

## 방동사니대거리 에틸아세테이트 분획물의 예쁜꼬마선충 내의 항산화 효과

최지우<sup>1</sup> · 박상연<sup>1</sup> · 김주애<sup>1</sup> · 이호진<sup>1</sup> · 김준형<sup>2</sup> · 황인현<sup>1,3</sup> · 김대근<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>우석대학교 약학과, <sup>2</sup>우석대학교 식품영양학과, <sup>3</sup>종합약학연구소

### Antioxidant Effect of Ethyl acetate Fraction of *Cyperus sanguinolentus* Vahl in *Caenorhabditis elegans*

Ji Woo Choi<sup>1</sup>, Sangyeon Park<sup>1</sup>, Juae Kim<sup>1</sup>, Hojin Lee<sup>1</sup>, Jun Hyeong Kim<sup>2</sup>,  
In Hyun Hwang<sup>1,3</sup>, and Dae Keun Kim<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonbuk 55338, Korea

<sup>2</sup>Department of Food and Biotechnology, Woosuk University, Jeonbuk 55338, Korea

<sup>3</sup>Research Institute of Pharmaceutical Sciences, Woosuk University, Jeonbuk 55338, Korea

**Abstract** – In the process of finding antioxidants from native plants in Korea, the ethyl acetate fraction of *Cyperus sanguinolentus* Vahl (Cyperaceae) methanol extract was observed to have a strong scavenging effect on DPPH radicals. Superoxide dismutase (SOD), catalase, and oxidative stress resistance were measured using model system in combination with reactive oxygen species (ROS) levels in the ethyl acetate fraction of *Cyperus sanguinolentus* (EACS). In addition, to determine whether EACS-treated *C. elegans* produced resistance proteins to oxidative stress, we checked SOD-3 expression using transformant strain CF1553. As a result, the EACS increased SOD and catalase activity and reduced ROS accumulation in a dose-dependent manner. And, the CF1553 nematodes treated with EACS showed higher SOD-3::GFP intensity than the control group.

**Keywords** – *Cyperus sanguinolentus*, *Caenorhabditis elegans*, Antioxidant activity, SOD, Catalase ROS, SOD-3::GFP

인간은 나이가 들어감에 따라 세포손상이 누적되고 내외부의 스트레스에 대한 반응이 약화되면서 전신적인 염증과 산화적 스트레스로 나타나면서 세포의 노화가 촉진된다. 세포는 증식이 점차 멈춰지면서 기능장애를 일으키고 염증성 물질, 활성 산소 중간체(reactive oxygen intermediates)들이 방출된다. 자유 라디칼(free radical)과 같은 과도한 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)은 DNA를 비롯한 지질, 단백질과 같은 생체 분자를 손상시키며 암, 알츠하이머병, 파킨슨병, 당뇨병, 죽상동맥경화증 등과 같은 다양한 수명과 노화와 관련된 질병을 야기하는 원인이 된다.<sup>1-3</sup> 인체 내에서 과잉의 자유 라디칼은 불안정한 짝을 이루지 않은 전자 구조로 인해 생체 분자로부터 전자를 빼앗아 산화적 손상이나 노화를 초래하므로 자유 라디칼의 생성을 억제하거나 제거할 수 있는 항산화제가 필요하다. 산화적 스트레스나 노화

방지 목적으로 사용되는 항산화제는 생체 내 안전성과 효과가 합성 폐놀계 항산화제에 비해 비교적 안전한 것으로 생각되는 천연 항산화제의 연구가 지속적으로 이루어지고 있으며, 지금까지 천연에서 산화적 손상과 관련된 많은 질병을 효과적으로 개선할 가능성이 있는 다양한 구조나 항산화 작용 메커니즘을 가진 천연 항산화 성분이 분리되어 보고되고 있다.<sup>3-5</sup> 인체 내에서는 superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase와 같은 항산화 시스템이 준비되어 있지만 과잉으로 생성되는 ROS를 제거하기 위해서는 인체를 보호할 수 있는 안전한 항산화제의 발굴이 지속적으로 필요하며, 식용이나 약용으로 사용되고 있는 천연물은 좋은 연구재료가 될 수 있다.<sup>5,6</sup>

