

강황지하부 부산물에서 분리한 Quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside-7-O-α-L-rhamnopyranoside가 선충의 수명연장에 미치는 영향

안달래¹ · 이은별¹ · 김반지¹ · 이소연¹ · 안민실² · 은재순¹ · 신태용¹ · 김대근^{1*}

¹우석대학교 약학대학, ²전북농업기술원

Lifespan Extension Property of Quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside-7-O-α-L-rhamnopyranoside from *Curcuma longa* L. In *Caenorhabditis elegans*

Dalrae Ahn¹, Eun Byeol Lee¹, Ban Ji Kim¹, So Yeon Lee¹, Min-Sil Ahn²,
Jae Soon Eun¹, Tae-Yong Shin¹, and Dae Keun Kim^{1*}

¹College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonju 565-701, Korea

²Jeollabuk-do Agricultural Research and Extension Services, Iksan 570-704, Korea

Abstract – After harvesting the medicinal parts of *Curcuma longa*, the remaining underground parts were discarded. From the remaining underground parts of *Curcuma longa* quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside-7-O-α-L-rhamnopyranoside (Q37) was isolated. The antioxidant activities *in vitro* and lifespan-extension effect of Q37 were elucidated using the *Caenorhabditis elegans*. The 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging effect of Q37 showed similar potent activities in comparison with vitamin C. Q37 also showed potent superoxide quenching activities as measured by the riboflavin- and xanthine-originated superoxide quenching activity tests. Q37 prolonged lifespan of worms under normal culture condition. In terms of protective effect of Q37 on the stress conditions such as thermal and oxidative stresses, Q37-treated worms exhibited enhanced survival rate, as compared to control worms. To know the possible mechanism of Q37-mediated increased lifespan and stress resistance of worms, we examined the activities of Q37 on superoxide dismutase (SOD), and invested intracellular reactive oxygen species (ROS) levels. The results revealed that Q37 was able to elevate SOD activity of worms and reduce intracellular ROS accumulation in a dose-dependent manner.

Key words – *Curcuma longa*, *Caenorhabditis elegans*, Lifespan extension, Quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside-7-O-α-L-rhamnopyranoside

의·과학이 발전함에 따라 인간의 평균 수명이 증가하고 이에 따른 만성 노인성 질환과 퇴행성 질환이 증가하고 있는 추세이다.¹⁾ 노화의 원인으로 수 많은 가설들이 알려져 있고 다소 많은 논란의 여지가 있지만 그 중 자유기 노화이론(free radical theory of aging)이 가장 많이 알려져 있다.²⁾ 자유기 노화이론은 정상적인 체내 대사과정 중 생성되는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 세포 내의 DNA, 단백질 및 지질 등에 산화적 스트레스를 일으켜 노화를 일으키고, 또한 세포가 산화적 스트레스에 노출 되면 조직의 기능 저하로 인하여 뇌질환, 심혈관계 질환, 퇴행성 질환, 당뇨병, 치매 및 노화 등을 초래하게 된다는 것이다.^{3,4)} 체내의 활성산소는 세포 내의 superoxide dismutase, catalase

및 glutathione reductase와 같은 효소와 vitamin C, E, β-carotene 및 glutathione과 항산화 요소들이 억제해줄 수 있다.⁵⁾ 예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*)은 몸체가 투명하여 알에서부터 성충까지의 단계별로 관찰하기가 쉬우며, 다양한 돌연변이종을 만들 수 있고 또한 2-3주 정도의 짧은 수명을 가지고 있어 인간질환과 관련된 여러 가지 실험모델을 만들어 실험하기가 용이한 것으로 보고되어 있다.⁶⁾

Flavonoid류는 식물에 광범위하게 분포되어 있는 이차대사산물로 항염증작용, 항알리지작용, 항바이러스작용, 항산화작용, 항균작용 및 항종양작용 등이 알려져 있으며, 그 중 quercetin, catechin, rutin 및 luteolin 등은 강력한 항산화제로 알려져 있다.^{7,8)} 본 연구에서 사용한 quercetin-3-O-β-D-glucopyranoside-7-O-α-L-rhamnopyranoside(Q37)은 주름개선 효능이⁹⁾ 알려진 물질로 강황 지하부에서 전보와¹⁰⁾ 같은

