

구증구포 마늘 Ethyl acetate 분획의 예쁜 꼬마선충 내의 항산화 효과

최지우¹ · 주남진² · 김대근^{1*}¹우석대학교 약학과, ²(주)엔제이메디칼

Antioxidant Activity of Ethyl acetate Fraction of the Guzeunggupo-processed *Allium sativum* L. in *Caenorhabditis elegans*

Ji Woo Choi¹, Nam Jin Ju², and Dae Keun Kim^{1*}¹Department of Pharmacy, Woosuk University, Wanju, Jeonbuk 55338, Korea²NJ Medical Inc., Doam-Gil 26, Seongsan, Gunsan, Jeonbuk 54046, Korea

Abstract – In an experiment that searched for antioxidant efficacy in Korean plants, the ethyl acetate fraction of guzeunggupo-processed *Allium sativum* L. was observed to have a strong scavenging effect on DPPH radicals. Using the *Caenorhabditis elegans* model system, the ethyl acetate fraction of guzeunggupo-processed *A. sativum* decreased reactive oxygen species (ROS) levels, while the oxidative stress resistance of superoxide dismutase (SOD) and catalase was enhanced. In addition, we found that the ethyl acetate fraction of guzeunggupo-processed *A. sativum* produced resistant proteins that resist oxidative stress using transgenic strain CF1553.

Keywords – Guzeunggupo-processed *Allium sativum* L., *Caenorhabditis elegans*, Antioxidant efficacy, SOD, Catalase, ROS

활성산소종(ROS)은 단백질, 지질, DNA를 산화시킬 수 있는 반응성이 높은 분자로 생리적 조건에서 ROS는 주로 호기성 대사 과정 중에 미토콘드리아에서 생성된다. 낮은 수준의 ROS는 세포 생존 메커니즘을 유발하는 신호로 작용할 수 있는 바람직한 역할을 하지만, 병리학적 조건에서는 과도한 ROS가 생성되고 세포 항상성을 방해하므로 생체 내에 심각한 산화 손상을 초래할 수 있다.¹⁾ 이와 같이 ROS가 약간 증가하면 세포 증식, 생존 및 양성 면역 반응이 향상되는 반면, 세포 항산화 능력을 압도하는 양의 ROS의 증가는 스트레스를 유발하여 핵산, 단백질 및 지질을 손상시켜 발암 돌연변이와 세포 사멸을 초래할 수 있다.²⁻⁴⁾ ROS 노출에 적응하기 위해 살아있는 세포는 ROS를 중화시키는 다양한 방어 메커니즘을 개발한다. 세포의 산화 환원 네트워크는 세포 대사, 에너지, 세포 생존 및 세포 사멸을 조절하는 신호 경로를 가지고 있는데, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT)와 glutathione peroxidase (GPX)는 다양한 세포 내에서 ROS를 제거하고 스트레스 상황에 대응하는 데 필요한 필수 항산화 효소이다.

비효소적인 산화 방어에 이용되는 것으로는 vitamin C, vitamin E, glutathione (GSH), polyphenols, carotenoids 등이 천연물에서 얻을 수 있는 유용한 항산화 물질들이다.⁵⁻⁷⁾ 산화와 항산화 사이의 균형은 건강한 생물학적 시스템을 유지하는 데 매우 중요한 것으로 여겨지나 우리의 체내의 항산화 방어 시스템만으로 과도한 ROS를 제거하기에는 불완전하기 때문에 산화 스트레스와 노화 관련 현상이나 질환 등을 예방하기 위한 또다른 항산화제에 대한 개발하기 위한 지속적인 노력과 생활환경의 개선, 식습관의 변화가 요구되고 있다.⁵⁻⁷⁾

