

## 팥에서 분리한 Genistin이 선충의 수명연장에 미치는 영향

이은별<sup>1</sup> · 안달래<sup>1</sup> · 김반지<sup>1</sup> · 이소연<sup>1</sup> · 차연수<sup>2</sup> · 김민아<sup>2</sup> · 송석보<sup>3</sup> · 김대근<sup>1\*</sup>  
<sup>1</sup>우석대학교 약학대학, <sup>2</sup>전북대학교 식품영양학과, <sup>3</sup>농촌진흥청 국립식량과학원 기능성작물부 잡곡과

## Effects of genistin from *Vigna angularis* on Lifespan-extending in *Caenorhabditis elegans*

Eun Byeol Lee<sup>1</sup>, Dalrae Ahn<sup>1</sup>, Ban Ji Kim<sup>1</sup>, So Yeon Lee<sup>1</sup>, Youn-Soo Cha<sup>2</sup>, Mina Kim<sup>2</sup>,  
Seuk Bo Song<sup>3</sup> and Dae Keun Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonju 565-701, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food Science and Human Nutrition, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Functional Crop, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Miryang 627-803, Korea

**Abstract** – Previous phytochemical studies of *Vigna angularis* (Ohwi) Ohwi & Ohashi (Leguminosae) have shown the presence of saponins and flavonoids. From the seed of *V. angularis*, genistein-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (genistin) was isolated. Lifespan-extending effect of genistin was elucidated using *Caenorhabditis elegans* model system. Genistin showed potent lifespan extension of worms under normal culture condition. This compound also exhibited the protective effects against thermal and oxidative stress conditions. In the case of heat stress, genistin-treated worms exhibited enhanced survival rate, compared to control worms. In addition, genistin-fed worms lived longer than control worms under oxidative stress induced by paraquat. To verify the possible mechanism of genistin-mediated increased lifespan and stress resistance of worms, we investigated whether genistin might alter superoxide dismutase (SOD), catalase activities and intracellular ROS levels. Our results showed that genistin was able to elevate SOD and catalase activities of worms and reduce intracellular ROS accumulation in a dose-dependent manner.

**Key words** – *Vigna angularis*, Genistin, *Caenorhabditis elegans*, Lifespan, SOD, catalase, ROS

노화는 잘 알려진 것처럼 거의 모든 종의 동물에 피할 수 없는 현상이다. 유전적, 환경적, 생활방식 등 요인의 상호작용에 의한 생물인 노화는 질병과 사망의 위험을 증가시킨다. 그 결과로 대부분의 장기의 일반적이고 체계적인 기능장애를 일으키며 꾸준히 진행되어지는 생리학적 현상이다.<sup>1,2)</sup> 아직 노화의 메커니즘은 정확히 밝혀지지 않았지만, 다수의 이론들 중 reactive oxygen species(ROS)에 의한 분자손상의 축적이 노화의 중요한 요인이라는 산화적 스트레스 이론이 일반적으로 알려져 있다.<sup>3)</sup> 산소는 생물의 에너지 순환을 하는데 중요하고, 세포 및 조직의 순환 및 호흡의 기본이며 정상적인 조건에서는 산소는 짝수 전자의 감소로 나타난다. 그러나 불완전한 조건에서 산소는 매우 불안정한 활성산소의 생성이 증가되어 불균형을 만드는 결정적인 요소가 된다.<sup>4)</sup> 따라서, 우리 몸에는 활성산소를 예방

하기 위해 항산화 물질을 필요로 하며 항산화와 노화라는 개념의 상관관계에 대해 많은 연구가 진행되고 있다. 식물성 화학물질은 활성산소의 생성을 방지하거나 제거하여 산화적 스트레스를 방지해 노화를 지연시키고 수명을 연장할 수 있을 가능성에 대해 많은 보고가 있다.<sup>5-7)</sup> 팥은 동아시아에 분포되어 있는 작물 중 하나이며 음식으로서의 이용뿐만 아니라 신장병, 염증, 고혈압, 당뇨병 등의 치료에도 사용되어 왔다.<sup>8,9)</sup> 이 식물은 화학적 성분연구로 saponin, anthocyanin, flavonoid 등이 밝혀져 있으며,<sup>10-12)</sup> 팥 추출물은 신장의 산화적 스트레스를 억제하고 항염증과  $\alpha$ -glucosidase 억제 활성을 갖는 것이 보고되었다.<sup>8,9,13)</sup> 저자 등은 전보에서 팥의 에틸아세테이트 가용 분획의 스트레스 저항성 증가 활성과 이 분획에서 분리된 genistein의 수명연장 효능을 보고한 적이 있다.<sup>14,15)</sup> 이와 관련하여 본 연구는 같은 분획으로부터 분리한 genistin의 aglycone인 genistein과의 활성을 비교하고자 실험을 진행하였다. 예쁜꼬마선충