방동사니대거리(*Cyperus sanguinolentus*)은 사초과(Cyperaceae) 식물로 논둑, 들판, 밭둑 등에 발생하는 일년생 잡초로 전국에서 자생하며 약용식물로서의 효능은 보고되어 있지 않으며, 한국내 사초과의 방동사니속 식물이 18종이 보고되어 있다.<sup>7,8</sup> Cyperus속 식물의 전통적으로 위장 및 호흡기 질환,

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

혈액 장애, 생리 불규칙성 및 염증성 질환 등 다양한 질환에 사용되고 있으며,  $\alpha$ -cyperone,  $\alpha$ -corymbolol, caryophyllene oxide, germacrene D,  $\alpha$ -pinene, cyperotundone, mustakone과 zierone과 같은 화합물을 함유하고 있는 것으로 보고되어 있고, 이들의 추출물은 항산화, 항염증, 항균, 항암, 신경 보호, 항관절염, 항비만, 기관지 확장 및 에스트로겐 유사효과 등의 효능이 있는 것으로 보고되어 있다.<sup>9)</sup> Cyperus속 식물 중에 한국 등 동양에서 전통적으로 약용되고 있는 것은 향부자(*C. rotundus*)로 진통, 소염, 이뇨, 통경제로 사용되어 왔으며, 함유 화합물로 cyperene, cyperol, cyperotundone, kobusine 등의 sesquiterpene 등이 보고되어 있다.<sup>10)</sup>

본 연구는 천연물에서 항노화와 관련된 항산화 활성이 우수한 물질을 찾는 중에 방동사니대거리의 예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*)에 대한 항산화 효능을 측정하는 연구 내용으로 방동사니대거리의 methanol 추출물과 용매 분획물을 얻고 그 중 DPPH radical 소거 활성이 가장 강한 ethyl acetate 분획을 예쁜꼬마선충 내의 catalase, SOD 활성에 미치는 영향, 산화적 스트레스에 대한 저항 능력과 ROS 축적에 미치는 영향을 실험하였으며<sup>11)</sup> 산화적 스트레스에 극복하는 선충 내의 단백질의 생성 여부를 확인할 수 있는 형질전환 선충인 CF1553을 이용하여 측정하는 결과 및 가지 결과를 얻었으므로 이를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - 실험에 사용한 방동사니대거리는 전북 완주군에서 채집하여 김대근 교수가 검증한 후에 음건세절하여 실험에 사용하였으며, 표준품은 우석대학교 약학과 생약표본실에 보관하고 있다(WS-24-004).

**추출 및 분획** - 잘 건조하여 음건세절한 방동사니대거리 370 g을 50°C에서 methanol로 5시간씩 2회 추출하였다. Methanol 추출액을 50°C 수욕상에서 감압농축하여 methanol 엑스 약 40 g을 얻었다. 이 methanol 엑스를 증류수로 현탁한 후 *n*-hexane (3.6 g), methylene chloride (1.3 g), ethyl acetate (0.7 g)과 *n*-butanol (4.5 g)으로 분획하고 농축하여 각각의 추출물을 확보하였다.

**DPPH free radical 소거능 측정** - Ethanol을 이용하여 농도별로 조제된 각 시료를 96 well plate에 분주하고, 여기에 0.2 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ethanol 용액을 일정량씩 가한 다음 10초간 진탕한 후 25°C에서 30분간 반응시키고 microplate reader로 흡광도(517 nm)를 측정하였다. Control로는 vitamin C를 사용하였다.<sup>12)</sup>

**예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*) 배양** - 예쁜꼬마선충은 20°C에서 *E. coli* OP50를 도말한 Nematode Growth Medium (NGM) agar plate상에서 배양하여 실험에 사용하였으며, DMSO에 용해한 방동사니대거리 시료를 NGM