마늘(*Allium sativum* L., Liliaceae)은 전 세계적으로 식용 및 다양한 질병에 대한 전통적인 치료제로 이용되는 독특한 향을 가진 초본 식물이다. 마늘은 전통적으로 당뇨병과 심혈관 질환의 위험을 줄이는 효능이 있으며, 면역 체계를 활성화시켜 항균, 항진균, 항노화 및 항암 활성이 있는 것으로 보고되어 있다.^{8,9)} 마늘은 alliin, allicin, ajoenes, vinylthiins과 황 함유 성분을 많이 함유하고 있으며, quercetin과 같은 flavonoid 성분도 함유하고 있고, 마늘 추출물에 대해서는 항암, 항산화, 항염증의 효능이 보고되어 있다.¹⁰⁾

본 연구는 국내 식물에서 항산화 활성 물질을 찾는 과정에서 마늘의 methanol 추출물이 우수한 항산화 효능을 나타내고

*교신저자(E-mail): dkkim@woosuk.ac.kr

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

마늘을 구증구포한 methanol 추출물이 우수한 DPPH radical 소거활성을 나타내어 구증구포한 마늘의 분획물을 제조하여 예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*) 모델을 이용하여 *in vivo* 상에서 항산화 효능을 연구한 내용이다. 구증구포의 장점은 항산화 성분 등의 증가로 인한 생리활성의 증가 및 구증구포 과정 중 발생하는 가수분해 등을 통한 배당체 물질들의 변화로 인한 소화 흡수가 용이해질 수 있는 특징이 있다.¹¹⁾ 마늘은 익히지 않았을 때 마늘 특유의 냄새와 위장 장애를 일으키는 경향이 있으므로 구증구포한 마늘 추출물을 이용하여 본 실험을 진행하였다. 마늘 methanol 추출물의 계통 분획물을 제조하여 가장 강한 DPPH radical 소거 활성을 보인 ethyl acetate 분획을 예쁜꼬마선충을 이용하여 항산화 효소인 SOD, catalase 활성에 미치는 영향, 산화 스트레스와 ROS 축적에 미치는 영향을 확인하였으며, 산화 스트레스를 이겨내는 저항단백의 생성 여부를 형광을 삽입한 돌연변이 선충인 CF1553을 이용하여 실험한 결과 몇 가지 효능을 확인하였기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 - 실험에 사용한 마늘은 시중에서 구입하여 김대근 교수가 검증한 후에 세척하여 물기를 말린 후 사용하였으며, 표준품은 우석대학교 약학대학 생약표본실에 보관하고 있다(WS-25-005). 구증구포 마늘은 국산 마늘을 2시간 증숙하고 2-10시간 건조기로 건조하는 과정을 9번 시행하여 실험에 사용하였다.

추출 및 분획 - 잘 건조한 구증구포 마늘 240 g을 50°C에서 methanol로 5시간씩 2회 추출하였다. 추출액을 수욕상에서 감압농축하여 methanol 엑스 약 27 g을 얻었으며, 증류수로 현탁하여 동량의 *n*-hexane (0.5 g), methylene chloride (0.6 g), ethyl acetate (0.5 g)과 *n*-butanol (5.6 g)으로 분획하여 각각의 분획물을 확보하였다.

DPPH free radical 소거능 측정 - 농도별로 조제한 각 시료를 96 well plate에 분주하여, 0.2 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ethanol 용액에 일정량씩 가하여 10초간 진탕하고 25°C에서 30분간 반응시켜서 517 nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하였고 대조군은 vitamin C로 하였다.¹²⁾

예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*) 배양 - 예쁜꼬마선충은 *E. coli* OP50를 도말하고 20°C에서 Nematode Growth Medium (NGM) agar plate상에서 배양하여 사용하였고, DMSO에 용해한 구증구포 마늘 시료를 0.1% (v/v)의 DMSO에 용해한 후 NGM plate에서 배양하였다.¹³⁾

선충 체내의 SOD, catalase 활성 측정 - 구증구포 마늘 시료를 농도별로 조제한 plate에 선충을 배양하였고, 성체가 된 2일째에 M9 buffer로 세척하고 선충을 분쇄한 후 효소의 활성을 측정하였다(buffer: 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl,