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

(*Caenorhabditis elegans*)을 실험모델로 사용하여 genistin의 수명연장에 미치는 영향과 열 및 산화적 스트레스 조건하에서 선충의 저항성을 관찰하였다. 또한 genistin의 선충 체내의 항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD) 및 catalase 활성과 세포 내의 ROS의 축적에 미치는 영향을 확인하여 genistin이 선충의 항산화능에 미치는 영향을 확인하여 몇 가지 소견을 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - 본 실험에 사용한 팥은 2013년에 경남 밀양시의 농촌진흥청 국립식량과학원 기능성작물부 잡곡과에서 재배하여 송석보 박사가 확인한 후에 제공하였으며, 표준품은 우석대학교 약학대학 생약표본실에 보관하고 있다(WSU-13-008).

**추출 및 분획** - 팥 2 kg을 조말로 분쇄하여 methanol로 진탕하면서 50°C에서 5시간씩 3회 온침 추출하였다. 그 추출액을 수욕상에서 감압농축하여 methanol엑스 약 84 g을 얻었으며, 이 methanol엑스를 증류수로 현탁시키고 상법에 따라 동량의 *n*-hexane(650 mg), methylene chloride(11.3 g), ethyl acetate(1.2 g) 및 *n*-butanol(14.5 g)의 순으로 용매 분획하여 각각의 분획을 얻었다. Ethyl acetate분획 1.2 g을 Sephadex LH-20(MeOH) column을 통과시켜 TLC 양상에 따라 5개의 분획으로(E1-E5) 나누었다. E4분획을 CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(30:15:1)을 유출용매로 Silica gel column을 통과시켜 5개의 소분획(E41-E45)으로 나누고 E41을 HPLC로 정제하여 genistin 8 mg을 얻었다.

**Genistin** - Genistein-7-*O*-β-D-glucopyranoside. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 12.93 (1H, s, 5-OH), 9.62 (1H, s, 4'-OH), 8.42 (1H, s, H-2), 7.38 (2H, d, *J*=8.4 Hz, H-2', 6'), 6.81 (2H, d, *J*=8.4 Hz, H-3', 5'), 6.71 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.46 (1H, d, *J*=2.0 Hz, H-6), 5.05 (1H, d, *J*=7.6 Hz, H-1"), <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): 154.5 (C-2), 122.5 (C-3), 180.4 (C-4), 161.6 (C-5), 99.5 (C-6), 163.0 (C-7), 94.5 (C-8), 157.5 (C-9), 106.1 (C-10), 121.0 (C-1), 130.1 (C-2), 115.1 (C-3), 157.2 (C-4), 115.1 (C-5), 130.1 (C-6), 99.8 (C-1), 73.1 (C-2), 77.2 (C-3), 69.6 (C-4), 76.4 (C-5), 60.6 (C-6)

**예쁜꼬마선충(*Caenorhabditis elegans*)의 배양**<sup>16)</sup> - 본 연구에 사용된 *C. elegans* (N2: wild type)는 Caenorhabditis Genetic Center(CGC; University of Minnesota, Minneapolis, MN)로부터 제공받았다. *C. elegans*는 *Escherichia coli* OP50를 도말한 Nematode Growth Medium(NGM) agar plate에 20°C에서 배양하였다. Genistin은 DMSO를 용매로 한 stock solution 상태로 멸균된 NGM plates(50°C)에 첨가되었다. 최종 DMSO농도는 모든 상태에서 0.1%(v/v)를 유

지하였다.

**수명연장효능평가**<sup>17)</sup> - 수명분석은 20°C에서 독립적으로 3회 실행하였다. 선충의 성장단계를 일치시키기 위해 NGM plate로부터 알만을 분리하여 genistin 수용액을 첨가한 각 농도 별 plates(0 μM, 50 μM, 100 μM)에 옮겨 배양하였고 매일 생존을 확인하였다. 생존여부의 확인은 *C. elegans*를 platinum wire의 끝으로 자극했을 때 반응이 없는 경우를 사망상태로 간주하였다.

