

구증구포 맥문동 Ethyl acetate 분획물의 예쁜 꼬마선충 내의 항산화 효과

권강무¹ · 김준형² · 양재현³ · 기별희³ · 황인현¹ · 김대근^{1*}

¹우석대학교 약학과, ²우석대학교 식품생명공학과, ³아이나라

Antioxidant Activity of Ethyl acetate Fraction of the Guzeunggupo-processed *Platycodon grandiflorum* A. De Candolle roots in *Caenorhabditis elegans*

Kang Mu Kwon¹, Jun Hyeong Kim², Jae Heon Yang³, Byeolhui Ki³,
In Hyun Hwang¹, and Dae Keun Kim^{1*}

¹College of Pharmacy, Woosuk University, Wanju, Jeonbuk 55338, Korea

²Department of Food and Biotechnology, Woosuk University, Wanju, Jeonbuk 55338, Korea

³Ainara, Jeonju, Jeonbuk 54994, Korea

Abstract – Using the *Caenorhabditis elegans* model system, the antioxidant activity of methanol extract of the guzeunggupo-processed *Liriope platyphylla* F. T. Wang (Liliaceae) tuber was calculated. Between the methanol extracts of guzeunggupo-processed and non-processed *L. platyphylla* tuber, the processed *L. platyphylla* tuber showed higher DPPH radical scavenging effect than the non-processed one. The ethyl acetate soluble fraction of the methanol extract of the guzeunggupo-processed *L. platyphylla* tuber showed the best DPPH radical scavenging activity. The ethyl acetate fraction of the processed sample was measured for the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase, and oxidative stress tolerance by using *C. elegans* along with reactive oxygen species level. In addition, to verify the regulation of the stress response gene is responsible for the increased stress tolerance of *C. elegans* treated by the ethyl acetate fraction of the processed sample, SOD-3 expression was measured using a transgenic strain (CF1553). Consequently, the ethyl acetate fraction of the processed sample, increased SOD and catalase activities, and decreased ROS accumulation in a dose-dependent manner. Furthermore, the ethyl acetate fraction of the processed sample-treated CF1553 worm showed higher SOD-3::GFP intensity than the control worm.

Keywords – Guzeugupo-processed *Liriope platyphylla*, *Caenorhabditis elegans*, Antioxidant activity, SOD, Catalase

세포 내의 미토콘드리아에서 주로 생성되는 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)은 일정량의 낮은 수준에서는 세포 신호 전달에도 참여하고, 체내에서 발생하는 기형 세포나 조직, 노화 세포들을 제거하는 역할을 하며, 인체 면역반응에 관여하는 등 여러 생리적 과정에 매우 중요한 역할을 하고 있음이 인정되고 있다. 반면에 과도한 활성산소종의 생성은 DNA 변형, 지질과산화, 단백질 분해 등을 유도하여 세포를 파괴하고 산화적 스트레스를 유발하여 암, 파킨슨병, 알츠하이머병 등을 유발하는 것으로 보고되어 있다.¹⁻³⁾ 인체 내에서 생성되는 활성산소종에 의한 산화적 스트레스뿐만 아니라 주위 환경에서 접하는 각종 공해물질과

독성물질 등 인간에 의해 만들어지는 각종 오염물질은 활성산소종의 생성을 증가시키고 인체의 malondialdehyde, catalase, superoxide dismutase(SOD), glutathione(GSH)과 glutathione S-transferase(GST) 등의 항산화 시스템에 악영향을 끼쳐 항산화 능력의 결핍을 야기하게 되어 결과적으로 외부로부터 항산화제 공급이 필요하게 된다.^{4,5)} 이에 천연 항산화제로 카로테노이드, 토코페롤, 비타민 C, 폴리페놀 등이 주로 사용되고 있으며, 여전히 부작용이 작고 장기적으로 사용할 수 있는 유용한 천연 항산화제의 개발이 지속적으로 요구되고 있다.⁶⁾

맥문동(*Liriope platyphylla* F. T. Wang, Liliaceae)은 전통적으로 진해거담, 자양강장 등의 효능이있어 만성 기관지염, 만성 인후염이나 폐결핵 등의 호흡기 질환의 치료와 보호를 위해 사용되어 왔으며, 맥문동 추출물 등이 항산화, 항염증, 면

