

씀바귀 Ethyl acetate 분획물의 예쁜 꼬마선충 내의 항산화 효과

최지우¹ · 김준형¹ · 권강무² · 황인현² · 주남진³ · 김대근^{2*}

¹우석대학교 식품생명공학과, ²우석대학교 약학과, ³(주)엔제이컴퍼니

Antioxidant Activity of Ethyl acetate Fraction of *Ixeris dentata* (Thunb.) Nakai in *Caenorhabditis elegans*

Ji Woo Choi¹, Jun Hyeong Kim¹, Kang Mu Kwon², In Hyun Hwang²,
Nam Jin Ju³, and Dae Keun Kim^{2*}

¹Department of Food and Biotechnology, Woosuk University, Wanju, Jeonbuk 55338, Korea

²Department of Pharmacy, Woosuk University, Wanju, Jeonbuk 55338, Korea

³Doam-Gil 26, Seongsan, Gunsan, Jeonbuk 54046, Korea

Abstract – Through the *Caenorhabditis elegans* model system, the antioxidant activity of methanol extract of *Ixeis dentata* was investigated. The ethyl acetate soluble fraction of the *I. dentata* methanol extract showed the best DPPH radical scavenging activity. The ethyl acetate fraction was measured for the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase, and oxidative stress tolerance by using *C. elegans* along with reactive oxygen species (ROS) level. In addition, to confirm that the regulation of the stress response gene is responsible for the increased stress tolerance of *C. elegans* treated by the ethyl acetate fraction, SOD-3 expression was measured using a transgenic strain (CF1553). As a result, the ethyl acetate fraction increased SOD and catalase activity, and decreased ROS accumulation in a dose-dependent manner. In addition, the ethyl acetate fraction-treated CF1553 worm showed higher SOD-3::GFP intensity than the control worm.

Keywords – *Ixeis dentata*, *Caenorhabditis elegans*, Antioxidant activity, Catalase, SOD

활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 인체 내에서 산소가 산화 과정을 거쳐 생성되며 지질, 핵산, 단백질 등을 손상시키며 그들의 기능을 변화시킬 수 있는 것으로 알려져 있다. 세포 손상과 더불어 노화가 촉진되며, 면역력 약화, 염증성 질환 등과 관련된 다양한 질병을 초래할 수 있고, 암을 비롯한 고혈압, 동맥경화, 뇌졸중 등의 활성산소와 관련된 질병이 발생한다고 보고되고 있다.^{1,2)} 인체는 내인성 대사 또는 외부 환경으로부터 유도된 과도한 활성산소종을 제거하기 위하여 catalase, superoxide dismutase(SOD), peroxiredoxin(PRX), glutathione peroxidase(GPX) 및 glutathione S-transferase(GST)와 같은 항산화 효소를 가지고 있다.³⁾ 그러나 이러한 효소들만으로는 유해한 활성산소를 충분히 제거하기에 부족하므로 추가적인 안전한 항산화 물질이 필요하다. 이에 비타민 C, 비타민 E, 베타 카로틴 등의 천연 항산화 물질들이 사용되고 있으며, 이와 더불어 천연

식물 자원을 이용하여 활성 산소종으로부터 체내 조직 손상을 보호하기 위한 천연 생리활성 물질을 개발하려는 다양한 연구가 진행되고 있다.⁴⁾

씀바귀(*Ixeis dentata*, Compositae)는 국내에 두루 자생하는 식물로 예로부터 민간에서 쓴맛에의한 건위, 소화불량에 등에 사용되어 왔으며, 썸바귀 뿌리에 대해서는 항암, 혈당저하, 항산화 효능 등이 보고되어 있고, 함유 물질로 flavonoid, sesquiterpene, triterpenoid 등이 보고되어 있다.⁵⁾ 본 연구는 국내 자생 천연물 중에서 항산화 및 항노화 활성을 갖는 물질을 찾는 과정에서 썸바귀 methanol 추출물이 우수한 DPPH radical 소거활성을 나타내는 것을 확인하여 예쁜꼬마선충을 이용하여 *in vivo* 상황에서 항산화 능력을 확인하기 위해 실험을 진행하였다. 썸바귀 methanol 추출물을 용매로 계통분획하여 각 분획물에 대해 vitamin C를 대조군으로 하여 DPPH free radical 소거능 실험을 하여 가장 강한 소거능을 보인 ethyl acetate 분획물을 확보한 후 이 분획에 대하여 수명연장 실험모델로 잘 알려진 예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*)을 이용한 산화적 스트레스에 대한