**스트레스 저항성 평가**<sup>18,19)</sup> - 성장 단계가 동일한 선충을 각각의 농도 별(0 μM, 50 μM, 100 μM) plate에서 배양하였다. 온도에 의한 내성을 분석하기 위해 선충을 신선한 배지로 옮기고 성체가 된 후 4일째에 36°C에서 배양하여 시간 별로 생존율을 16시간 동안 측정하였다. 산화적 스트레스에 의한 내성은 기존의 방법을 약간 변형하여 평가하였으며, 성체가 된 후 7일째에 일시적으로 선충을 80 mM paraquat 이 함유된 M9 buffer가 담긴 96 well plate의 well에 옮기고 시간 별로 생존율을 확인하였다.

**선충 체내의 항산화 효소(SOD, Catalase) 활성 측정**<sup>20,21)</sup> - 성장 단계가 동일한 N2 선충을 각각의 농도별(0 μM, 50 μM, 100 μM)로 plate에서 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, 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 1 mL(0.05 U/mL)을 첨가하고 37°C에서 다시 20분 동안 incubation시킨 다음 69 mM SDS로 반응을 멈추고 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Catalase activity는 Aebi의 방법을 응용하여 25 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 시료 50 μL를 3분 동안 반응시키고 240 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**선충세포내 활성산소종(ROS) 분석**<sup>22)</sup> - 세포내 활성산소종은 2',7'-dichlorodihydro fluorescein diacetate(H<sub>2</sub>DCF-DA)를 사용하여 측정하였다. 성장 단계가 동일한 N2 선충을 각 농도 별(0 μM, 50 μM, 100 μM)plate에서 배양하였다. 성체가 된 후 4일째 40 mM paraquat를 함유한 M9 buffer에 넣고 3시간 노출시킨 뒤 96 well plate에 담긴 50 μL M9

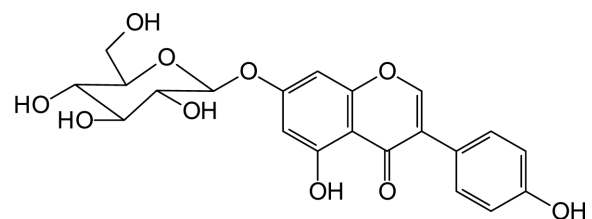


Fig. 1. Structure of genistin.

buffer에 5마리씩 옮겼다. 마지막으로 25  $\mu\text{M}$  H<sub>2</sub>DCF-DA 50  $\mu\text{L}$ 를 첨가한 뒤 여기 485 nm, 방출 535 nm에서 흡광도를 각각 측정하였다.

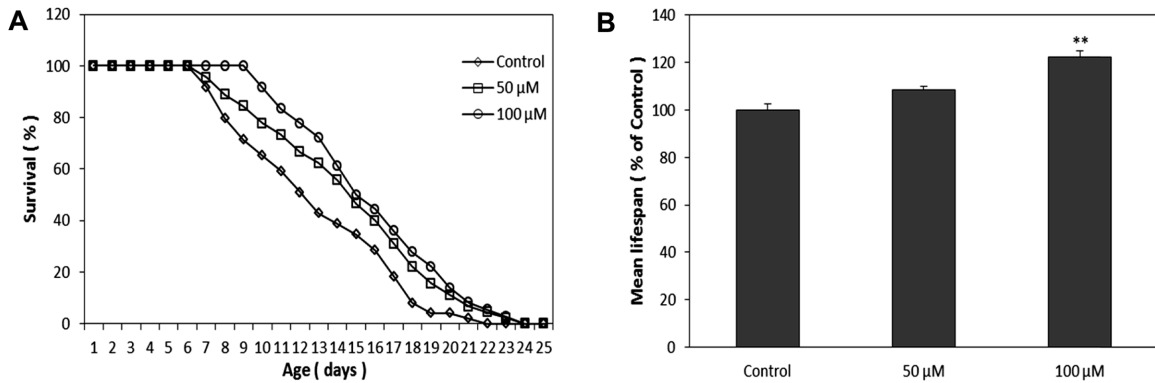
**통계 분석** - 통계 자료의 값은 평균값 $\pm$ 표준오차(mean $\pm$ S.E.M.)로 표시 하였다. 그룹 간의 통계적 유의성 검정은 Student's t-test를 통해서 분석하였고 선충의 연속적인 생존도는 Log-rank test 분석 방법을 이용하였다. p값은 \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ 일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