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

방법으로 분리하여 본 연구를 수행하였다. 본 연구는 Q37을 몇 가지 항산화 실험과 예쁜꼬마선충을 이용하여 수명에 미치는 효과, 열과 산화적스트레스에 대한 저항성, 선충 내의 항산화 효소인 SOD활성과 세포 내의 ROS의 축적에 미치는 영향 등에 대하여 확인하여 Q37이 선충의 수명연장에 미치는 영향에 대해 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에 사용한 강황지하부 부산물은 2013년에 11월에 전라북도 농업기술원에서 재배한 것을 채취하였으며, 표준품은 우석대학교 약학대학 생약표본실에 보관하고 있다(WSU-13-010).

Quercetin-3-O- β -D-glucopyranoside-7-O- α -L-rhamnopyranoside (Q37)의 분리 - Q37은 강황지하부 부산물에서 분리하였으며 전보에서 보고된 방법에¹⁰⁾ 따라 분리하여 실험에 사용하였다(Fig. 1).

DPPH Free Radical 소거법에 의한 항산화활성 측정¹¹⁾ - 96well plate에 시료를 ethanol로 각 농도별로 조제한 용액에 13 μ M의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)을 일정량씩 가하였다. 10초간 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 비교하여 그래프로 나타내었다. 각 시료에 대한 DPPH radical 소거작용을 3회 반복하여 측정하였다.

Riboflavin 유래 Superoxide 억제 활성^{12,13)} - 시료의 superoxide 억제능력은 methionine, riboflavin, NBT로 구성된 평가 시스템을 이용하여 광화학 작용을 측정하였다. 반응 혼합액은 2.6 μ M riboflavin, 3 mM methionine, 75 μ M nitroblue tetrazolium(NBT), 0.1 mM EDTA, PBS(pH 7.4) 및 여러 농도의 시료로 조제하여 사용하였다. 혼합물은 light box에 넣은 후 5분마다 자리를 임의로 바꾸어 주면서 15분

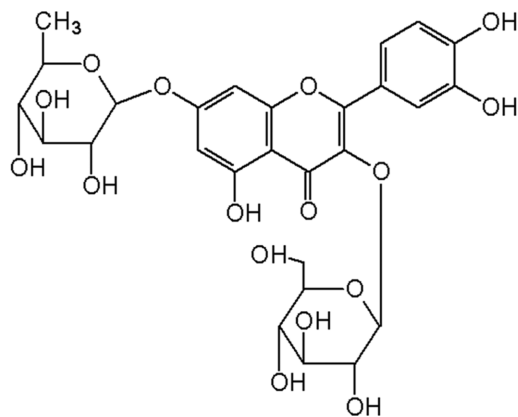


Fig. 1. Structure of Q37.

동안 넣어두었다. Light box안의 온도는 $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 빛의 밝기는 5,500 lux를 유지하였으며 blue formazan으로 환원된 NBT를 560 nm에서 측정하여 blue formazan 형성 억제능을 측정하여 superoxide 억제능력을 확인하였다.

Xanthin 유래 Superoxide 소거 활성 측정¹⁴⁾ - Xanthine/xanthine oxidase에 의해 생성된 superoxide radical은 Thuong등의 방법에 따라 측정하였다. Nitro blue tetrazolium (NBT, 100 μ M), xanthine(250 μ M)을 포함하는 phosphate buffer(pH 7.8, 20 mM)와 시료를 함께 혼합하였다. 5분 후 xanthine oxidase(0.05 U/mL) 100 μ L를 넣고, 37°C에서 30분간 배양시킨 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Superoxide radical 소거 활성은 시료와 대조군의 NBT의 환원정도를 비교하여 나타내었다.

예쁜꼬마선충(Caenorhabditis elegans)의 배양¹⁵⁾ - 본 연구에 사용된 *C. elegans*(N2: wild type)는 Caenorhabditis Genetic Center(CGC; University of Minnesota, Minneapolis, MN)로 부터 제공받았다. *C. elegans*는 *Escherichia coli* OP50를 도말한 Nematode Growth Medium(NGM) agar plate에 20°C에서 배양하였다(Brenner, 1974). Q37은 DMSO를 용매로 한 stock solution 상태로 멸균된 NGM plate (50°C)에 첨가하였다. 최종 DMSO 농도는 모든 상태에서 0.1% (v/v)를 유지하였다.