*교신저자(E-mail): dkkim@woosuk.ac.kr

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

저항 효능을 확인하였으며,⁶⁾ 또한 산화적 스트레스에 저항할 수 있는 단백질의 증가 여부를 확인하기 위하여 형질전환 mutant를 이용한 유전자 발현 증가 여부 실험을 실시하여 몇가지 결과를 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에 사용한 씀바귀는 전초를 2022년 8월에 완주군에서 채집 후 김대근 교수가 검증한 후에 음건세절하여 사용하였으며, 표준품은 우석대학교 약학대학 생약표본실에 보관하고 있다(WS-22-007).

추출 및 분획 - 씀바귀를 음건세절 후 얻은 시료 95 g을 methanol로 진탕하면서 5시간씩 50°C에서 2회 온침 추출하였다. 그 추출액을 수욕상에서 감압농축하여 methanol 엑스 약 21 g을 얻었으며, 이 methanol 엑스에 증류수로 현탁시키고 상법에 따라 동량의 *n*-hexane(5.3 g), methylene chloride(2.2 g), ethyl acetate(0.7 g) 및 *n*-butanol(3.5 g)의 순으로 용매 분획하여 각각의 분획물을 얻었다.

DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성⁷⁾ - 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 측정하였으며, 대조약물로 L-ascorbic acid를 사용하였다. 각 시료에 대한 DPPH radical 소거작용을 3회 반복하여 측정하였다.

예쁜꼬마선충(Caenorhabditis elegans)의 배양⁸⁾ - *C. elegans*는 *E. coli* OP50를 도말한 Nematode Growth Medium (NGM) agar plate에 20°C에서 배양되었다. DMSO에 용해한 씀바귀 분획물을 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^{9,10)} - 시료를 농도별로 조제한 plate에 성장 단계가 동일한 N2 선충을 배양하였다. 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) 분석¹¹⁾ - 선충 세포 내 활성 산소종은 2',7'-dichlorodihydro fluorescein diacetate (H₂DCF-DA)를 사용하여 측정하였다. 성장 단계가 동일한 선충을 시료를 농도별로 제조한 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.

산화적 스트레스 저항성 측정¹²⁾ - 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(4%)로 마취시켰고 GFP 발현은 형광 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 표시 하였다. 그룹간의 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 - DPPH radical 소거능 분석은 실험에서 사용된 시료의 DPPH radical 소거 활성을 평가하기 위해 수행되었다. 씀바귀 분획물 중에서, DPPH radical 소거 효과는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 분획물들 중 ethyl acetate층(IC₅₀ value, 46.9 µg/mL)이 가장 좋은 효과를 보여주었다(비타민 C, IC₅₀ value, 6.9 µg/mL).

항산화 효소(SOD, Catalase) 활성 증가 효능 - Xanthine을 기질로 xanthine oxidase의 효소반응 과정 중에 생성되는 superoxide anion을 활용하여 SOD의 활성을 측정한 결과 Fig. 2A에서 나타난 바와 같이 예쁜꼬마선충의 씀바귀 ethyl acetate 분획물 투여군은 SOD의 활성을 농도의존적으로 증가시켰으며, ethyl acetate 분획 500 µg/mL 투여군은 대조군과 비교 하여 SOD 활성을 약 23.7% 정도 증가시켰

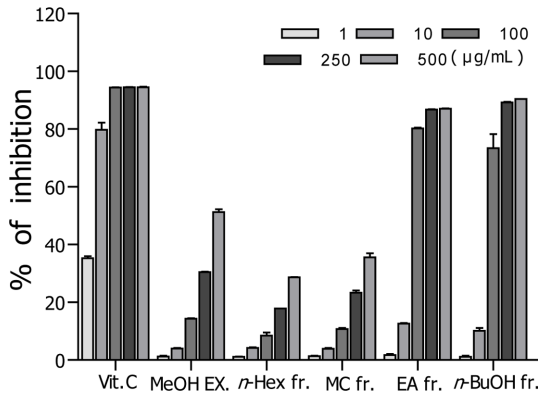


Fig. 1. DPPH radical scavenging effects of the methanol extract, and its fractions from *I. dentata*.