*교신저자(E-mail): dkkim@woosuk.ac.kr

(Tel): +82-63-290-1574

역조절, 항암 및 간보호 활성 등이 보고되어 있으며, 특히, 맥문동 뒤음 처리를 한 맥문동 열수 추출물이 하지 않은 것보다 DPPH radical 소거활성이 증가하여 항산화 효능이 더 높아짐을 보고하였다.⁷⁾

본 연구는 구증구포 맥문동 methanol 추출물을 용매로 계통분획하여 각 분획물에 대해 vitamin C를 대조군으로 하여 DPPH free radical 소거능 실험을 하여 가장 강한 소거능을 보인 ethyl acetate 분획물을 확보하여 이 분획에 대하여 항노화 실험모델로 잘 알려진 예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*)을 이용한 산화적 스트레스에 대한 저항 효능을 확인하였다. 또한 산화적 스트레스에 저항할 수 있는 단백질의 증가 여부를 확인하기 위하여 형질전환 mutant를 이용한 유전자 발현 증가 여부 실험을 통하여 몇가지 결과를 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에 사용한 맥문동은 시중에서 구입하여 김대근 교수가 검증한 후에 세절하여 사용하였으며, 표준품은 우석대학교 약학대학 생약표본실에 보관하고 있다 (WS-20-005). 구증구포 맥문동 제조는 맥문동을 2시간 증숙하고 10시간 건조기로 건조하는 과정을 각각 9번 시행하여 제조한 후 실험에 사용하였다.

추출 및 분획 - 맥문동과 구증구포한 맥문동 시료 각 50 g을 methanol로 진탕하면서 3시간씩 50°C에서 각각 2회 추출하였다. 그 추출액을 수욕상에서 감압농축하여 맥문동 methanol 엑스 약 11 g과 구증구포 맥문동 methanol 엑스 약 23 g을 각각 얻었다. 맥문동 methanol 엑스와 구증구포 맥문동 methanol 엑스를 DPPH radical 소거활성을 측정 한 후에 더 강한 소거활성을 보여준 구증구포 맥문동 methanol 엑스를 증류수로 현탁시켜 methylene chloride(0.2 g), ethyl acetate(0.3 g) 및 *n*-butanol(1.4 g)의 순으로 용매 분획하여 각각의 분획물을 확보하였다.

DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성⁸⁾ - 96 well plate에 시료를 ethanol로 각 농도별로 조제한 용액에 0.2 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)(ethanol)을 일정량씩 가하였다. 10초간 진탕한 후 25°C에서 30분간 방치한 후 microplate reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조약물은 L-ascorbic acid를 사용하였다. 항산화 효과는 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도와 비교하여 그래프로 나타내었다. 각 시료에 대한 DPPH radical 소거작용을 3회 반복하여 측정하였다.

예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*)의 배양⁹⁾ - *C. elegans*는 *E. coli* OP50를 도말한 Nematode Growth Medium (NGM) agar plate에 20°C에서 배양 되었다. 각 시료는 DMSO를 용매로 한 stock solution 상태로 멸균된 NGM plates(at

50°C)에 첨가하였다. 최종 DMSO 농도는 모든 상태에서 0.1%(v/v)를 유지하였다.

선충 체내의 항산화 효소(SOD, catalase) 활성 측정^{10,11)} - 시료를 농도별로 조제한 plate에 성장 단계가 동일한 N2 선충을 배양하였으며, 성체가 된 후 4일째에 선충을 모아 M9 buffer로 3회 세척 후 분쇄하여 효소 활성 측정에 사용하였다(homogenization buffer: 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, pH7.5). SOD 활성은 Ibrahim등의 방법을 응용하여 측정하였다. 먼저 10 mM phosphate buffer(pH 8.0)를 용매로 반응혼합물(1.6 mM xanthine과 0.48 mM NBT 0.49 mL)를 만든 뒤 농도별 시료 10 µL와 37°C에서 5분간 pre-incubation시켰다. 그 후 xanthine oxidase 100 µL (0.05 U/mL)을 첨가하고 37°C에서 20분 동안 incubation시킨 다음 69 mM SDS로 반응을 멈추고 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Catalase 활성은 Aebi의 방법을 응용하여 25 mM H₂O₂에 농도별 시료 50 µL를 3분 동안 반응시키고 240 nm에서 흡광도를 측정하였다.