수명연장효능평가¹⁶⁾ - 수명분석은 20°C에서 독립적으로 3회 실행되었다. 선충의 성장단계를 일치시키기 위해 NGM plate로부터 알만을 분리하여 Q37 수용액을 첨가한 각 농도별 plates (0 μ M, 100 μ M, 200 μ M)에 옮겨 배양하였고 매일 생존을 확인하였다. 생존여부의 확인은 *C. elegans*를 platinum wire의 끝으로 자극했을 때 반응이 없는 경우를 사망상태로 간주하였다. 또한, 선충은 2일마다 새로운 NGM plate로 옮겨 배양되었다.

스트레스 저항성 평가^{17,18)} - 성장 단계가 동일한 선충을 각각의 농도별(0 μ M, 50 μ M, 100 μ M)로 plate에서 배양하였다. 온도에 의한 내성을 분석하기 위해 선충을 신선한 배지로 옮기고 성체가 된 후 4일째에 36°C에서 배양하여 시간별로 생존율을 13시간 동안 측정하였다. 산화적 스트레스에 의한 내성은 기존의 방법을 약간 변형하여 평가하였다. 성체가 된 후 7일째 일시적으로 선충을 80 mM paraquat이 함유된 M9 buffer가 담긴 96 well plate에 옮기고 시간별로 생존율을 확인하였다. 선충의 생존율은 16시간 동안 확인하였다.

선충 체내의 항산화 효소(SOD) 활성 측정^{19,20)} - 성장 단계가 동일한 N2 선충을 각각의 농도별(0 μ M, 50 μ M, 100 μ M)로 plate에서 배양하였다. 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 100 µL(0.05 U/mL)을 첨가하고 37°C에서 다시 20분 동안 incubation시킨 다음 69 mM SDS로 반응을 멈추고 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

선충세포내 활성산소종(ROS) 분석²¹⁾ - 세포내 활성산소종은 2',7-dichlorodihydrofluorescein diacetate(H₂DCF-DA)를 사용해 측정되었다. 성장 단계가 동일한 N2 선충을 각 농도별(0 µM, 50 µM, 100 µM)로 plate에서 배양하였다. 성체가 된 후 4일째 80 mM paraquat를 함유한 M9 buffer에 넣고 3시간 노출시킨 뒤 96well plate에 담긴 50 µL M9 buffer에 5마리씩 옮겼다. 마지막으로 25 µM H₂DCF-DA 50 µL를 첨가한 뒤 여기 485 nm, 방출 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.

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

결 과

DPPH radical 소거능 - DPPH radical 소거 효과는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 Q37(IC₅₀; 200.2 µM)이 비타민 C(IC₅₀; 29.4 µM)보다는 낮았지만 농도의존적으로 DPPH free radical 소거 효과를 나타내었다.

Riboflavin 유래 Superoxide 소거 활성 - Riboflavin 유래 superoxide quenching 활성에서는 대조군 비타민 C가

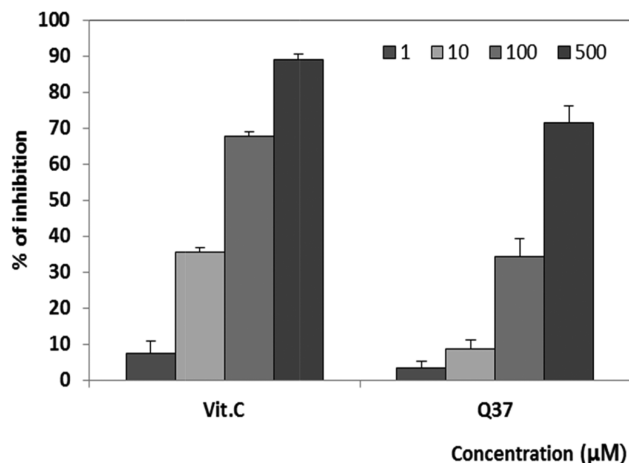


Fig. 2. DPPH radical scavenging effects of Q37.