plate에 첨가하였고, DMSO 최종 농도는 0.1% (v/v)를 유지하였다.<sup>13)</sup>

**선충 체내의 SOD, catalase 효소 활성 측정** - 방동사니대거리 시료를 농도별로 조제한 plate상에 N2 선충을 배양하였으며, 성체가 된 2일째에 M9 buffer로 세척하고 선충을 분쇄한 후 각 효소의 활성을 측정하였다(homogenization buffer: 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, pH 7.5). SOD 활성은 10 mM phosphate buffer (pH 8.0)를 용매로 반응 혼합물(1.6 mM xanthine과 0.48 mM NBT 0.49 mL)을 만든 뒤 시료 10  $\mu$ L를 가한 뒤 37°C에서 5분간 pre-incubation시켰다. 여기에 xanthine oxidase 100  $\mu$ L (0.05 U/mL)를 첨가하고 37°C에서 20분 동안 incubation시킨 다음 69 mM SDS로 반응을 멈춘다음 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.<sup>14)</sup> Catalase 활성은 25 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 방동사니대거리의 농도별 시료 50  $\mu$ L씩을 3분 동안 반응시키고 240 nm에서 흡광도를 측정하였다.<sup>15)</sup>

**선충 세포 내 활성 산소종(ROS) 분석** - 선충 세포 내의 변화된 ROS의 양은 2',7'-dichlorodihydro fluorescein diacetate (H<sub>2</sub>DCF-DA)를 사용하여 측정하였고, 방동사니대거리 시료를 농도별 첨가한 plate에 성장 단계가 동일한 선충을 배양하여 성체가 된 후 4일째되는 선충을 50  $\mu$ M juglone을 함유한 M9 buffer에 넣고 2시간 노출시킨 후 M9 buffer가 50  $\mu$ L씩 담긴 96 well plate에 3마리씩 옮기고, 100  $\mu$ M의 H<sub>2</sub>DCF-DA 50  $\mu$ L를 첨가한 뒤 흡광도를 여기 485 nm, 방출 535 nm에서 각각 측정하였다.<sup>16)</sup>

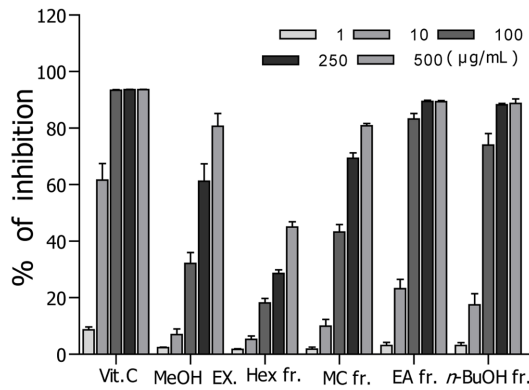
**산화적 스트레스 저항성 측정** - 예쁜꼬마선충이 성체가 된 후 7일째에 선충을 산화적 스트레스를 유발시키는 1 mM juglone이 함유된 M9 buffer가 담긴 96 well plate에 옮기고 시간 별로 생존율을 확인하였다.<sup>17)</sup>

**형질 전환 선충 내 SOD-3::GFP 형광 측정** - 형질 전환된 SOD-3::GFP 유전자를 포함하는 선충 CF1553을 방동사니대거리 시료가 농도별로 투여된 배지에서 배양하였다. 성체가 된 후 3일째에 선충을 sodium azide (4%)로 마취시켰고 발현된 GFP를 형광 실체 현미경(Olympus, Japan)으로 관찰하였으며, 발현강도의 정량분석은 현미경을 이용한 사진 촬영과 ImageJ 소프트웨어를 사용하였다.<sup>18)</sup>

**통계 분석** - 통계 자료의 값은 평균값  $\pm$  표준오차(mean  $\pm$  S.E.M.)로 표시하였고, 그룹 간의 통계적 유의성 검정은 Student's t-test를 통해서 분석하였으며, 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