다(** $p < 0.001$). 강력한 반응성을 가진 활성산소종인 hydrogen peroxide를 체내에서 대사시키는 catalase의 활성은 Fig. 2B에서 나타난 바와 같이 ethyl acetate 분획 500 µg/mL 투여군이 대조군에 비해 catalase 활성을 약 34.8% 정도 증가시켰다(** $p < 0.001$)(Fig. 2).

활성 산소종(ROS) 감소 효능 - 썸바귀 ethyl acetate 분획의 세포 내 활성 산소종의 감소 효능을 알아보기 위해 H₂DCF-DA와 선충 내부의 활성 산소종을 반응시켜 형광을 관찰하였다. 활성산소종 형광의 감소폭은 대조군과 비교 하여 썸바귀 ethyl acetate 분획 500 µg/mL 투여군에서 평균 약 14.2%(** $p < 0.01$) 활성산소종을 감소시키는 것으로 확인되었다(Fig. 3).

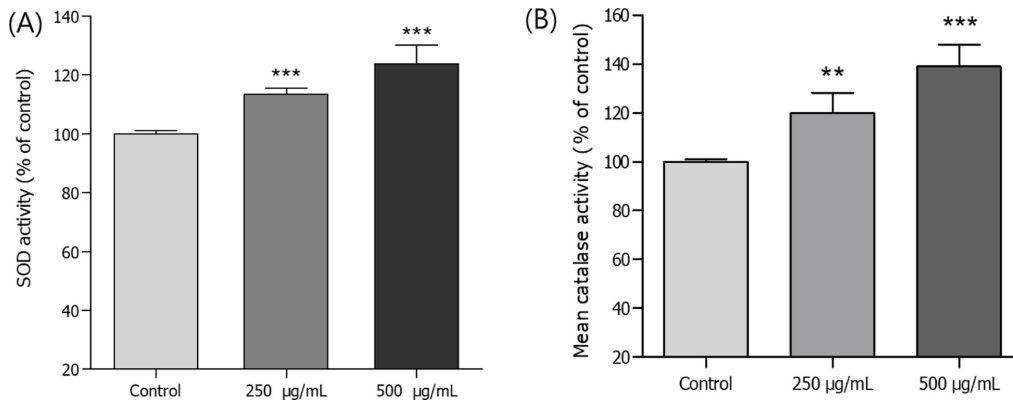


Fig. 2. Effects of ethyl acetate fraction of *I. dentata* on the antioxidant enzyme activity of wild-type N2 nematode. (A) The enzymatic reaction of xanthine with xanthine oxidase was used to generate $\cdot O_2^-$ and the SOD activity was estimated spectrophotometrically through formazan formation by 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 \pm S.E.M. of three independent experiments. Differences compared to the control were considered significant at ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ by one-way ANOVA.