IC₅₀값이 31.6 µM으로 quenching 활성을 보였으며, Q37은 IC₅₀값이 199.2 µM으로 Fig. 3과 같이 농도의존적으로 superoxide quenching 활성을 나타냈다.

Xanthin 유래 Superoxide 소거 활성 - Q37과 대조군의 NBT의 환원정도를 비교하는 xanthine 유래 superoxide quenching 활성에서는 Q37이 IC₅₀값이 3.7 µM로 비타민 C(IC₅₀; 10.3 µM)와 비교해 볼 때 비교적 높은 활성을 나타내었다(Fig. 4).

Q37의 C. elegans 수명 연장효능 - 야생 형 N2 선충으로 사용하여 Q37의 C. elegans의 수명에 미치는 영향을 관찰하였다. Fig. 5에서 나타난 바와 같이 Q37은 C. elegans의 수명을 농도의존적으로 증가시켰다. 대조군의 평균 수명 시간은 15.0±0.5일이었고, Q37의 200 µM에서 선충의 평균 수명은 20.0±0.4일로 수명연장효과를 나타내었다(Q37 200 µM 10.8%, p<0.01).

스트레스 저항성 증가 효능 - Q37이 선충의 여러 스트레스 저항성에 미치는 영향을 알아보기 위해 고온 및 산화적

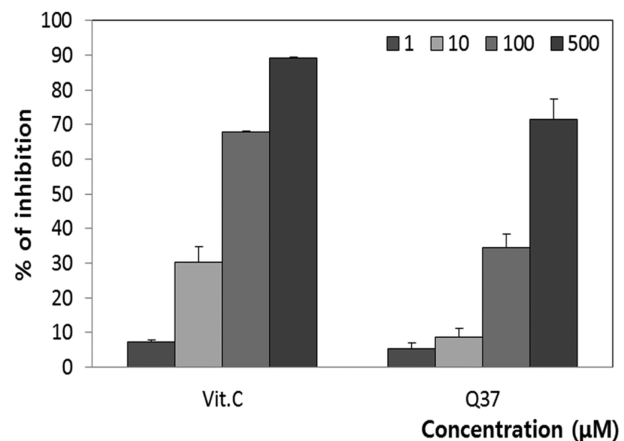


Fig. 3. Riboflavin-originated superoxide quenching activity of Q37.

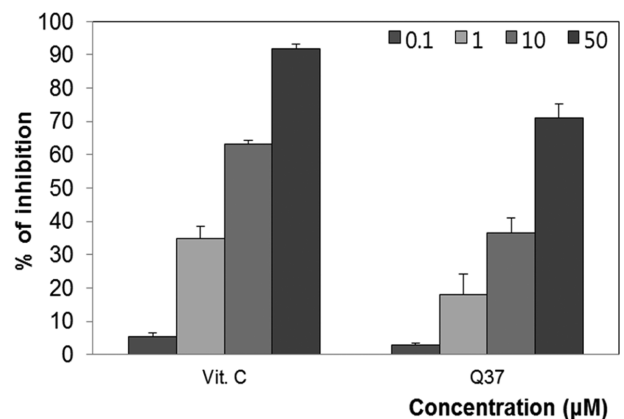


Fig. 4. Xanthine-originated superoxide quenching activities of Q37.