선충 세포 내 활성산소종(ROS) 분석¹²⁾ - 선충 세포 내 활성 산소종은 2',7'-dichlorodihydro fluorescein diacetate (H₂DCF-DA)를 사용하여 측정하였다. 성장 단계가 동일한 선충을 농도별로 제조한 시료 plate에서 배양하였다. 성체가 된 후 4일째 50 µM juglone을 함유한 M9 buffer에 넣고 2 시간 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.

산화적 스트레스 저항성 측정¹³⁾ - 성장 단계가 동일한 선충을 각각의 농도별 plate에서 배양하였다(250, 500 µg/mL). 산화적 스트레스에 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 시료를 농도별로 제조된 배지에 넣어 배양하였다. 성체가 된 후 4일째에 사용하였으며, 선충은 sodium azide(4%)로 마취시켰고 GFP 발현은 형광 실체 현미경(Olympus, Japan)으로 관찰하였다. 발현강도를 정량, 분석하기 위해 현미경을 이용한 사진 촬영과 ImageJ 소프트웨어를 사용하여 분석하였으며, 모든 실험은 3회 반복하였다.

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

결 과

DPPH radical 소거능 - DPPH radical 소거능 분석은 실험에 사용된 시료의 DPPH radical 소거 활성을 평가하기 위해 수행되었다. 맥문동과 구증구포 맥문동 methanol 엑스의 DPPH radical 소거 효과는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 구증구포 맥문동 methanol 엑스가 맥문동 엑스보다 2배 이상 강한 DPPH radical 소거 효과를 보여 주었다. 구증구포 맥문동의 분획물 중에서는 methylene chloride 분획물(IC₅₀ value, 134.6 µg/mL)과 ethyl acetate 분획물(IC₅₀ value, 105.0 µg/mL)이 농도의존적으로 강한 항산화 활성을 나타내었으며, ethyl acetate 분획물이 조금 더 높은 활성을 보여주었다(Fig. 2).

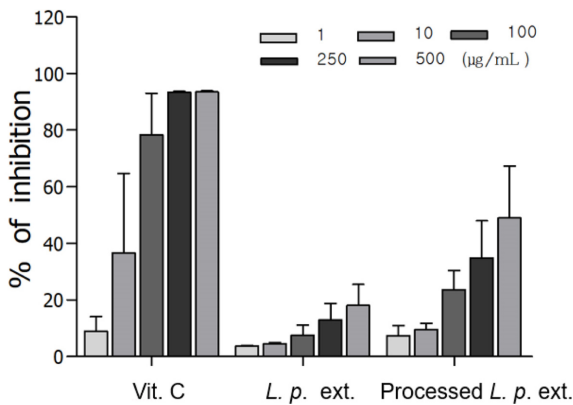


Fig. 1. DPPH radical scavenging effects of the methanol extracts from *L. platyphylla* and guzeunggupo-processed *L. platyphylla* tuber. *L. p.*: *Liriope platyphylla*.

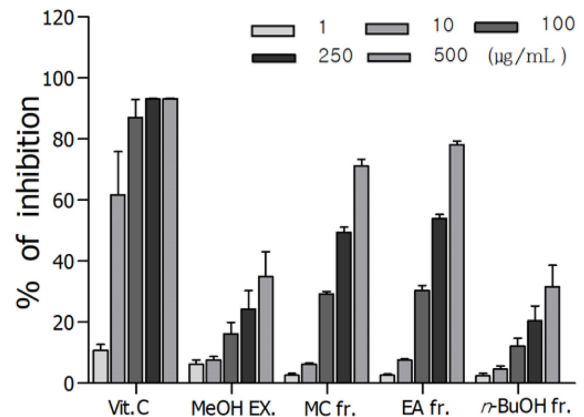


Fig. 2. DPPH radical scavenging effects of the methanol extract, and its fractions from the guzeunggupo-processed *L. platyphylla* tuber.