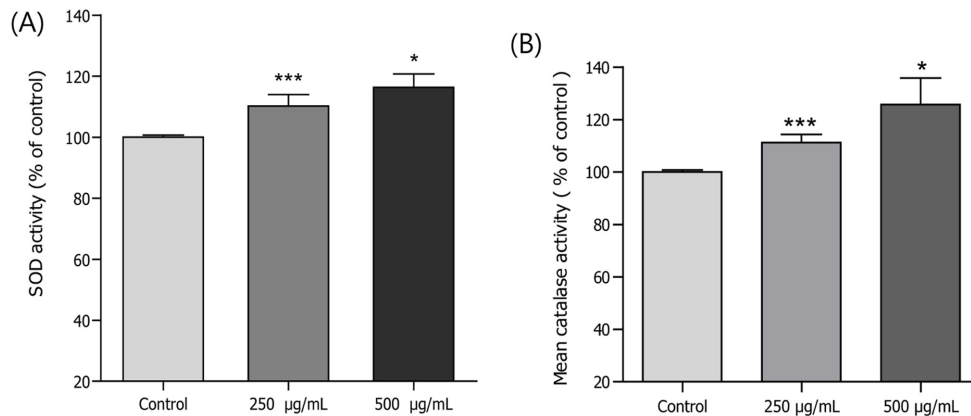
**DPPH radical 소거 효과** - 방동사니대거리의 methanol 엑스와 이들 용매 계통분획물의 DPPH radical 소거 효과는



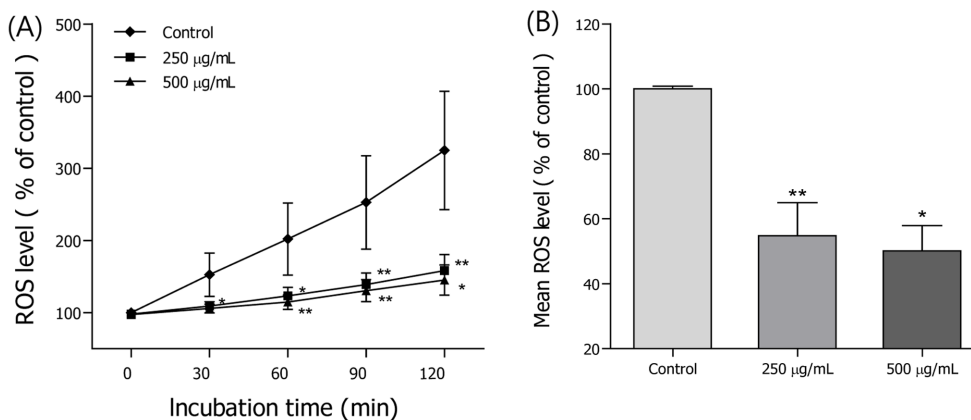
**Fig. 1.** DPPH radical scavenging effects of the methanol extract and its fractions from the *C. sanguinolentus*.

Fig. 1에 나타난 바와 같이 ethyl acetate 분획물(EACS, IC<sub>50</sub> value, 28.5 µg/mL)이 모두 가장 좋은 radical 소거 효과를 나타냈다(vitamin C, IC<sub>50</sub> value, 6.9 µg/mL) (Fig. 1).

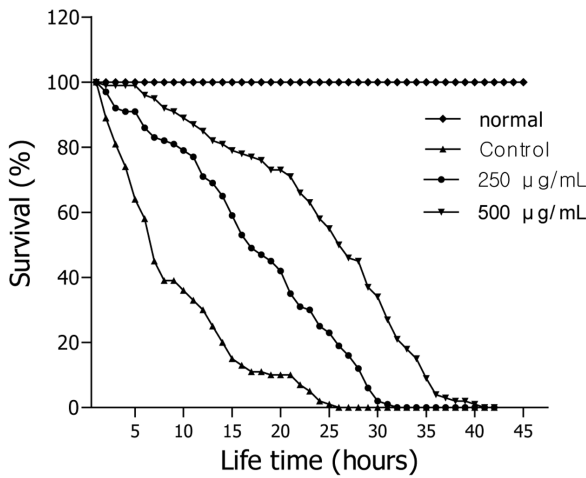
**SOD, Catalase 효소 활성 증가 효과** – 방동사니대가리 EACS 분획물의 xanthine oxidase의 효소반응을 이용한 SOD의 활성을 측정한 결과 SOD의 활성을 농도의존적으로 증가시켰다. 방동사니대가리 EACS 250 µg/mL, EACS 500 µg/mL 투여군은 대조군에 비해 SOD 활성을 각각 10.0% (\*\**p*<0.001), 16.3% (\**p*<0.05)를 증가시켰다. 활성산소종인 hydrogen peroxide를 대사시키는 catalase의 활성은 방동사니대가리 EACS 250 µg/mL, EACS 500 µg/mL 투여군이 대조군에 비해 각각 11.2% (\*\**p*<0.001), 25.7% (\**p*<0.05)를 증가시켰다(Fig. 2).