0.1 mM EDTA, pH 7.5). SOD 활성은 pH 8.0의 10 mM phosphate buffer를 용매로 하여 반응 혼합물(1.6 mM xanthine과 0.48 mM NBT 0.49 mL)을 제조하고 시료 10 µL를 가하여 37°C에서 5분간 pre-incubation시켰다. Xanthine oxidase 100 µL (0.05 U/mL)를 첨가한 후 37°C에서 20분 동안 incubation시킨 다음 69 mM SDS로 반응을 멈춘 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.¹⁴⁾ Catalase 활성은 25 mM H₂O₂에 농도별로 제조된 마늘 시료 50 µL씩을 가하여 3분 동안 반응시킨 후 240 nm에서 흡광도를 측정하였다.¹⁵⁾

선충 세포 내 활성 산소종(ROS) 분석 - 선충 내의 ROS의 양은 2',7'-dichlorodihydro fluorescein diacetate (H₂DCF-DA)를 사용하여 측정하였고, 마늘 시료를 농도별 첨가한 plate에 나아가 동일한 성체가 된 후 4일째 되는 선충을 50 µM juglone 함유 M9 buffer에 넣고 2시간 방치한 후 50 µL의 M9 buffer가 담긴 96 well plate에 3마리씩 옮기고, 100 µM의 H₂DCF-DA 50 µL를 첨가한 뒤 흡광도를 여기 485 nm, 방출 535 nm에서 측정하였다.¹⁶⁾

산화적 스트레스 저항성 측정 - 선충이 성체가 된 지 7일째에 선충을 산화 스트레스를 유도하는 1 mM juglone이 함유된 M9 buffer가 담긴 96 well plate에 옮기고 시간 별로 생존율을 확인하였다.¹⁷⁾

형질 전환 선충 내 SOD-3::GFP 형광 측정 - SOD-3::GFP 유전자를 가지고 있는 돌연변이 선충 CF1553을 구증구포 마늘 시료를 농도별로 투여된 배지에서 배양하였다. 성체가 된 후 3일째인 선충을 sodium azide (4%)로 마취시키고 발현된 GFP를 형광 실체 현미경(Olympus, Japan)을 이용하여 관찰하였으며, 발현강도의 정량분석은 현미경 사진과 ImageJ 소프트웨어를 이용하여 분석하였다.¹⁸⁾

통계 분석 - 통계 자료의 값은 평균값 ± 표준오차(mean ± S.E.M.)로 표시하였고, 통계적 유의성의 검증은 ANOVA를 통해서 분석하였다. 선충의 연속적인 생존도는 Log-rank test 분석 방법을 이용하였고, p값은 **p*<0.05, ***p*<0.01, ****p*<0.001 일 때 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

결 과

DPPH radical 소거 효과 - 마늘의 methanol 엑스와 구증구포 마늘의 methanol 엑스의 DPPH radical 소거 효과는 구증구포 마늘의 더 좋은 활성을 보여 주었다(data 미제시). 구증구포 마늘의 methanol 엑스와 이의 용매 분획물의 DPPH radical 소거 효과는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 ethyl acetate 분획물(EtOAc, IC₅₀ value, 185 µg/mL)이 가장 좋은 radical 소거 효과를 나타냈다(vitamin C, IC₅₀ value, 6.3 µg/mL) (Fig. 1).

SOD, Catalase 효소 활성 증가 효과 - 구증구포 마늘 EtOAc 분획물의 xanthine oxidase가 생성시키는 superoxide anion을 활용한 SOD의 활성은 Fig. 2A에서 나타난 것과 같이 구증

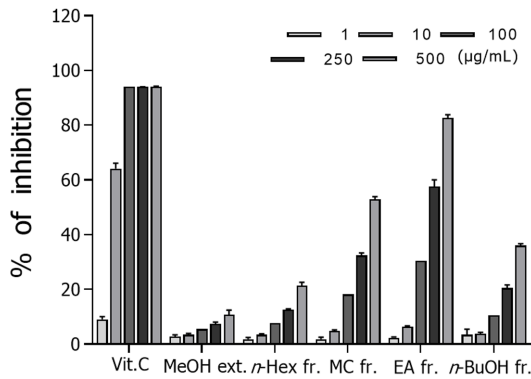


Fig. 1. DPPH radical scavenging effects of the methanol extracts and their fractions from the guzeunggupo-processed *A. sativum*.