항산화 효소(SOD, Catalase) 활성 증가 효능 - Xanthine oxidase의 효소반응 과정 중에 생성되는 superoxide anion을 활용하여 SOD의 활성을 측정한 결과 Fig. 3A에서 나타난 바와 같이 예쁜꼬마선충의 구증구포 맥문동 ethyl acetate 분획물 투여군은 SOD의 활성을 농도의존적으로 증가시켰으며, ethyl acetate 분획 500 µg/mL 투여군은 대조군과 비교하여 SOD 활성을 약 30.2% 정도 증가시켰다(***p*<0.01). 활성산소종인 hydrogen peroxide를 체내에서 대사시키는 catalase의 활성은 Fig. 3B에서 나타난 바와 같이 ethyl acetate 분획 500 µg/mL 투여군이 대조군에 비해 catalase 활성을 약 28.5% 정도 증가시켰다(**p*<0.01)(Fig. 3).

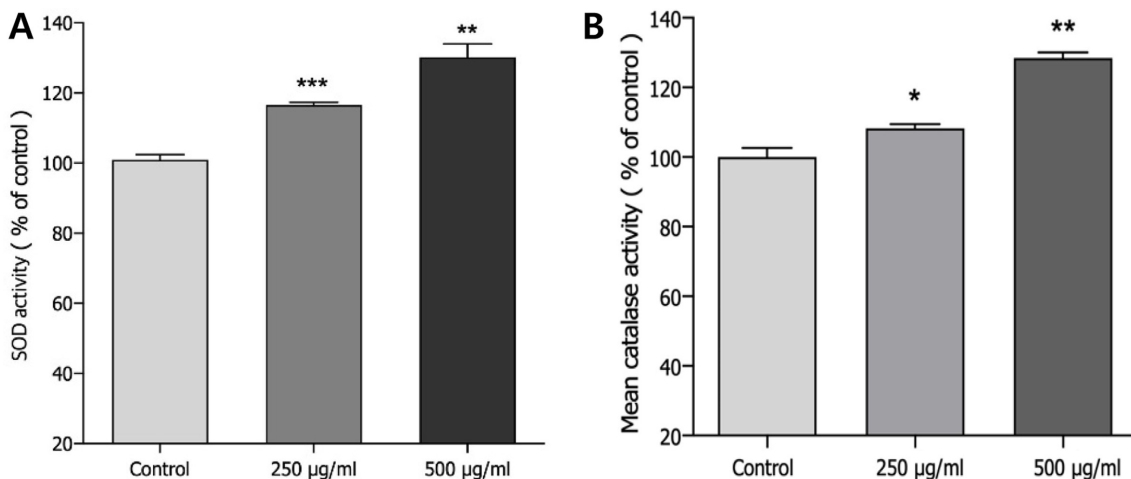


Fig. 3. Effects of ethyl acetate fraction of the guzeunggupo-processed *L. platyphylla* tuber on the antioxidant enzyme activity of wild-type N2 nematode. (A) The enzymatic reaction of xanthine with xanthine oxidase was used to generate •O₂⁻ and the SOD activity was estimated spectrophotometrically through formazan formation by NBT reduction. The SOD activity was showed as a percentage of superoxide-scavenged amount per control. (B) Catalase activity was calculated from the concentration of residual H₂O₂, as determined by a spectrophotometric method. The catalase activity was expressed in U/mg protein. Data are expressed as the mean ± S.E.M. of three independent experiments. Differences compared to the control were considered significant at **p*<0.05, ***p*<0.01 and ****p*<0.001 by one-way ANOVA.