### 결 과

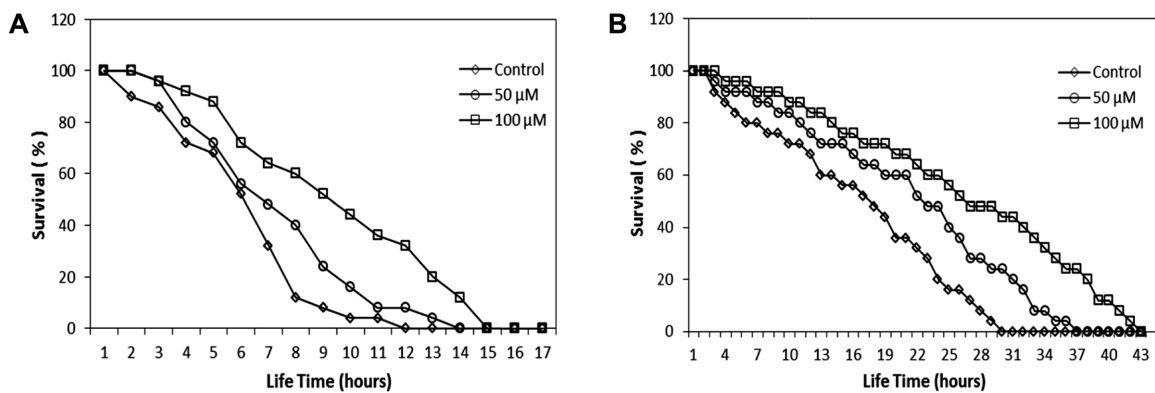
**Genistin의 *C. elegans* 수명 연장효능** - 야생형 N2 선충을 이용하여 genistin의 수명에 미치는 영향을 관찰하였으

며, Fig. 2에서 보는 바와 같이 genistin은 *C. elegans*의 수명을 농도의존적으로 증가시켰다. 대조군의 평균 수명 시간은 21.0 $\pm$ 0.0일이었고, genistin의 100  $\mu\text{M}$ 에서 선충의 평균 수명을 23.0 $\pm$ 0.8일이었다(genistin 100  $\mu\text{M}$  22.2%, \*\* $p < 0.01$ ).

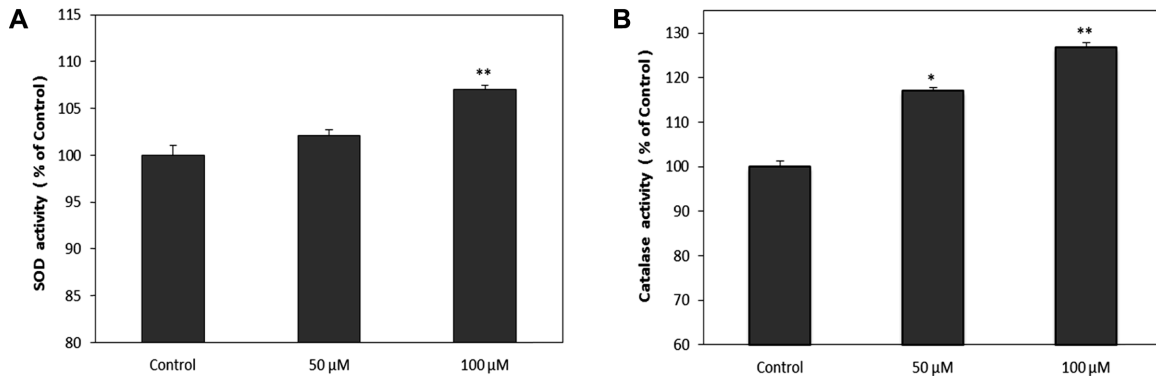
**스트레스 저항성 증가 효능** - Genistin이 선충의 스트레스 저항성에 미치는 영향을 알아보기 위해 고온 및 산화적 스트레스 조건에서 선충을 배양하여 생존율을 확인하였다. 선충에게는 고온 조건인 36 $^{\circ}\text{C}$ 에서 생존도를 관찰한 결과 대조군은 2시간 만에 죽기 시작하여 12시간에 모두 사멸한 반면 genistin 처리군은 농도 의존적으로 생존율이 향상되었다(\*\*\* $p < 0.001$ )(Fig. 3A). 선충에 산화적 스트레스를 유도하기 위해서 80 mM paraquat이 함유된 M9 buffer가 담긴 96 well plate에 배양한 대조군 선충의 최고 생존시간은 30시간이었으나, genistin 50  $\mu\text{M}$ 과 100  $\mu\text{M}$  투여군에서 각각 37시