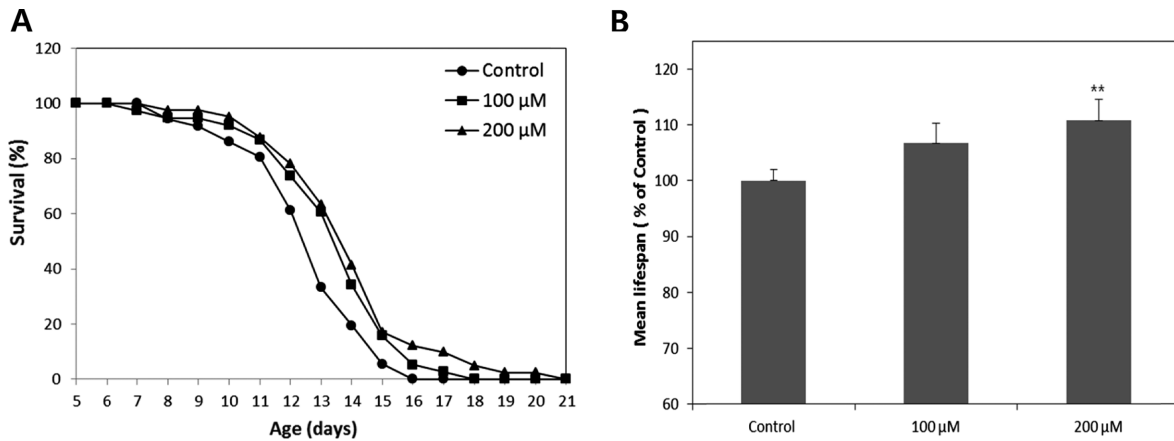


Fig. 5. Effects of Q37 on the lifespan of wild-type N2 nematodes. Worms were grown in the NGM agar plate at 20°C in the absence or presence of Q37. The number of worms used per each lifespan assay experiment was 27-41 and three independent experiments were repeated (N=3). (A) The mortality of each group was determined by daily counting of surviving and dead animals. (B) The mean lifespan of the N2 worms was calculated from the survival curves. Statistical difference between the curves was analyzed by log-rank test. Error bars represent the standard error of mean (S.E.M.). Differences compared to the control were considered significant at ** $p < 0.01$ and by one-way ANOVA.

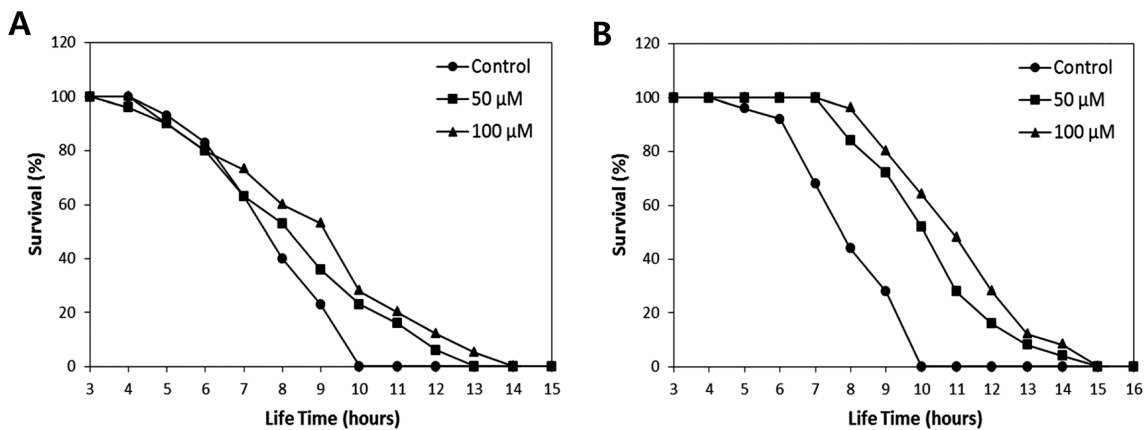


Fig. 6. Effects of Q37 on the stress tolerance of wild-type N2 nematodes. (A) To assess thermal tolerance, worms were incubated at 36°C and then their viability was scored. (B) For the oxidative stress assays, worms were transferred to 96-well plate containing 80 mM of paraquat liquid culture, and then their viability was scored. Statistical difference between the curves was analyzed by log-rank test.

스트레스 조건에서 선충을 배양하여 생존율을 측정하는 실험을 수행하였다. 실험 결과 고온 조건(36°C)에서 선충의 생존도를 관찰한 결과 대조군의 선충은 5시간 만에 죽기 시작하여 9시간에 모두 사멸한 반면 Q37군은 농도 의존적으로 생존율이 향상되었다(Fig. 6A). 선충에 산화적 스트레스를 유도하기 위해서 paraquat이 함유된 M9 buffer가 담긴 96well plate well에 배양한 대조군 선충의 최고 생존시간은 9시간 이었으나, Q37 50 μM와 100 μM투여군에서 모두 14시간으로 농도 의존적으로 증가하였다(** $p < 0.001$) (Fig. 6B).