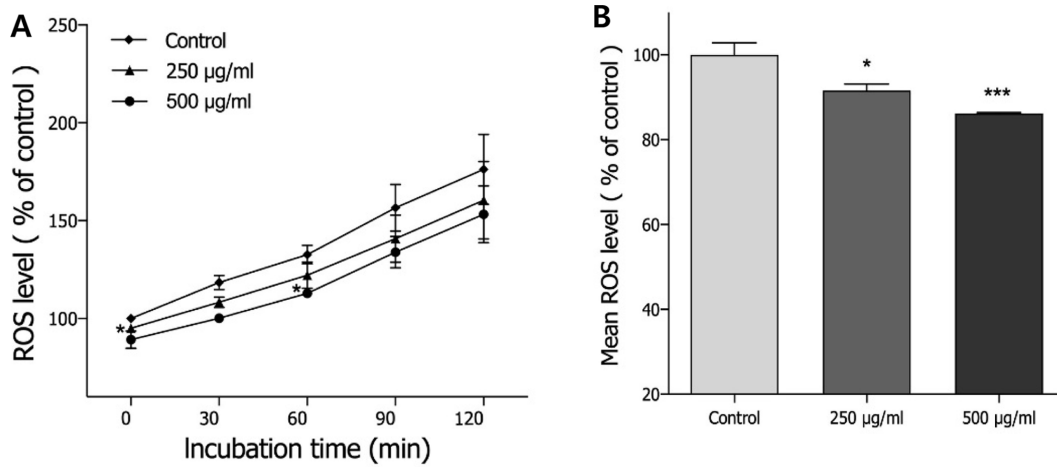


Fig. 4. Effects of ethyl acetate fraction of the guzenuggupo-processed *L. platyphylla* tuber on the intracellular ROS levels of wild-type N2 nematodes. Intracellular ROS accumulation was examined in a microplate fluorescence reader at 535 nm (emission) and 485 nm (excitation). (A) Plates were read for 120 min. (B) The average percentages of intracellular ROS accumulation were presented. Differences compared with the control were considered significant at * $p < 0.05$ and *** $p < 0.001$ by the one-way ANOVA.

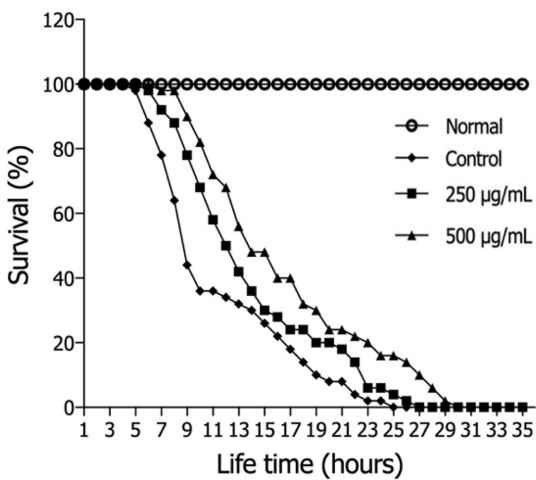


Fig. 5. Effects of ethyl acetate fractions of the guzenuggupo-processed *L. platyphylla* tuber on the stress tolerance of wild-type N2 nematodes. For the oxidative stress assays, worms were transferred to 96-well plate containing 1 mM of juglone liquid culture, and then their viability was scored. Statistical difference between the curves was analyzed by log-rank test.

활성 산소종(ROS) 감소 효능 - 구증구포 맥문동 ethyl acetate 분획의 농도별 세포 내 활성 산소종의 감소 효능을 알아보기 위해 H₂DCF-DA와 선충 내부의 활성 산소종을 반응시켜 형광을 관찰하였다. 활성산소종 형광의 감소 폭은 대조군과 비교 하여 구증구포 맥문동 ethyl acetate 분획 500 µg/mL 투여군에서 평균 약 13.8% (** $p < 0.001$) 활성산소종을 감소시키는 것으로 확인되었다(Fig. 4).

산화적 스트레스 저항성 증가 효능 - 구증구포 맥문동 ethyl acetate 분획을 juglone으로 산화적 스트레스를 유도한 선충의 생존율에 미치는 영향 평가실험에서 분획을 처리하지 않은 대조군 선충의 최고 생존시간은 25시간이었으나, ethyl acetate 분획 500 µg/mL 농도에서는 생존시간을 30시간으로 증가시켰다. 대조군의 평균 생존시간이 11.5±0.7시간이었으나 500 µg/mL 농도 처리군은 평균 생존 시간을 16.6±0.9시간으로 44.3%의 생존 시간을 향상시켰다 (** $p < 0.001$)(Fig. 5, Table I).

형질 전환 선충 내 SOD-3의 발현 증가 효능 - 구증구포 맥문동 ethyl acetate 분획의 선충 내에서 산화적 스트레

Table. I. Effects of ethyl acetate fraction of the guzenuggupo-processed *L. platyphylla* tuber on the oxidative stress tolerance of *C. elegans*

Stress condition	Fraction	Mean lifespan (h)	Maximum lifespan (h)	Change in mean lifespan (%)	Log-rank test
1 mM Juglone	Control	11.5 ± 0.7	25	-	-
	250 µg/mL	14.1 ± 0.8	27	22.6	* $p < 0.05$
	500 µg/mL	16.6 ± 0.8	30	44.3	*** $p < 0.001$

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 *** $p < 0.001$.