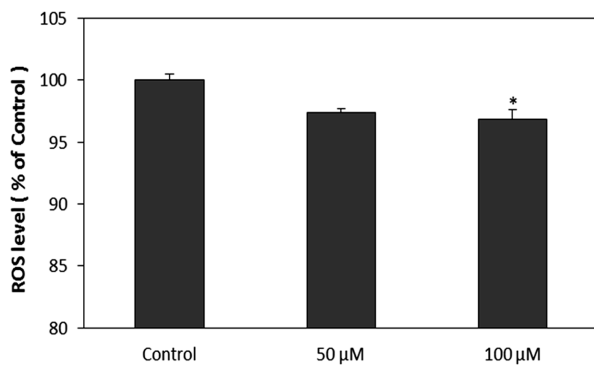
**Fig. 2.** Effects of genistin on the lifespan of wild-type N2 nematodes. Worms were grown in the NGM agar plate at 20 $^{\circ}\text{C}$  in the absence or presence of genistin. The number of worms used per each lifespan assay experiment was 36-49 and three independent experiments were repeated (N=3). (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. 3.** Effects of genistin on the stress tolerance of wild-type N2 nematodes. (A) To assess thermal tolerance, worms were incubated at 36 $^{\circ}\text{C}$  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.



**Fig. 4.** Effects of genistin on the antioxidant enzyme activity of wild type N2 nematodes. (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. SOD activity was expressed as a percentage of the scavenged amount per control. (B) Catalase activity was calculated from the concentration of residual  $\text{H}_2\text{O}_2$ , as determined by a spectrophotometric method. Catalase activity was expressed in U/mg protein. Data are expressed as the mean S.E.M of three independent experiments (N=3). Differences compared to the control were considered significant at  $*p<0.05$ ,  $**p<0.01$  by one-way ANOVA.



**Fig. 5.** Effects of genistin on the intracellular ROS accumulation of wild-type N2 nematodes. The worms were incubated with 40 mM paraquat for 3 h, and subsequently treated with the fluorescent probe  $\text{H}_2\text{-DCF-DA}$ . 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.

간, 43시간으로 농도 의존적으로 증가하였다( $***p<0.001$ ) (Fig. 3B).

**선충 체내의 항산화효소(SOD, Catalase) 활성 증가 효능** - 본 연구에서는 xanthine을 기질로 xanthine oxidase의 효소반응 과정 중에 생성되는 superoxide anion을 활용하여 SOD의 활성을 측정하였다. Fig. 4A에서 보는 바와 같이 선충의 genistin 투여군이 SOD의 활성을 농도 의존적으로 증가시켰으며, 특히 100  $\mu\text{M}$  투여군은 대조군과 비교하여 SOD 활성을 약 7% 정도 증가시켰다( $*p<0.05$ ). 한편 SOD에 의해 생성된 hydrogen peroxide 역시 강력한 반응성을 가진 활성산소종으로 체내에서는 catalase에 의해 인체에 무해한 물로 대사되는데, Fig. 4B에서 나타난 바와 같이 genistin 투

여군은 대조군에 비해 100  $\mu\text{M}$  투여군에 유의성 있게 catalase 활성을 약 27.4% 정도 증가시켰다( $**p<0.01$ ).

**선충 세포내 활성산소종(ROS) 감소 효능** - Genistin의 세포 내 활성산소종의 감소 효능을 알아보기 위해  $\text{H}_2\text{DCF-DA}$ 와 선충 내부의 활성산소종을 반응시켜 형광을 관찰하였다. 활성산소종 형광의 감소 폭은 대조군과 비교하여 genistin 50  $\mu\text{M}$ 과 100  $\mu\text{M}$  투여군에서 각각 약 2.6%와 3.2% ( $*p<0.05$ )로 관찰되고, 농도 의존적으로 활성산소종을 감소시키는 것으로 확인되었다(Fig. 5).