**Fig. 2.** Effects of ethyl acetate fraction of the *C. sanguinolentus* on the antioxidant enzyme activity of wild-type N2 nematode. (A) The enzymatic reaction of xanthine with xanthine oxidase was used to generate •O<sub>2</sub><sup>-</sup> 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 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 and \*\*\**p*<0.001 by one-way ANOVA.



**Fig. 3.** Effects of ethyl acetate fraction of the *C. sanguinolentus* 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*<0.01 by the one-way ANOVA.



**Fig. 4.** Effects of ethyl acetate fraction of the *C. sanguinolentus* 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.

**ROS 축적 감소 효과** – 방동사니대加里 EACS의 세포 내 ROS의 감소 효능은 H<sub>2</sub>DCF-DA와 선충 내부의 활성 산소종을

반응시켜 형성된 형광을 관찰하는 것으로, 형광의 감소폭은 대조군과 비교하여 방동사니대加里 EACS 250 µg/mL, 500 µg/mL 투여군에서 각각 45.2% (\*\**p*<0.01), 49.9% (\**p*<0.05)를 감소시켰다(Fig. 3).

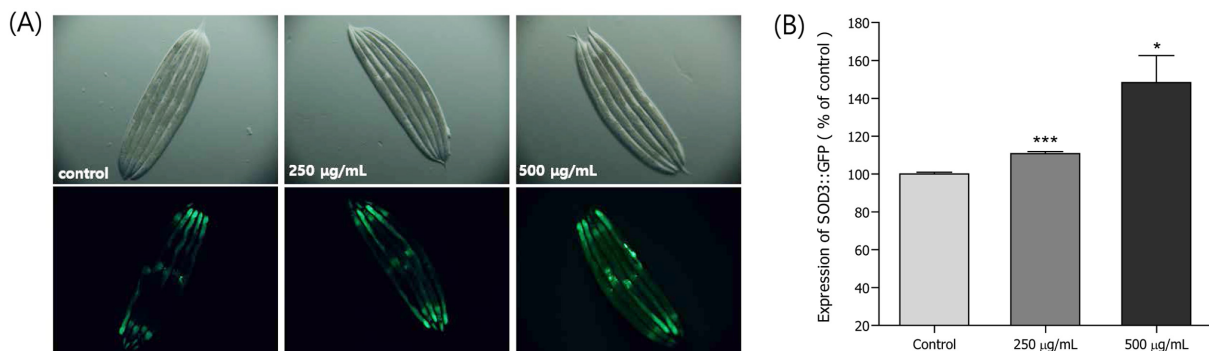
**산화적 스트레스 저항성 증가 효능** – 방동사니대加里 EACS의 산화적 스트레스에 미치는 영향 평가에서 EACS를 처리하지 않은 대조군 선충의 최고 생존시간은 26시간이었으나, 방동사니대加里 EACS 250 µg/mL, 500 µg/mL 농도에서 생존시간을 각각 32시간 및 41시간으로 증가시켰다. 대조군의 평균 생존 시간이 19.6±0.8시간이었으나 250 µg/mL, 500 µg/mL 농도 처리군은 각각 24.3±1.0시간(23.2%, \**p*<0.05), 30.3±1.0시간(52.5%)의 생존 시간을 향상시켰다(\*\**p*<0.001) (Fig. 4, Table I).

**형질 전환 선충 내 SOD-3의 발현 증가 효과** – 방동사니대加里 EACS의 선충 내의 산화적 스트레스에 대하여 저항 단백질의 증가 여부를 판별하기 위해 SOD-3을 포함한 형질 전환된 선충 CF1553을 사용하였다. CF1553에 방동사니대加里 EACS 250 µg/mL, 500 µg/mL 처리군이 대조군에 비해 각각 10.8% (\*\**p*<0.001), 48.3% (\**p*<0.05)의 증가된 SOD-3::GFP 발현효과를 보여 주었다(Fig. 5A, 5B).