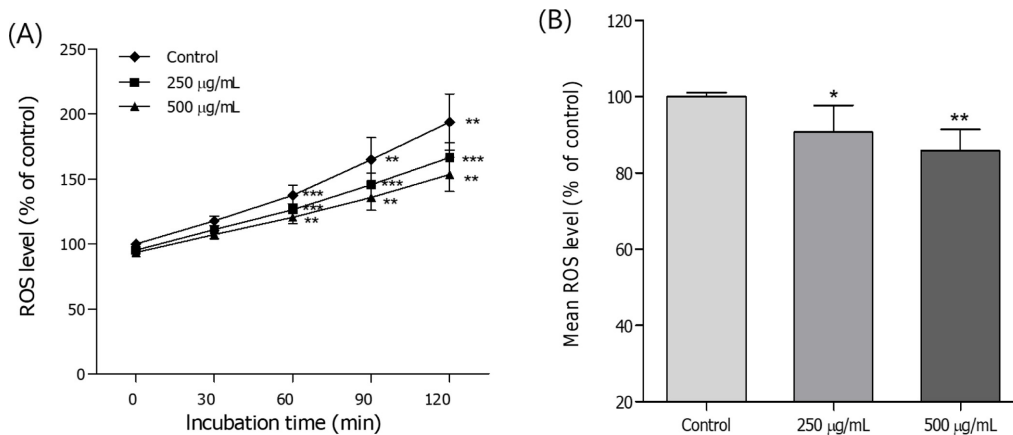


Fig. 3. Effects of ethyl acetate fraction of the *I. dentata* on the intracellular ROS levels of wild-type N2 nematodes. Intracellular ROS accumulation was examined in a microplate fluorescence reader at 535 nm (emission) and 485 nm (excitation). (A) Plates were read for 120 min. (B) The average percentages of intracellular ROS accumulation were presented. Differences compared with the control were considered significant at * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ by the one-way ANOVA.

Table I. Effects of ethyl acetate fraction of *Ixeis dentata* 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	21.7 ± 1.6	36	-	-
	250 µg/mL	24.1 ± 1.8	40	11.1	-
	500 µg/mL	28.3 ± 1.6	43	30.4	*** <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. Difference compared to the control was considered significant at ****p*<0.001.

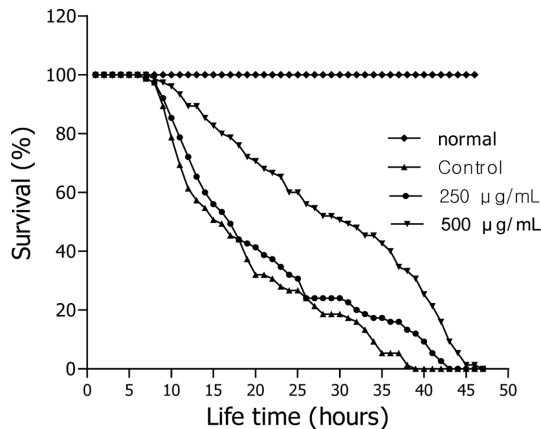


Fig. 4. Effects of ethyl acetate fractions of *I. dentata* on the stress tolerance of wild-type N2 nematodes. For the oxidative stress assays, worms were transferred to 96-well plate containing 1 mM of juglone liquid culture, and then their viability was scored. Statistical difference between the curves was analyzed by log-rank test.

산화적 스트레스 저항성 증가 효능 – 씬바귀 ethyl acetate 분획의 juglone으로 산화적 스트레스를 유도한 선충의 생존율에 미치는 영향 평가실험에서 분획을 처리하지 않은

대조군 선충의 최고 생존시간은 36시간이었으나, ethyl acetate 분획 500 µg/mL 농도에서는 생존시간을 43시간으로 증가시켰다. 대조군의 평균 생존시간이 21.7±1.6시간이었으나 500 µg/mL 농도 처리군은 평균 생존 시간을 28.3±1.6시간으로 30.4%의 생존 시간을 향상시켰다(****p*<0.001)(Fig. 4, Table I).

형질 전환 선충 내 SOD-3의 발현 증가 효능 – 씬바귀 ethyl acetate 분획의 선충 내에서 oxidative stress에 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 ethyl acetate 분획의 500 µg/mL 처리군이 처리되지 않은 선충에 비해 높은 SOD-3::GFP 발현율(32.9%, ****p*<0.001)을 보여 주었다(Fig. 5A, 5B).

고 찰

본 연구에서는 완전한 계놈 시퀀싱이 수행되어 유전 경로가 확보되고 인간의 노화 연구모델로도 많이 사용되고 있는 예쁜꼬마선충을 모델로 사용하여 씬바귀 ethyl acetate 분획물에