## 고 찰

팔에서 분리한 genistin은 문헌상의 NMR 스펙트럼 자료 등을 통해 구조를 확인하였다.<sup>23,24</sup> 이 화합물은 isoflavone 성분으로 동물 모델에서 항암, 단백질화, 성장촉진 등을 비롯한 다양한 효능이 보고되어 있으나,<sup>25-27</sup> 수명연장 효과에 대해서는 아직 보고된 적이 없다. 이에 본 연구에서는 예쁜꼬마선충을 모델로 사용하여 팔에서 분리한 genistin의 수명연장 및 항산화능을 실험하였다. 최근에 이 선충은 21일 정도의 짧은 수명과 많은 번식능력, 다루기가 쉬운 점 등의 편리한 조건을 이용하여 노화 연구와,<sup>16,28</sup> 수명연장을 위한 약물의 연구에도<sup>29,30</sup> 많이 이용되고 있는 추세이다. Genistin의 수명연장 효과를 확인하기 위해 보통의 배양조건 하에서 야생형 N2 선충을 이용한 수명연장 실험을 실시하였으며, genistin은 농도 의존적으로 선충의 수명을 연장하는 것으로 확인되었다. 수명연장과 산화적 스트레스에 대한 내성 증가는 상당한 관계가 있는 것으로 보고되어 있으며,<sup>31</sup> 본 실험의 열과 산화적 스트레스 조건에서 선충의 내성 증가를 관찰하였다. 열 스트레스 조건하에 genistin을 처리한 선충은 대조군에 비해 더 높은 생존율을 보여주었으며, paraquat

유발 산화적 스트레스 조건에서도 같은 결과를 나타냈다. 이 결과에서 genistin 처리군의 생존율이 증가된 것으로 보아 수명과 스트레스는 연관성이 있음을 추측할 수 있다. 또한 Genistin을 처리한 선충군이 농도 의존적으로 선충 체내의 항산화 효소인 SOD와 catalase 활성을 상승시키는 것으로 보아 기존의 보고에 따라 genistin은 선충의 노화에 영향을 미치는 것으로 사료된다.<sup>32-34</sup> 체내의 ROS 축적에 의해 일어나는 산화적 스트레스로 인한 비정상적인 대사 활동은 다양한 유기체들에 있어 노화의 가속과 수명 제한이 발생하고 이와 함께 노화 관련 질환의 원인이 된다는 보고가 있다.<sup>32,35</sup> 산화적 스트레스 조건하에서 선충 세포 내의 ROS의 축적억제 효능을 genistin을 처리한 선충군이 보여주었다. 이상의 결과는 진보의<sup>15</sup> genistin의 aglycone인 genistein의 수명연장효능을 비롯하여 스트레스 억제활성, 항산화 효소의 활성 증가, ROS 축적억제 등의 결과와 유사하게 나타났다. 따라서 genistin과 그 aglycone 또한 노화와 수명연장에 효능이 있는 것으로 판단되며, 수명연장 및 노화 방지를 위한 자원물질로서의 개발 가능성을 확인하기 위해 더 많은 기전연구 등이 필요할 것으로 사료된다.

## 결 론

팔에서 분리된 genistin의 수명연장 및 항산화능에 미치는 효과를 확인하기 위하여 예쁜꼬마선충을 실험동물로 사용하였다. 수명연장실험에서 genistin 투여군이 대조군보다 농도 의존적으로 유의성 있게 수명연장 효과를 나타내었고, 스트레스 저항성을 알아보기 위한 열과 산화적 스트레스 저항성 평가에서도 genistin을 투여한 군에서 선충의 생존율을 농도 의존적으로 증가시키는 것을 확인하였다. 선충 내에 존재하는 항산화 효소인 SOD와 catalase 활성 평가에서도 genistin의 투여에 의해 SOD와 catalase 효소가 농도 의존적으로 활성이 증가되는 것이 관찰되었다. 또한 선충 세포 내의 ROS의 발생량은 genistin 투여군이 대조군에 비해 농도 의존적으로 감소하는 효과를 보여 주었다. 따라서 genistin은 수명연장과 항산화 물질로서의 개발가치가 있을 것으로 사료된다.