구포 마늘 EtOAc 분획물 투여군은 예쁜꼬마선충의 SOD의 활성을 농도의존적으로 증가시켰다. 마늘 EtOAc 분획 250 µg/mL과 500 µg/mL 투여군은 대조군에 비해 SOD 활성을 약 14.2% (**p*<0.05)와 18.7% (***p*<0.01) 정도 증가시켰다. ROS의 일종인 hydrogen peroxide를 대사시키는 catalase의 활성은 Fig. 2B에서 나타난 바와 같이 EtOAc 250 µg/mL, EtOAc 500 µg/mL 농도에서 대조군보다 15.1% (***p*<0.01), 24.1% (**p*<0.05)를 각각 증가시켰다(Fig. 2).

ROS 축적 감소 효과 - 구증구포 마늘 EtOAc 분획의 농도별 세포 내 ROS의 축적 억제 효능을 측정하기 위해 H₂DCF-DA와 선충 내의 ROS를 반응시켜 형광을 관찰하였으며, 활성산소종의 감소 폭은 대조군에 비해 구증구포 마늘 EtOAc

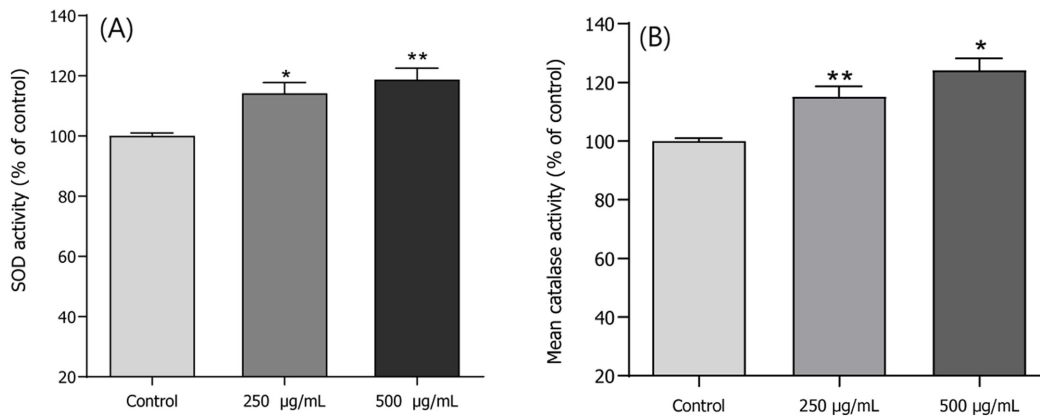


Fig. 2. Effects of ethyl acetate fraction of the guzeunggupo-processed *A. sativum* on the antioxidant enzyme activity of wild-type N2 nematode. (A) The enzymatic reaction of xanthine with xanthine oxidase was used to generate $\cdot\text{O}_2^-$ and the SOD activity was estimated spectrophotometrically 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*<0.05 and ***p*<0.01 by one-way ANOVA.