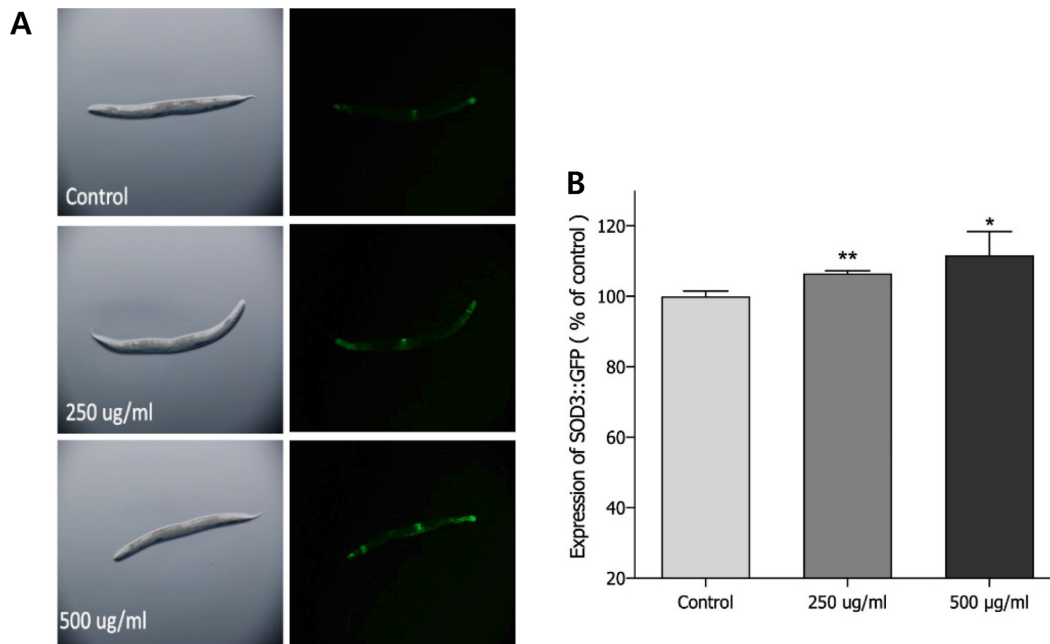


Fig. 6. Effect of ethyl acetate fraction of the guzenuggupo-processed *L. platyphylla* tuber on the expression of SOD-3 was determined using transgenic nematodes. (A) Images of SOD-3::GFP expression of CF1553 worm in the presence or absence of ethyl acetate fraction. (B) The mean GFP intensity of mutant 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. Data are expressed as the mean \pm standard deviation of three independent experiments. Differences compared with the control were considered significant at * p <0.05 and ** p <0.01 by one-way ANOVA.

스에 저항하기 위한 단백질의 증가 여부를 확인하기 위해서 SOD발현 유전자의 증가 여부를 확인 하였다. SOD-3을 포함한 형질 전환 선충 CF1553을 사용하여 실험한 결과 CF1553 형질전환 선충에 구증구포 맥문동 ethyl acetate 분획 500 µg/mL 처리군이 처리되지 않은 선충에 비해 높은 SOD-3::GFP 발현율(11.7%, * p <0.05)을 보여 주었다(Fig. 6).

고 찰

예쁜꼬마선충은 길이 1-2 mm, 너비 50 µm 내외 크기의 투명한 토양 선충으로 박테리아를 먹이로 하며, 실험실에서는 *E. coli*를 먹이로 2-3주의 평균수명을 보인다. 수명이 짧으면서 다루기 편하고 번식률이 높으며, 몸 전체가 투명하기 때문에 염료를 사용하지 않고 현미경으로 관찰하기 쉬운 현재 다양한 생체 활성 연구에 널리 응용되고 있으며, 특히 인간의 수명연장과 관련된 각종 질환 연구를 하기 위한 연구의 모델이 많이 확보되어 연구에 이용되고 있다.^{14,15} 본 연구는 맥문동과 구증구포 처리한 맥문동 methanol 추출물의 DPPH radical 소거활성을 비교한 후 구증구포 맥문동의 추출물이 더 높은 DPPH radical 소거활성을 나타내는 것을 확인하고 구증구포 맥문동 추출물의 용매분획을 시도하였다. 구증구포 맥문동 추출물 분획 중 ethyl acetate 분획이 가장 강한