**Table I.** Effects of ethyl acetate fraction of *C. sanguinolentus* 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	19.6 ± 0.8	26	-	-
	250 µg/mL	24.3 ± 1.0	32	23.2	* <i>p</i> <0.05
	500 µg/mL	30.3 ± 1.0	41	52.5	** <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*<0.05 and \*\**p*<0.001.



**Fig. 5.** Effect of ethyl acetate fraction of the *C. sanguinolentus* 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*<0.05 and \*\**p*<0.001 by one-way ANOVA.

## 고찰

예쁜꼬마선충은 항노화 물질의 검색 시험에 유리한 연구 모델로, 이는 크기가 작으며 몸이 투명하고 수명이 짧으면서 생식능이 왕성하여 자손 생산량이 많고 배양조건이 아주 간단하기 때문이다. 나이가 예쁜꼬마선충은 사람의 노화와 관련된 유전자를 갖고 있으며 유사한 노화 관련 퇴행적 변화를 보여 주고 있고, 천연 항산화제가 선충 내에서 다양한 항산화 및 항노화 관련 여러 생리적 지표를 확인할 수 있는 기전을 확인할 수 있는 장점을 갖고 있다.<sup>19)</sup> 본 연구는 예쁜꼬마선충을 이용하여 국내 자생하는 방동사니대거리의 methanol 추출물에 대해 항산화 효과 실험을 진행하여 방동사니대거리의 methanol 추출물 분획물들 중 ethyl acetate 분획물(EACS)의 강한 DPPH radical 소거활성 활성을 확인하고 이 EACS의 예쁜꼬마선충 내의 항산화 실험을 진행하였다. EACS는 선충 내에 존재하는 항산화 효소인 SOD, catalase의 활성을 유의성 있게 높여 주었고, 선충 체내의 ROS 농도를 농도 의존적으로 유의성 있게 억제함이 관찰되었다. 또한, juglone으로 유도한 산화적 스트레스 연구에서는 EACS를 처리한 실험군에서 대조군에 비해 농도 의존적으로 생존율이 크게 증가시켜 유의성 있는 산화적 스트레스 억제 효과를 보여 주었다. 산화적 스트레스를 가할 때 이에 저항하는 단백질 발현여부를 확인하는 실험에서는 mutant 선충인 CF1553 (GFP-fused transgenic strain CF1553)을 이용하였으며, 산화적 스트레스를 가할 때 mutant 내의 형광의 발현이 크게 증가되어 스트레스 저항 단백질이 생성되었음을 확인할 수 있었다.<sup>18)</sup>

미토콘드리아의 산소의 산화 환원 과정 중에 산소의 불완전한 이용의 결과로 야기되는 ROS나 RNS와 같은 라디칼은 세포 성장, 세포 분화, 신호 전달 등에 중요한 역할을 하나 과잉의 농도에서는 세포 손상을 일으키고 암, 심혈관 질환, 당뇨병, 신경 퇴행성 질환 등 각종 노화 관련 질병의 원인이 된다.<sup>20)</sup> EACS는 예쁜꼬마선충 내의 catalase나 SOD의 활성을 유의성 있게 높여 주었고, 세포 손상의 원인이 되는 ROS의 농도를 낮추었으며, 산화적 스트레스에 대한 저항력을 갖는 단백질을 생산하여 선충의 항산화 능력을 향상시켜 수명연장에 영향을 미칠 것으로 판단된다.<sup>21)</sup> 이러한 결과는 방동사니대거리의 EACS에 함유된 phenolic 화합물들이 선충의 항산화 활성 효능 및 스트레스 저항능 향상에 영향을 주는 원인일 것으로 생각된다. 추후에 EACS에서의 항산화, 항노화 활성을 갖는 단일 물질의 정제 및 이들 물질에서의 항산화 기전에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 결론

방동사니대거리의 ethyl acetate 분획물은 높은 DPPH free radical 소거활성을 보여 주었으며, 예쁜꼬마선충 내의 SOD

및 catalase의 항산화 효소들의 활성을 농도 의존적으로 높여 주었다. 활성산소종을 농도 의존적으로 감소시켰고, 산화적 스트레스 조건에서 예쁜꼬마선충의 생존율을 증가시켰다. 돌연변이 선충인 CF1553에 산화적 스트레스를 가하고 방동사니대거리의 ethyl acetate 분획물을 처리한 결과 형광 발현율의 상승이 확인되어 산화적 스트레스에 저항할 수 있는 단백질이 증가되었음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과로 볼 때 방동사니대거리의 ethyl acetate 분획물은 항산화 및 수명과 관련된 질병의 예방이나 치료에 도움이 될 수 있는 자원으로써 개발할 가치가 있을 것으로 판단된다.