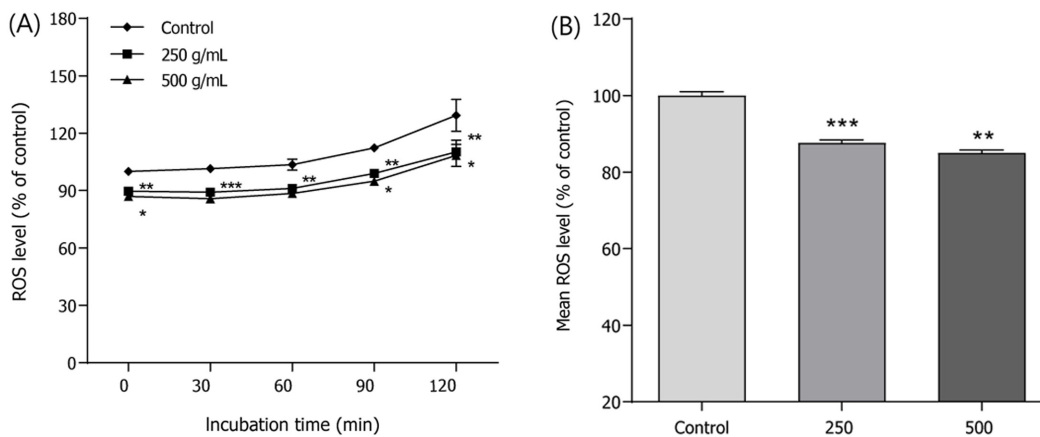


Fig. 3. Effects of ethyl acetate fraction of the guzeunggupo-processed *A. sativum* on the intracellular ROS levels of wild-type N2 nematodes. Intracellular ROS accumulation was examined in a microplate fluorescence reader at 535 nm (emission) and 485 nm (excitation). (A) Plates were read for 120 min. (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.

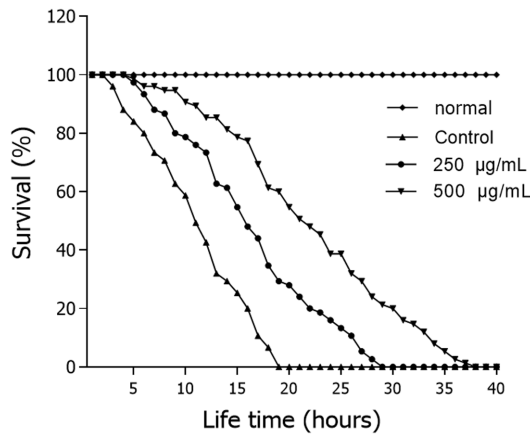


Fig. 4. Effects of ethyl acetate fraction of the guzeunggupo-processed *A. sativum* on the stress tolerance of wild-type N2 nematodes. For the oxidative stress assays, worms were transferred to 96-well plate containing 1 mM of juglone liquid culture, and then their viability was scored. Statistical difference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

분획 250 µg/mL, 500 µg/mL 투여군에서 12.3% (***p*<0.001), 15.0% (***p*<0.01)를 각각 감소시키는 것으로 확인되었다 (Fig. 3).

산화적 스트레스 저항성 증가 효능 – 구증구포 마늘의 EtOAc 분획의 산화 스트레스에 미치는 영향 실험은 마늘의 EtOAc를 처리하지 않은 대조군이 최대 생존시간이 19시간 이었고, 구증구포 마늘의 EtOAc 분획 250 µg/mL, 500 µg/mL 농도에서 생존시간이 각각 29시간 및 38시간으로 각각 증가시키는 것으로 확인되었다. 대조군의 평균 생존 시간은 14.8±0.8시간인 반면, 250 µg/mL, 500 µg/mL 투여군은 각각 21.6±1.0시간(45.9%, **p*<0.05, 28.4±1.0시간(91.9%, ****p*<0.001)의 생존 시간의 향상을 각각 보여 주었다(Fig. 4, Table I).

형질 전환 선충 내 SOD-3의 발현 증가 효과 – 구증구포 마늘의 EtOAc 분획의 선충 내의 산화 스트레스에 대하여 이를 극복하기 위한 저항 단백질의 생성 여부를 알아보기 위해 SOD-3을 포함하는 *C. elegans*의 mutant CF1553을 이용한 실험에서 mutant에 EtOAc 분획 250 µg/mL, 500 µg/mL 처리군이 대조군보다 각각 13.2% (***p*<0.001), 27.6% (**p*<0.05)의 SOD-3::GFP의 발현 증가를 보여 주었다(Fig. 5A, 5B).

