetate 분획을 처리하고 juglone을 투여한 후 선충 세포 내 활성 산소종(ROS) 수치를 확인한 결과 상당한 활성 산소종의 축적억제 효능을 나타냈다. Juglone을 이용하여 oxidative stress를 발생시키고 선충의 stress 저항능력을 확인한 결과 ethyl acetate 분획 처리군이 oxidative stress 조건하에서 대조군과 비교하여 생존율이 농도 의존적으로 상당히 증가하는 것이 확인되었다. 이와 관련하여, GFP-fused transgenic strain CL2070을 이용하여 juglone으로 처리한 oxidative stress 저항성 확인실험에서 형광 발현율이 상당히 증가함을 확인되어 oxidative

stress에 저항성이 있는 단백질의 발현이 증가되었음을 확인하였다. 활성 산소종은 미토콘드리아의 세포 호흡, 세포 손상, phagocytosis 및 스트레스 등에 생성되어 체내의 항산화제의 결핍으로 인해 oxidative stress를 야기하는 것으로 보고되어 있으며, 스트레스에 저항할 수 있는 능력은 노화방지나 수명연장과 상당한 관련성이 있다고 보고되어 있다.^{27,28)} 삼백초의 ethyl acetate 분획은 선충에 있어 체내의 SOD나 catalase 등의 항산화 효소의 활성을 증가시키며, 활성 산소종의 축적을 억제하고 스트레스에 대한 저항력을 높여 주므로 선충의 수명연장이나 노화 지연에 영향을 미칠 수 있을 것으로 추측된다.^{29,30)} 이러한 결과는 기존의 삼백초에서 보고된 삼백초의 lignin, neolignan 및 flavonoid 성분의 항산화 효능과,^{13,31)} 추출물의 항염증 효능,¹⁴⁾ 항암효능^{15,17,32)} 등이 이러한 선충의 스트레스 저항능력 및 항산화 활성에 영향을 줄 것으로 생각되며, 앞으로 활성물질에 대한 물질의 분리와 구조확인 및 단일 물질 수준에서의 항산화 활성 확인이 필요할 것으로 사료된다.

결 론

삼백초의 ethyl acetate 분획은 DPPH radical과, superoxide 소거활성 시험에서 강한 항산화력을 보여 주었으며, 예쁜꼬

마선충 내의 항산화 효소인 SOD 및 catalase의 활성이 ethyl acetate 분획 투여에 의해 농도 의존적으로 활성이 높아졌다. 또한 선충 세포 내의 ROS의 발생량은 ethyl acetate 분획 투여군에서 농도의존적으로 감소하는 효과를 보여 주었으며, juglone을 이용하여 oxidative stress를 측정할 결과 생존율이 농도 의존적으로 증가하는 것을 확인하였다. 이와 관련하여 mutant인 GFP-fused transgenic strain CL2070을 이용하여 oxidative stress 저항성 실험을 확인한 결과 oxidative stress에 저항성이 있는 단백질의 발현이 증가되었음을 확인하였다. 이러한 결과로 볼 때 삼백초 및 그 ethyl acetate 분획은 항산화 및 이와 관련된 질병의 예방 및 치료를 위한 물질개발의 자원으로서의 가치가 충분히 있을 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 2016년 중소기업청의 첫걸음기술개발사업(과제번호 C0396712)의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사합니다.