## 인용문헌

- Asyakina, L., Atuchin, V., Drozdova, M., Kozlova, O. and Prosekov, A. (2022) Ex vivo and in vitro antiaging and antioxidant activity of the *Amelanchier ovalis* from Siberia. *Int. J. Mol. Sci.* **23**: 15156.
- Halliwell, B. (2024) Understanding mechanisms of antioxidant action in health and disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **25**: 13-33.
- Lin, Y., Lin, C., Cao, Y. and Chen, Y. (2023) *Caenorhabditis elegans* as an in vivo model for the identification of natural antioxidants with anti-aging actions. *Biomed. Pharmacother.* **167**: 115594.
- Hernández-Cruz, E. Y., Eugenio-Pérez, D., Ramírez-Magaña, K. J. and Pedraza-Chaverri, J. (2023) Effects of vegetal extracts and metabolites against oxidative stress and associated diseases: Studies in *Caenorhabditis elegans*. *ACS Omega* **8**: 8936-8959.
- Rangsinth, P., Prasansuklab, A., Duangjan, C., Gu, X., Meemon, K., Wink, M. and Tencomnao, T. (2019) Leaf extract of *Caesalpinia mimosoides* enhances oxidative stress resistance and prolongs lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *BMC Complement Altern. Med.* **19**: 164.
- Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M. and Alves, V. D. (2019) Antioxidants of natural plant origins: from sources to food industry applications. *Molecules* **24**: 4132.
- Lee, I.-Y., Kim, C.-S., Lee, J., Park, M.-I. and Park, J.-E. (2013) The occurrence of the weeds on the lawn and the effective control system. *Weed Turf. Sci.* **2**: 111-121.
- Jung, J., Ryu, Y. and Choi, H.-K. (2016) Molecular phylogeny and divergence of photosynthetic pathways of Korean Cyperaceae (Cyperaceae). *Korean J. Pl. Taxon.* **46**: 314-325.
- Taheri, Y., Herrera-Bravo, J., Huala, L., Salazar, L. A., Sharifi-Rad, J., Akram, M., Shahzad, K., Melgar-Lalanne, G., Baghalpou, N., Tamimi, K., Mahroo-Bakhtiyari, J., Kregiel, D., Dey, A., Kumar, M., Suleria H. A. R., Cruz-Martins, N. and Cho, W. C. (2021) *Cyperus* spp.: A review on phytochemical composition, biological activity, and health-promoting effects. *Oxid. Med. Cell Longev.* **2021**: 4014867.
- Kim, S. K., Hwang, B. Y., Kang, S. J., Lee, J. J., Ro, J. S. and

- Lee, K. S. (2000) Chemical components of *Cyrtus rotundus* L. and inhibitory effects on nitric oxide production. *Kor. J. Pharmacogn.* **31**: 1-6.
11. 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.
  12. 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.
  13. Brenner, S. (1974) The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **77**: 71-94.
  14. 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.
  15. Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* **105**: 121-126.
  16. 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.
  17. 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.
  18. Waters, J. C. (2009) Accuracy and precision in quantitative fluorescence microscopy. *J. Cell Biol.* **185**: 1135-1148.
  19. Lin, Y., Lin, C., Cao, Y. and Chen, Y. (2023) *Caenorhabditis elegans* as an in vivo model for the identification of natural antioxidants with anti-aging actions. *Biomed. Pharmacother.* **167**: 115594.
  20. Foglietta, F., Serpe, L. and Canaparo, R. (2023) ROS-generating nanoplatfoms as selective and tunable therapeutic weapons against cancer. *Discov. Nano* **18**: 151.
  21. Dilberger, B., Baumanns, S., Schmitt, F., Schmiendl, 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.
- (2025. 6. 17 접수; 2025. 6. 24 심사; 2025. 6. 25 게재확정)