선충 체내의 항산화효소 활성 증가 효능 - 활성산소종들의 전구체 물질로 알려져 있는 superoxide anion($\cdot O_2^-$)은 체

내에서는 superoxide dismutase(SOD)에 의해 hydrogen peroxide(H_2O_2)로 대사되는데, 본 연구에서는 xanthine을 기질로 한 xanthine oxidase의 효소반응 과정 중에 생성되는 superoxide anion을 활용하여 SOD의 활성을 측정하였다. Fig. 7A에서 보는 바와 같이 선충의 Q37 투여군이 SOD의 활성을 농도 의존적으로 증가시켰으며, 특히 100 μM 투여군은 대조군에 비해서 SOD 활성을 약 3.5% 정도 증가시켰다.

선충 세포내 활성산소종(ROS) 감소 효능 - Q37의 세포내 활성산소종의 감소 효능을 알아보기 위해 $H_2DCF-DA$ 와 선충 내부의 활성산소종을 반응시켜 형광을 관찰하였다. 활성산소종형광의 감소 폭은 대조군과 비교하여 Q37 50 μM

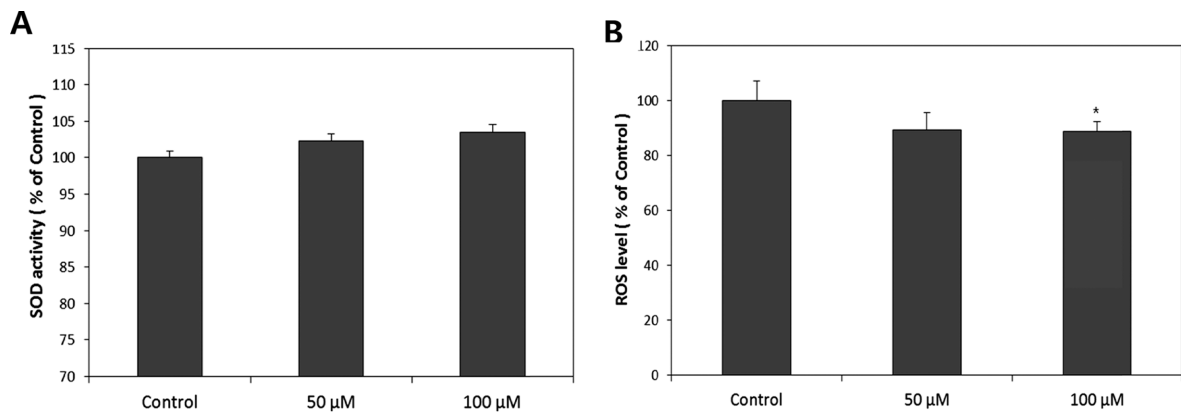


Fig. 7. Effects of Q37 on the antioxidant enzyme activity of wild type N2 nematodes. (A) The enzymatic reaction of xanthine with xanthine oxidase was used to generate $\bullet\text{O}_2^-$ and the SOD activity was estimated spectrophotometrically through formazan formation by NBT reduction. SOD activity was expressed as a percentage of the scavenged amount per control. (B) Effects of Q37 on the intracellular ROS accumulation of wild-type N2 nematodes. The worms were incubated with 40 mM paraquat for 3h, 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. Differences compared to the control were considered significant at $*p < 0.05$ by one-way ANOVA.

와 100 μM 농도 투여군에서 각각 약 10.8%와 11.2% ($*p < 0.05$)로 관찰되고, 농도 의존적으로 활성산소종을 감소시키는 것으로 확인되었다(Fig. 7B).

고찰

Q37은 quercetin 배당체이며, 일찍이 quercetin은 항암효과,²²⁾ 항염효과,²³⁾ 항노화 및 항산화효과²⁴⁾ 등 많은 효능이 보고되었다. Q37은 *in vitro* 상에서 DPPH radical 소거시험과, superoxide 소거활성 평가한 결과 농도 의존적으로 비타민 C보다 낮았지만 강한 항산화력을 보여주었다. 본 실험의 모델로 사용된 예쁜꼬마선충은 평균수명이 대략 2-3주 정도의 짧은 수명과, 빠른 번식, 작고 취급하기가 비교적 간단하여 수명연장 및 산화적스트레스 효능 평가 실험을 하기에 적합한 기능을 갖춘 동물 모델이다.²⁵⁻²⁷⁾ Q37이 선충의 수명에 미치는 실험에서 Q37을 농도별로 투여한 결과 선충의 평균수명이 0, 100, 200 μM 농도에서 농도 의존적으로 증가함이 관찰되었으며, 대조군이 15.0 ± 0.5 의 평균 수명과 비교하여 Q37 투여군 200 μM 투여군에서는 20.0 ± 0.4 일의 평균 수명이 증가함이 확인되어 Q37이 선충의 수명연장에 효능이 있음을 확인하였다.