고찰

토양 선충인 예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*)은 1960년대 Sydney Brenner에 의해 실험실에 처음 도입되었으며,

Table I. Effects of ethyl acetate fraction from the guzeunggupo-processed *A. sativum* 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	14.8 ± 0.8	19	-	-
	250 µg/mL	21.6 ± 1.0	29	50.9	* <i>p</i> <0.05
	500 µg/mL	28.4 ± 1.0	38	89.5	*** <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.

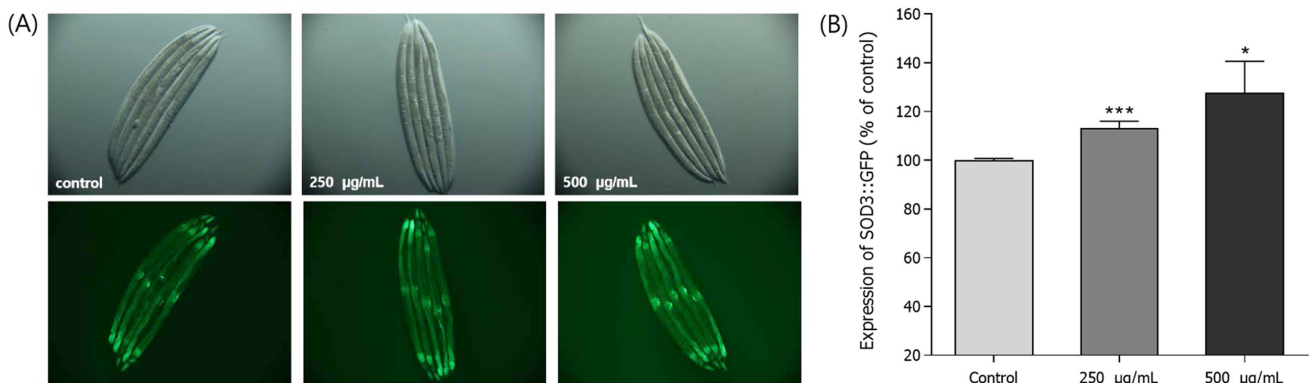


Fig. 5. Effect of ethyl acetate fraction of the guzeunggupo-processed *A. sativum* on the expression of SOD-3 was determined using transgenic nematodes. (A) Images of SOD-3::GFP expression of CF1553 worm in the presence or absence of ethyl acetate fraction. (B) The mean GFP intensity of mutant was represented as mean ± S.E.M. of values from 19 to 25 animals per each experiment. Differences compared with the control were considered significant at **p*<0.05 and ****p*<0.001 by one-way ANOVA.

기초 과학 연구에서 널리 사용되는 실험 시스템이 되었다. *C. elegans*가 짧은 수명 주기와 번식의 용이성, 그리고 특징적인 발달 계통과 완전한 신경계 연결계통은 동물의 발달 과정과 행동을 연구하는 강력한 모델로 자리 잡았다.¹⁹⁾ 특히 수명이 20일 전후로 짧고 수명 관련 유전자의 존재와 신호 전달 기전이 확보된 관계로 인간의 노화 연구를 하는데 이용되고 있다.²⁰⁾ 본 연구는 *C. elegans*를 이용한 구증구포 마늘의 methanol 추출물 분획 중 강한 DPPH radical 소거활성 활성이 확인된 을 대상으로 *C. elegans* 내의 항산화 효능을 관찰하였다. EtOAc 분획의 선충 내의 SOD, catalase 효소의 활성을 유의성 있게 높여 주었으며, 반면에 *C. elegans* 체내의 ROS 축적양을 농도 의존적으로 유의성 있게 억제하는 결과를 보여 주었다. Juglone으로 산화 스트레스를 유도하고 구증구포 마늘의 EtOAc 분획을 처리한 실험에서는 대조군에 비해 EtOAc 분획을 처리한 실험군에서 농도 의존적인 생존율 증가를 보여주어 산화 스트레스를 억제하는 활성을 보여 주었다. GFP-fused transgenic strain인 선충 CF1553을 이용한 산화 스트레스 저항 단백질 발현 여부를 확인하는 형광 관찰실험에서는 mutant 내의 형광이 크게 증가됨이 확인되어 산화 스트레스 저항 단백질이 상당량 생성된 것이 확인되었다.²¹⁾