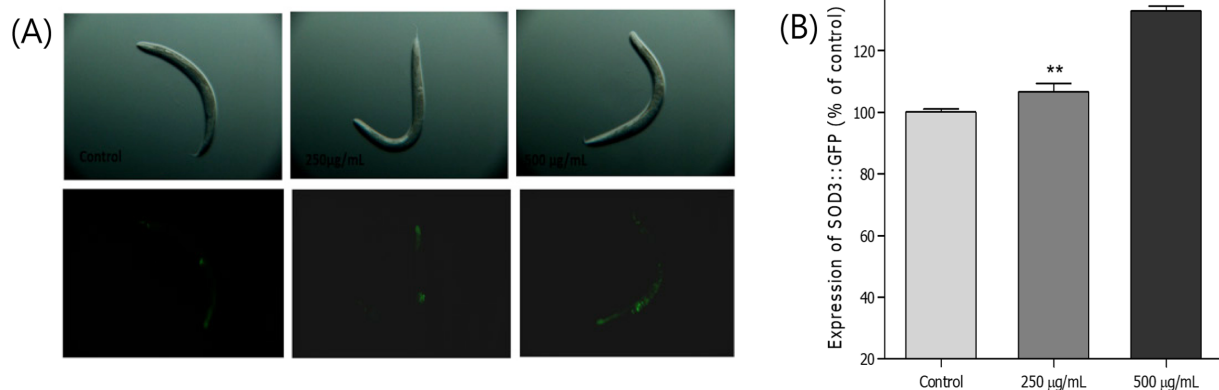


Fig. 5. Effect of ethyl acetate fraction of *I. dentata* on the expression of SOD-3 was determined using transgenic nematodes. (A) Images of SOD-3::GFP expression of CF1553 worm in the presence or absence of ethyl acetate fraction. (B) The mean GFP intensity of mutant was represented as mean ± S.E.M. 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 ± standard deviation of three independent experiments. Differences compared with the control were considered significant at ***p*<0.01 and ****p*<0.001 by one-way ANOVA.

대한 선충 내의 항산화 효과에 대한 실험을 하였다.^{13,14)}

씀바귀 methanol 추출물의 분획물의 DPPH radical 소거 활성시험에서, ethyl acetate 분획이 가장 강한 소거활성을 보여 주었다. Ethyl acetate 분획은 선충 내의 항산화 효소인 SOD 및 catalase의 활성을 높이는 것으로 확인되었으며, juglone로 처리하여 산화적 스트레스를 유도한 선충의 세포 내 활성 산소종의 수치를 확인한 결과 상당한 활성 산소종(ROS)의 축적억제 효능을 나타내었다. Juglone을 처리한 후 ethyl acetate 분획 처리가 선충의 stress 저항능력에 미치는 영향을 확인한 결과 oxidative stress 조건하에서 대조군과 비교하여 생존율이 농도 의존적으로 상당히 증가하는 것이 확인되었다. 이와 관련하여, mutant(GFP-fused transgenic strain CL2070)를 이용하여 oxidative stress 저항성 단백질 발현 여부를 확인하는 실험에서는 형광 발현율이 상당히 증가함이 확인되어 oxidative stress에 저항할 수 있는 단백질의 발현이 증가되었음을 확인되었다.

기존의 보고에 따르면 적당한 양의 활성 산소종은 항종양 유도 신호전달을 촉진하여 종양세포의 사멸을 초래하여 항암효과를 나타낼 수 있으나 활성 산소종의 필요 이상의 증가는 다양한 암의 생존과 증식을 향상시켜 DNA 손상 및 유전적 불안정성을 유발할 수 있다고 보고되어 있다.¹⁵⁾ 썸바귀 ethyl acetate 분획은 선충 체내의 SOD나 catalase 등의 항산화 효소의 활성을 증가시키며, 활성 산소종의 축적을 억제하고 스트레스에 대한 저항력을 높여 주므로 선충의 수명연장이나 노화지연에 영향을 미칠 수 있을 것으로 추측된다.¹⁶⁾ 이러한 결과는 기존에 보고된 썸바귀의 항산화효과, 항염증효과, 암세포 성장 저해효과 등과 잘 부합되는 결과이며,^{5,17,18)} 썸바귀에서 보고된 luteolin, cynaroside, apigenin 7-O-glucuronide와 같은 flavonoid 성분 등이¹⁹⁾ 이러한 선충의 항산화 활성 및 스트레스 저항능력에 영향을 줄 것으로 생각된다. 앞으로 썸바귀의 활성물질에 대한 물질의 분리와 구조확인 및 단일 물질 수준에서의 예쁜꼬마선충 내의 항산화 활성 연구 및 그 기전에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