열충격단백질(heat shock proteins, HSPs)은 세포나 조직 또는 개체가 높은 온도에 노출될 때 일시적으로 합성되는 단백질로서 열 스트레스로부터 세포를 보호하는 역할을 한다.²⁸⁾ Fig. 6에 나타난 바와 같이 선충을 고열(36°C)에 노출시켰을 때 대조군(0 μM)에서는 9시간 만에 전부 사멸한 반면, Q37을 투여한 약물에서는 0, 50, 100 μM 농도에서 농도 의존적으로 생존율의 증가함을 보였다(50 μM ; 12시간,

100 μM ; 13시간). 이 결과로 볼 때 Q37이 고온에서 HSP의 단백질 합성에 영향을 준 것으로 생각된다. 또한, 화학물질인 paraquat을 이용하여 선충에 산화적 스트레스를 유도하여 선충의 생존율을 관찰하였다. 대조군에 비해 Q37을 투여한 군에서 농도 의존적으로 생존율을 증가되어 산화적 스트레스 환경에서 저항성을 나타내어 산화적 스트레스에 내성이 생성된 것으로 판단된다. 선충 세포의 양을 정량하여 선충 체내의 항산화 효소의 활성을 알아본 결과 Q37은 0, 50, 100 μM 농도에서 농도 의존적으로 SOD의 활성을 증가시키는 것으로 관찰되었다. 또한, 선충 체내 ROS의 수치를 확인한 결과 Q37을 투여한 군에서 농도 의존적으로 ROS를 감소시킴을 확인하였고(50 μM ; 10.8%, 100 μM ; 11.2% ($*p < 0.05$), 이는 체내 ROS의 축적이 선충의 수명에 영향을 준 것으로 보여진다. 이러한 결과는 Q37이 선충의 수명연장과 선충 내의 항산화능에 효능이 있는 것으로 판단되며 항산화 및 노화관련 자원물질로서의 가능성이 있으므로 앞으로 더 많은 기전연구 등이 필요할 것으로 사료된다.

결론

강황지하부 부산물에서 분리된 Q37은 DPPH free radical 소거시험과 superoxide 소거시험에서 농도 의존적으로 강한 항산화력을 보여 주었다. 수명연장효과와 항산화 및 산화적 스트레스 저항성 평가를 확인하기 위하여 예쁜꼬마선충을 실험동물로 이용하였다. 예쁜꼬마선충을 이용한 수명연장 실험에서 대조군보다 Q37을 투여한 군에서 농도 의존적으로 유의성있게 수명연장 효과를 나타내었으며, 열과 산화적 스트레스를 저항성 평가에서도 Q37을 투여한 군에서 농도의

존적으로 선충의 생존율이 증가시키는 것을 확인하였다. 또한 선충 체내의 항산화 효소인 SOD 활성에서도 Q37의 투여에 의해 농도 의존적으로 활성을 높이는 것을 관찰하였고, 선충 세포 내의 ROS의 발생량은 Q37 투여군에서 농도 의존적으로 감소하는 효과를 보여 주었다. 따라서, Q37은 수명연장과 산화적 스트레스 억제물질로서 개발 가치가 있을 것으로 사료된다.