노화와 관련하여 다양한 가설이 제시되고 있으나 그 중 자유 라디칼 가설이 주를 이루고 있다. ROS는 살아있는 유기체에서 발견되는 가장 흔한 자유 라디칼로 정상적인 대사 조건에서 ROS 생성은 항산화 효소의 발현을 활성화하여 체내 ROS 축적양을 조절할 수 있다. 그러나 노화가 진행될수록 체내 항산화 효소의 활동이 감소하고 과도한 ROS가 축적되고 세포 내 산화/환원 항상성을 방해하여 관련 질병을 유발한다. 따라서 항산화제는 노화 방지 효과로 인해 중요하다.^{22,23)}

구증구포 마늘의 EtOAc 분획은 *C. elegans* 내의 catalase, SOD의 효소활성을 유의성 있게 올려 주었고, ROS의 농도를 낮추었으며, 산화 스트레스 저항 단백질을 생산하여 *C. elegans* 체내 항산화 능력을 올려 주어 수명연장에 영향을 미칠 것으로 생각된다. 이러한 결과는 마늘에 다량 존재하는 allyl cysteine, alliin, allicin, allyl disulfide와 같은 황화합물과 flavonoid 화합물에 의한 항산화 효능일 것으로 판단된다.^{24,25)} 본 연구의 결과물은 몇 가지 가능성 있는 항산화 관련 효능으로 이후에 구증구포 마늘 추출물의 항산화나 항노화 활성을 나타내는 단일 물질을 확보하고 이들 물질에서의 항산화 기전에 대한 자세한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론

구증구포 마늘 EtOAc 분획은 높은 DPPH free radical 소거활성을 보여주었으며, *C. elegans* 내의 SOD와 catalase의 활성을 농도 의존적으로 높여 주었다. ROS의 축적양을 감소시켰고, 산화 스트레스 조건에서 *C. elegans*의 생존율은

증가시켰다. *C. elegans*의 CF1553 mutant를 이용한 산화 스트레스 실험에서 구증구포 마늘 EtOAc 분획을 처리한 *C. elegans*의 형광 발현율이 크게 상승되는 것이 확인되어 산화 스트레스 저항 단백질의 증가가 관찰되었다. 결과적으로 구증구포 마늘 EtOAc 분획이나 함유된 화합물들은 항산화나 노화 관련된 질병의 예방이나 치료에 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다.

사사

본 연구는 2025년도 교육부 및 전북특별자치도의 재원으로 전북RISE센터의 지원을 받아 수행된 지역혁신중심 대학지원체계(RISE)의 결과입니다(2025-RISE-13-WSU).

인용문헌

- Li, D., Ding, Z., Du, K., Ye, X. and Cheng, S. (2021) Reactive oxygen species as a link between antioxidant pathways and autophagy. *Oxid. Med. Cell Longev.* **2021**: 5583215.
- He, Z., Xu, Q., Newland, B., Foley, R., Lara-Sáez, I., Curtin, J. F. and Wang, W. (2021) Reactive oxygen species (ROS): utilizing injectable antioxidative hydrogels and ROS-producing therapies to manage the double-edged sword. *J. Mater. Chem. B.* **9**: 6326-6346.
- Sahoo, B. M., Banik, B. K., Borah, P. and Jain, A. (2022) Reactive oxygen species (ROS): Key components in cancer therapies. *Anticancer Agents Med. Chem.* **22**: 215-222.
- 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.
- Jena, A. B., Samal, R. R., Bhol, N. K. and Duttaroy, A. K. (2023) Cellular Red-Ox system in health and disease: The latest update. *Biomed. Pharmacother.* **162**: 114606.
- 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.
- 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.
- El-Saber Batiha, G., Magdy Beshbishy, A., G Wasef, L., Elewa Yha, A., Al-Sagan, A., Abd El-Hack, M. E., Taha A. E. M., Abd-Elhakim, Y. and Prasad Devkota, H. (2020) Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.): A review. *Nutrients* **12**: 872.
- Rahman, K. (2001) Historical perspective on garlic and cardiovascular disease. *J. Nutr.* **131**: 977S-979S.
- Avendaño-Ortiz, J., Redondo-Calvo, F. J., Lozano-Rodríguez, R., Terrón-Arcos, V., Bergón-Gutiérrez, M., Rodríguez-Jiménez, C., Rodríguez, J. F., Del Campo, R., Gómez, L. A., Bejarano