인용문헌

- Akhtar, M. J., Ahamed, M., Alhadlaq, H. A. and Alshamsan, A. (2017) Mechanism of ROS scavenging and antioxidant signalling by redox metallic and fullerene nanomaterials: Potential implications in ROS associated degenerative disorders. *Biochim. Biophys. Acta* **1861**: 802-813.
- Dickinson, B. C. and Chang, C. J. (2011) Chemistry and biology of reactive oxygen species in signaling or stress responses. *Nat. Chem. Biol.* **7**: 504-511.
- Perrone, G. G., Tan, S. X. and Dawes, I. W. (2008) Reactive oxygen species and yeast apoptosis. *Biochim. Biophys. Acta* **1783**: 1354-1368.
- Bouayed, J. and Bohn, T. (2010) Exogenous antioxidants—Double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxid. Med. Cell Longev.* **3**: 228-237.
- den Endea, W. V., Pesheva, D. and Garab, L. D. (2011) Disease prevention by natural antioxidants and prebiotics acting as ROS scavengers in the gastrointestinal tract. *Trends in Food Science & Technology* **22**: 689-697.
- Shin, T. S., Kang, H. S., Kim, S. K., Lee, K. W. and Cho, B. W. (1999) Effect of natural and synthetic antioxidants on pH, POV, fatty acids composition and overall acceptability of cooked ground pork. *J. Agri. Tech. & Dev. Inst.* **3**: 1-9.
- Gill, I., Kaur, S., Kaur, N., Dhiman, M. and Mantha, A. K. (2017) Phytochemical ginkgolide B attenuates amyloid- β 1-42 induced oxidative damage and altered cellular responses in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *J. Alzheimers Dis.* Doi: 10.3233/JAD-161086.
- Guo, J.-X., Kimura, T., But, P. P. H. and Sung, C. K. (2001) International collation of traditional and folk medicine, 22-23. World Scientific, Singapore.
- Hwang, B. Y., Lee, J. H., Nam, J. B., Hong, Y. S. and Lee, J. J. (2003) Lignans from *Saururus chinensis* inhibiting the transcription factor NF- κ B. *Phytochemistry* **64**: 765-771.
- Song, H., Kim, Y. C. and Moon, A. (2003) Sauchinone, a lignan from *Saururus chinensis*, inhibits staurosporine-induced apoptosis in C6 rat glioma cells. *Biol. Pharm. Bull.* **26**: 1428-1430.
- Tsai, W. J., Shen, C. C., Tsai, T. H. and Lin, L. C. (2014) Lignans from the aerial parts of *Saururus chinensis*: isolation, structural characterization, and their effects on platelet aggregation. *J. Nat. Prod.* **77**: 125-131.
- Cui, H., Xu, B., Wu, T., Xu, J., Yuan, Y. and Gu, Q. (2014) Potential antiviral lignans from the roots of *Saururus chinensis* with activity against Epstein-Barr virus lytic replication. *J. Nat. Prod.* **77**: 100-110.
- Kang, T. H., Cho, H., Oh, H., Sohn, D. H. and Kim, Y. C. (2005) Flavonol glycosides with free radical-scavenging activity of *Saururus chinensis*. *Fitoterapia* **76**: 115-117.
- Meng, X., Kim, I., Jeong, Y. J., Cho, Y. M. and Kang, S. C. (2016) Anti-inflammatory effects of *Saururus chinensis* aerial parts in murine macrophages via induction of heme oxygenase-1. *Exp. Biol. Med.* (Maywood). **241**: 396-408.
- Lee, A. Y., Han, Y. A., Kim, J. E., Hong, S. H., Park, E. J. and Cho, M. H. (2015) *Saururus chinensis* Baill induces apoptosis through endoplasmic reticulum stress in HepG2 hepatocellular carcinoma cells. *Food Chem. Toxicol.* **83**: 183-192.
- Moon, S. H., Choi, S. W., Park, S. J., Ryu, S. Y., Hwang, K. S., Kim, C. H. and Kim, S. H. (2015) In vitro and in vivo Bone-Forming Activity of *Saururus chinensis* Extract. *Phytother. Res.* **29**: 1073-1080.
- Jeong, H. J., Koo, B. S., Kang, T. H., Shin, H. M., Jung, S. and Jeon, S. (2015) Inhibitory effects of *Saururus chinensis* and its components on stomach cancer cells. *Phytomedicine* **22**: 256-261.
- Lee, D. H., Kim, D. H., Oh, I. Y., Kim, S. Y., Lim, Y. Y., Kim, H. M., Kim, Y. H., Choi, Y. M., Kim, S. E., Kim, B. J. and Kim, M. N. (2013) Inhibitory effects of *Saururi chinensis* extracts on melanin biosynthesis in B16F10 melanoma cells. *Biol. Pharm. Bull.* **36**: 772-779.
- Yoshida, T., Mori, K., Hatano, T., Okumura, T., Uehara, I., Komagoe, K., Fujita, Y. and Okuda, T. (1989) Studies on inhibition mechanism of autooxidation by tannins and flavonoids. V: Radical scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 1919-1921.
- Ginnopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* **59**: 309-314.

21. Brenner, S. (1974) The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **77**: 71-94.
 22. Mekheimer, R. A., Sayed, A. A. and Ahmed, E. A. (2012) Novel 1,2,4-triazolo[1,5-a]pyridines and their fused ring systems attenuate oxidative stress and prolong lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *J. Med. Chem.* **55**: 4169-4177.
 23. Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Method. Enzymol.* **105**: 121-126.
 24. Kim, H. N., Seo, H. W., Kim, B. S., Lim H. J., Lee, H. N., Park, J. S., Yoon, Y. J., Oh, J. W., Oh, M. J., Kwon, J., Oh, C. H., Cha, D. S. and Jeon, H. (2015) *Lindera obtusiloba* extends lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Nat. Prod. Sci.* **21**: 128-133.
 25. Lee, E. Y., Shim, Y. H., Chitwood, D. J., Hwang, S. B., Lee, J. and Paik, Y. K. (2005) Cholesterol-producing transgenic *Caenorhabditis elegans* lives longer due to newly acquired enhanced stress resistance. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **328**: 929-936.
 26. Guha, S., Natarajan, O., Murbach, C. G., Dinh, J., Wilson, E. C., Cao, M., Zou, S. and Dong, Y. (2014) Supplement timing of cranberry extract plays a key role in promoting *Caenorhabditis elegans* healthspan. *Nutrients* **21**: 911-921.
 27. Sampayo, J. N., Olsen, A. and Lithgow, G. J. (2003) Oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*: protective effects of superoxide dismutase/catalase mimetics. *Aging Cell* **2**: 319-326.
 28. Berger, M. M. (2005) Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clin. Nutr.* **24**: 172-183.
 29. Sun, Y. (1990) Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis. *Free Radic. Biol. Med.* **8**: 583-599.
 30. Bokov, A., Chaudhuri, A. and Richardson, A. (2004) The role of oxidative damage and stress in aging. *Mech. Ageing Dev.* **125**: 811-826.
 31. Choi, H. N., Park, Y. H., Kim, J. H., Kang, M. J., Jeong, S. M., Kim, H. H. and Kim, J. I. (2011) Renoprotective and antioxidant effects of *Saururus chinensis* Baill in rats fed a high-fructose diet. *Nutr. Res. Pract.* **5**: 365-369.
 32. Lee, Y. J., Kim, J., Yi, J. M., Oh, S. M., Kim, N. S., Kim, H., Oh, D. S., Bang, O. S. and Lee, J. (2012) Anti-proliferative neolignans from *Saururus chinensis* against human cancer cell lines. *Biol. Pharm. Bull.* **35**: 1361-1366.
- (2017. 3. 14 접수; 2017. 3. 20 심사; 2017. 3. 22 게재확정)