사 사

이 논문은 2014년도 농촌진흥청 어젠다연구개발사업 (Project No. PJ008435)의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Seo, J., Hwang, E.-S. and Kim, G.-H. (2011) Antioxidative and differentiation effects of Artemisia capillaries T. extract on hydrogen peroxide-induced oxidative damage of MC3T3-E1 osteoblast cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **40**: 1532-1536.
- Herman, D. (1956) Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* **11**: 298-300.
- Sohal, R. S. and Weindruch, R. (1996) Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science* **273**: 59-63.
- Beckman, K. B. and Ames, B. N. (1998) The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* **78**: 547-581.
- Stadtman, E. R. and Berlett, B. S. (1998) Reactive oxygen-mediated protein oxidation in aging and disease. *Drug Meta. Rev.* **30**: 225-243.
- 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.
- Busse, W. W., Kopp, D. E. and Middleton, E. Jr. (1984) Flavonoid modulation of human neutrophil function. *J. Allergy Clin. Immunol.* **73**: 801-809.
- Afanas'ev I. B., Dorozhko, A. I., Brodskii, A. V., Kostyuk, V. A and Potapovitch, A. I. (1989) Chelating and free radical scavenging mechanism of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochem. Pharmacol.* **38**: 1763-1769.
- Lee, H. K. (2012) Antioxidant and anti-wrinkle effects of quercetin 3-glucoside-7-rhamnoside isolated from *Hippophae rhamnoides* fruits. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.* **10**: 731-736.
- Ahn, D., Lee, E. B., Ahn, M. S., Kim, B. J., Lee, S. Y., Lee, T. G., Lim, H. W., Lee, H. Y., Bae, J. J. and Kim, D. K. (2013) Flavonoids from the underground parts of *Curcuma longa*. *J. Pharmacogn.* **44**: 253-256.
- Yoshida, T., Mori, K., Hatano, T., Okumura, T., Uehara, L., Komagoe, K., Fujita, Y. and Okuda, T. (1989) Studies on inhibition mechanism of autoxidation 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.
- Choi, D. S., Kim, S. J. and Jung, M. Y. (2001) Inhibitory activity of berberine on DNA strand cleavage induced by hydrogen peroxide and cytochrome c. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **65**: 452-455.
- Thuong, P. T., Kang, H. J., Na, M., Jin, W., Youn, U. J., Seong, Y. H., Song, K. S., Min, B. S. and Bae, K. (2007) Anti-oxidant constituents from *Sedum takesimensense*. *Phytochemistry* **68**: 2432-2438.
- Brenner, S. (1974) The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **77**: 71-94.
- Lithgow, G. J., White, T. M., Melov, S. and Johnson, T. E. (1995) Thermo tolerance and extended life-span conferred by single-gene mutations and induced by thermal stress. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **92**: 7540-7544.
- 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.
- 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. *Method. Enzymol.* **105**: 121-126.
- Ibrahim, H. R., Hoq, M. I. and Aoki, T. (2007) Ovotransferrin possesses SOD-like superoxide anion scavenging activity that is promoted by copper and manganese binding. *Int. J. Biol. Macromol.* **41**: 631-640.
- Kim, D. K., Jeon, H. and Cha, D. S. (2014) 4-Hydroxybenzoic acid-mediated lifespan extension in *Caenorhabditis elegans*. *J. Funct. Foods* **7**: 630-640.
- Yu, F., Jiang, L. L. and Di, Y. C. (2014) Effect of quercetin on heat shock protein 27 expression in prostate cancer cells. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* **36**: 506-509.
- Manjeet, K. R. and Ghosh, B. (1999) Quercetin inhibits LPS-induced nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha production in murine macrophages. *Int. J. Immunopharmacol.* **21**: 435-443.
- Kamokötter, A., Timpel, C., Zurawski, R. F., Ruhl, S., Chovolou, Y., Proksch, P. and Wätjen, W. (2007) Increase of stress resistance and lifespan of *Caenorhabditis elegans* by quercetin. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* **149**: 314-323.

25. Kenyon, C., Chang, J., Gensch, E., Rudner, A. and Tabtlang, R. (1993) *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature* **366**: 461-464.
 26. Fire, A., Xu, S., Montgomery, M. K., Kostas, S. A., Driver, S. E. and Mello, C. C. (1998) Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* **391**: 806-811.
 27. Guarente, L. and Kenyon, C. (2000) Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. *Nature* **408**: 255-262.
 28. Swindell, W. R. (2009) Heat shock proteins in long-lived worms and mice with insulin/insulin-like signaling mutations. *Aging* **1**: 573-577.
- (2014. 11. 7 접수; 2014. 11. 14 심사; 2014. 12. 9 게재확정)