- Ramírez, N., Pérez-Ortiz, J. M. and López-Collazo, E. (2023) Thiosulfinate-enriched *Allium sativum* extract exhibits differential effects between healthy and sepsis patients: The implication of HIF-1 α . *Int. J. Mol. Sci.* **24**: 6234.
11. Kim, H. Y., Seo, H.-Y., Seo, W. D., Lee, M. J., Choi, M.-S. and Ham, H. (2020) Effect on angiotensin-I converting enzyme inhibition and antioxidant activities of soybean (*Glycine max* L.) following steaming and drying nine times. *Korean J. Food Nutr.* **33**: 167-173.
 12. Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P. and Chang, C. M. (2022) Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules* **27**: 1326.
 13. Roux, A. E., Langhans, K., Huynh, W. and Kenyon, C. (2016) Reversible age-related phenotypes induced during larval quiescence in *C. elegans*. *Cell Metab.* **23**: 1113-1126.
 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. Zhang, J., Chen, R., Yu, Z. and Xue, L. (2017) Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity assay protocols for *Caenorhabditis elegans*. *Bio. Protoc.* **7**: e2505.
 16. 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.
 17. Ahmad, T. and Suzuki, Y. J. (2019) Juglone in oxidative stress and cell signaling. *Antioxidants (Basel)* **8**: 91.
 18. Motta, H. S., Roos, D., Tabarelli, G., Rodrigues, O. E. D., Ávila, D. and Quines, C. B. (2020) Activation of SOD-3 is involved in the antioxidant effect of a new class of beta-aryl-chalcogenium azide compounds in *Caenorhabditis elegans*. *An. Acad. Bras. Cienc.* **92**(suppl 2): e20181147.
 19. Nechipurenko, I. and Sengupta, P. (2025) *C. elegans*: An elegant experimental system for the study of cilia biology. *Semin. Cell Dev. Biol.* **174**: 103636.
 20. 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.
 21. Waters, J. C. (2009) Accuracy and precision in quantitative fluorescence microscopy. *J. Cell Biol.* **185**: 1135-1148.
 22. Dilberger, B., Baumanns, S., Schmitt, F., Schmiidl, 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.
 23. Wang, R. J., Ni, Y. J. and Liu, Y. Q. (2024) Hesperetin increases lifespan and antioxidant ability correlating with IIS, HSP, mtUPR, and JNK pathways of chronic oxidative stress in *Caenorhabditis elegans*. *Int. J. Mol. Sci.* **25**: 13148.
 24. Chung, L. Y. (2006) The antioxidant properties of garlic compounds: allyl cysteine, alliin, allicin, and allyl disulfide. *J. Med. Food* **9**: 205-213.
 25. Nadeem, M. S., Kazmi, I., Ullah, I., Muhammad, K. and Anwar, F. (2021) Allicin, an Antioxidant and Neuroprotective Agent, Ameliorates Cognitive Impairment. *Antioxidants (Basel)*. **11**: 87.
- (2025. 12. 9 접수; 2025. 12. 19 심사; 2025. 12. 23 게재확정)