씀바귀 ethyl acetate 분획은 DPPH free radical 소거실험에서 강한 항산화력을 나타냈으며, 예쁜꼬마선충을 이용한 항산화 실험에서는 SOD 및 catalase의 활성을 농도 의존적으로 높이는 것을 확인하였다. 선충 세포 내의 ROS의 발생을 농도 의존적으로 감소시켰으며, juglone 투여로 유도한 산화적 스트레스 조건에서는 선충의 생존율을 농도 의존적으로 증가시켰다. 이와 관련하여 mutant인 GFP-fused transgenic strain CL2070을 이용한 산화적 스트레스 저항 단백질 발현 실험에서는 산화적 스트레스에 저항성이 있는 형광을 띤 단

백질의 발현이 증가되었음이 확인되었다. 이러한 결과를 볼 때 썸바귀 ethyl acetate 분획은 항산화 및 이와 관련된 질병의 예방 및 치료를 위한 천연자원으로서의 가치가 충분히 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 논문은 교육부와 한국연구재단의 재원으로 지원을 받아 수행된 3단계 산학연협력 선도대학 육성사업(LINC3.0)의 연구결과입니다.

인용문헌

- Jelic, M. D., Mandic, A. D., Maricic, S. M. and Srdjenovic, B. U. (2021) Oxidative stress and its role in cancer. *J. Cancer Res. Ther.* **17**: 22-28.
- Lee, J. H., Yoon, Y. C., Kim, J. K., Park, Y. E., Whang, H. S., Kwon, G. S. and Lee, J. B. (2018) Antioxidant and whitening effects of the fermentation of barley seeds (*Hordeum vulgare* L.) using lactic acid bacteria. *J. Life Sci.* **28**: 444-453.
- Galasso, M., Gambino, S., Romanelli, M. G., Donadelli, M. and Scupoli, M. T. (2021) Browsing the oldest antioxidant enzyme: catalase and its multiple regulation in cancer. *Free Radic. Biol. Med.* **172**: 264-272.
- Liu, Z. Q. (2022) Why natural antioxidants are readily recognized by biological systems? 3D architecture plays a role! *Food Chem.* **380**: 132143.
- Oh, H.-K. (2020) Antioxidant and anti-inflammatory activities of different parts of *Ixeris dentata* according to extract methods. *Journal of the Korean Applied Science and Technology* **37**: 1567-1574.
- Durán, B. A., Manzano, S. G., Sánchez, I. G., Arribas, M. V. M., Bartolomé, B., Buenhombre, M. S., Guadarrama, A., Buelga, C. S. and Paramás, A. M. G. (2019) Antioxidant characterization and biological effects of grape pomace extracts supplementation in *Caenorhabditis elegans*. *Foods* **75**: 1-14.
- 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.

11. 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.
12. 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.
13. Durán, B. A., Manzano, S. G., Sánchez, I. G., Arribas, M. V. M., Bartolomé, B., Buenhombre, M. S., Guadarrama, A., Buelga, C. S. and Paramás, A. M. G. (2019) Antioxidant characterization and biological effects of grape pomace extracts supplementation in *Caenorhabditis elegans*. *Foods* **75**: 1-14.
14. 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.
15. Moloney, J. N. and Cotter, T. G. (2018) ROS signalling in the biology of cancer. *Semin. Cell Dev. Biol.* **80**: 50-64.
16. Dilberger, B., Baumanns, S., Schmitt, F., Schmiedl, T., Hardt, M., Wenzel, U. and Eckert, G. P. (2019) Mitochondrial oxidative stress impairs energy metabolism and reduces stress resistance and longevity of *C. elegans*. *Oxid. Med. Cell Longev.* **2019**: 6840540.
17. Lee, E. (2011) Effects of *Ixeris dentata* ext. on lowering lipid and anti-oxidation. *Korean Journal of Plant Resources* **24**: 55-60.
18. Kim, S.-H. (1995) Inhibitory effects of *Ixeris dentata* on the mutagenicity of aflatoxin B1, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and the growth of MG-63 human osteosarcoma cells. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **24**: 305-312.
19. Young, H.-S., Im, K.-S. and Choi, J.-S. (1992) The pharmacological study on the plant of *Ixeris* spp. 2. Flavonoids and free amino acid composition of *Ixeris sonchifolia*. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **21**: 296-301.

(2022. 12. 7 접수; 2022. 12. 13 심사;
2022. 12. 16 게재확정)