활성을 보여 주어 예쁜꼬마선충을 모델로 사용하여 구증구포 맥문동 ethyl acetate 분획에 대한 선충 내의 항산화 효과에 대한 실험을 하였다. 구증구포 맥문동 ethyl acetate 분획은 선충 내의 항산화 효소인 SOD 및 catalase의 활성을 농도의존적으로 높이는 것으로 확인되었으며, juglone 처리한 산화적 스트레스조건하에서는 선충 세포 내 활성산소종의 강한 축적 억제 효능을 나타내었다. 또한, 구증구포 맥문동 ethyl acetate 분획물 처리를 한 선충의 스트레스 저항능력에 미치는 영향을 확인하는 실험에서는 juglone으로 유도한 산화적 스트레스 조건하에서 대조군과 비교하여 분획물 처리군의 생존율이 농도 의존적으로 크게 증가하는 것이 확인되었다. 이와 관련하여 기전 연구의 하나로 mutant(GFP-fused transgenic strain CF1553)를 이용하여 산화적 스트레스 저항성 단백질 발현 여부를 확인하는 실험에서는 SOD-3::GFP발현량의 증가를 나타내는 형광이 상당히 증가함이 확인되어 산화적 스트레스에 저항할 수 있는 단백질의 발현이 증가되었음이 확인되었다.

인체 내의 미토콘드리아에서 세포 호흡을 비롯하여 오염 물질, 과식, 세포 손상 등에 의해 발생하는 과잉의 활성산소종은 인체 내의 항산화 방어 시스템에 의해 모두 제거되지 못하고 생물체 내에 산화적 스트레스를 야기시켜 염증을 비롯한 각종 노화 관련 질환을 일으키는 원인으로 보고 되고

있다.¹⁶⁾ 구증구포 맥문동 ethyl acetate 분획물은 선충 체내의 SOD나 catalase 등의 항산화 효소의 활성을 증가시켰으며, 활성산소종의 축적을 억제하고 산화적 스트레스에 대한 저항력을 높여 주었는데 이는 선충의 수명연장이나 노화 지연에 영향을 미칠 수 있을 것으로 추측된다.¹⁷⁾ 기존의 맥문동에서 분리된 물질의 활성 연구로 ophiopogonin B, D, ophiopogone 및 steroid saponin 등의 항암, 항염증 관련 효능이 보고되어 있는데, 이러한 물질들이 선충의 항산화 활성 및 스트레스 저항능력에 영향을 주는 것으로 추정된다.¹⁸⁻²¹⁾ 추후에 구증구포 맥문동 ethyl acetate 분획물에 대한 물질 분리 및 단일 물질 수준에서의 예쁜꼬마선충 내의 항산화 활성 연구 및 기전 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

구증구포 맥문동 ethyl acetate 분획은 DPPH free radical 소거활성을 보여주었으며, 예쁜꼬마선충을 이용한 항산화 실험에서는 SOD 및 catalase의 활성을 농도 의존적으로 높이는 것을 확인하였다. 선충 세포 내의 활성산소종의 발생을 농도 의존적으로 감소시켰으며, juglone 투여로 인한 산화적 스트레스 조건하에서는 선충의 생존율을 농도 의존적으로 증가시켰다. 이와 관련하여 mutant인 GFP-fused transgenic strain CF1553을 이용한 산화적 스트레스 저항성 단백질 발현 실험에서는 산화적 스트레스에 저항성이 있는 단백질 발현이 증가되었음을 확인하였다. 이러한 결과는 구증구포 맥문동 ethyl acetate 분획은 항산화 및 이와 관련된 질병의 예방 및 치료를 위한 자원으로서의 가치가 있을 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 2021년도 우석대학교 LINC+사업단(2021년 산학공동기술개발과제 지원사업)의 지원을 받아 수행된 연구로 이에 감사 드립니다.

인용문헌

- Yang, S. and Lian, G. (2020) ROS and diseases: role in metabolism and energy supply. *Mol. Cell Biochem.* **467**: 1-12.
- Scialò, F., Fernández-Ayala, D. J. and Sanz, A. (2017) Role of mitochondrial reverse electron transport in ROS signaling: Potential roles in health and disease. *Front. Physiol.* **8**: 428.
- Kim, I., Lee, J. and Jeong, Y. (2018) Antioxidant activities of *Rumex crispus* L. root extracts and fractions. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **47**: 1234-1241.
- Moniruzzaman, M., Ghosal, I., Das, D. and Chakraborty, S. B. (2018) Melatonin ameliorates H₂O₂-induced oxidative stress through modulation of Erk/Akt/NFκB pathway. *Biol. Res.* **51**: 17.
- Eftekhari, A., Dizaj, S. M., Chodari, L., Sunar, S., Hasanzadeh, A., Ahmadian, E. and Hasanzadeh, M. (2018) The promising future of nano-antioxidant therapy against environmental pollutants induced-toxicities. *Biomed. Pharmacother.* **103**: 1018-1027.
- Heś, M., Dziedzic, K., Górecka, D., Jędrusek-Golińska, A. and Gujska, E. (2019) *Aloe vera* (L.) Webb.: Natural sources of antioxidants - A review. *Plant Foods Hum. Nutr.* **74**: 255-265.
- Kang, M.-J., Kim, D.-W., Kang, J.-R. and Shin, J.-H. (2018) Effect of roasting time on physicochemical characteristics and antioxidant activity of hot water extracts of dried *Liriope platyphylla*. *Korean J. Food Preserv.* **25**: 246-254.
- 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.
- Brenner, S. (1974) The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **77**: 71-94.
- 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.
- Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* **105**: 121-126.
- 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.
- 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.
- Kobet, R. A., Pan, X., Zhang, B., Pak, S. C., Asch, A. S. and Lee, M.-H. (2014) *Caenorhabditis elegans*: A model system for anti-cancer drug discovery and therapeutic target identification. *Biomol. Ther.* **22**: 371-383.
- Luo, S., Jiang, X., Jia, L., Tan, C., Li, M., Yang, Q., Du, Y. and Ding, C. (2019) In vivo and in vitro antioxidant activities of methanol extracts from olive leaves on *Caenorhabditis elegans*. *Molecules* **704**: 1-14.
- Stefanatos, R. and Sanz, A. (2018) The role of mitochondrial ROS in the aging brain. *FEBS Lett.* **592**: 743-758.
- Alugoju, P., VKD, K. S. and Periyasamy, L. (2018) Effect of short-term quercetin, caloric restriction and combined treatment on age-related oxidative stress markers in the rat cerebral cortex. *CNS Neurol Disord. Drug Targets* **17**: 119-131.

18. Gao, G. Y., Ma, J., Lu, P., Jiang, X. and Chang, C. (2018) Ophiopogonin B induces the autophagy and apoptosis of colon cancer cells by activating JNK/c-Jun signaling pathway. *Biomed. Pharmacother.* **108**: 1208-1215.
19. Zhu, X., Wang, K. and Chen, Y. (2020) Ophiopogonin D suppresses TGF-beta1-mediated metastatic behavior of MDA-MB-231 breast carcinoma cells via regulating ITGB1/FAK/Src/AKT/beta-catenin/MMP-9 signaling axis. *Toxicol. In Vitro* **69**: 104973.
20. Li, N., Zhang, J. Y., Zeng, K. W., Zhang, L., Che, Y. Y., Tu, P. F. (2012) Anti-inflammatory homoisoflavonoids from the tuberous roots of *Ophiopogon japonicus*. *Fitoterapia* **83**: 1042-1045.
21. Baek, N.-I., Cho, S.-J., Bang, M.-H., Lee, I., Park, C., Kim, M., Kim K. and Sung, J. (1998) Cytotoxicity of steroid-saponins from the tuber of *Liriope platyphylla* W. T. *Appl. Biol. Chem.* **41**: 390-394.

(2021. 8. 20 접수; 2021. 8. 27 심사; 2021. 9. 2 게재확정)