## 사 사

이 논문은 2015년도 농촌진흥청 어젠다연구개발사업 (Project No. PJ009218)의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

1. Petropoulou, C., Chondrogianni, N., Simoes, D., Agiostrati-

2. dou, G., Drosopoulos, N., Kotsota, V. and Gonos, E. S. (2000) Ageing and longevity: a paradigm of complementation between homeostatic mechanisms and genetic control? *Ann. NY Acad. Sci.* **908**: 133-142.
2. Si, H. and Liu, D. (2014) Dietary antiaging phytochemicals and mechanisms associated with prolonged survival. *J. Nutr. Biochem.* **25**: 581-591.
3. Finkel, T. and Holbrook, N. J. (2000) Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* **408**: 239-247.
4. Pinazo-Durán, M. D., Gallego-Pinazo, R., García-Medina, J. J., Zanón-Moreno, V., Nucci, C., Dolz-Marco, R., Martínez-Castillo, S., Galbis-Estrada, C., Marco-Ramírez, C., López-Gálvez, M. I., Galarreta, D. J. and Díaz-Llópiz, M. (2014) Oxidative stress and its downstream signaling in aging eyes. *Clin. Interv. Aging* **9**: 637-652.
5. Obrenovich, M. E., Nair, N. G., Beyaz, A., Aliev, G. and Reddy, V. P. (2010) The role of polyphenolic antioxidants in health, disease, and aging. *Rejuvenation Res.* **13**: 631-643.
6. Gopaul, R., Knaggs, H. E. and Lephart, E. D. (2012) Biochemical investigation and gene analysis of equol: a plant and soy-derived isoflavonoid with antiaging and antioxidant properties with potential human skin applications. *Biofactors* **38**: 44-52
7. Pandey, R., Gupta, S., Shukla, V., Tandon, S. and Shukla, V. (2013) Antiaging, antistress and ROS scavenging activity of crude extract of *Ocimum sanctum* (L.) in *Caenorhabditis elegans* (Maupas, 1900). *Indian J. Exp. Biol.* **51**: 515-521.
8. Sato, S., Mukai, Y. and Yamate, J. (2009) Beneficial effects of azuki bean (*Vigna angularis*) extract: anti-oxidant, anti-hypertension, and treatment for renal damage. *Current Nutrition & Food Science* **5**: 217-222.
9. Yu, T., Ahn, H. M., Shen, T., Yoon, K., Jang, H. J., Lee, Y. J., Yang, H. M., Kim, J. H., Kim, C., Han, M. H., Cha, S. H., Kim, T. W., Kim, S. Y., Lee, J. and Cho, J. Y. (2011) Anti-inflammatory activity of ethanol extract derived from *Phaseolus angularis* beans. *J. Ethnopharmacol.* **137**: 1197-1206.
10. Iida, T., Yoshiki, Y., Kahara, T., Okubo, K. and Ohru, H. (1997) A saponin conjugated with 2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one from *Vigna angularis*. *Phytochemistry* **45**: 1507-1509.
11. Iida, T., Yoshiki, Y., Kahara, T., Okubo, K., Ohru, H., Kinjo, J. and Nohara, T. (1999) Triterpenoid saponins from *Vigna angularis*. *Phytochemistry* **51**: 1505-1508.
12. Takahama, U., Yamauchi, R. and Hirota, S. (2013) Isolation and characterization of a cyanidin-catechin pigment from adzuki bean (*Vigna angularis*). *Food Chem.* **141**: 282-288.
13. Yao, Y., Cheng, X., Wang, L., Wang, S. and Ren, G. (2011) A determination of potential  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from azuki beans (*Vigna angularis*). *Int. J. Mol. Sci.* **12**: 6445-6451.
14. Lee, E. B., Ahn, D., Kim, B. J., Lee, S. Y., Cha, Y. S., Lee,

- J. H., Park, J. S. and Kim, D. K. (2014) Effects of ethyl acetate fraction of *Vigna angularis* on stress resistances and anti-oxidative activities in *Caenorhabditis elegans*. *Kor. J. Pharmacogn.* **5**: 227-232.
15. Lee, E. B., Ahn, D., Kim, B. J., Lee, S. Y., Seo, H. W., Cha, Y. S., Jeon, H., Eun, J. S., Cha, D. S. and Kim, D. K. (2015) Genistein from *Vigna angularis* extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Biomol. Ther.* **23**: 77-83.
  16. Brenner, S. (1974) The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* **77**: 71-94.
  17. 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.
  18. 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.
  19. 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.
  20. 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.
  21. Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. *Method. Enzymol.* **105**: 121-126.
  22. 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.
  23. Agrawal, P. K. (1989) Carbon-13 NMR of flavonoids. 154-155, Elsevier, New York.
  24. Kim, H.-J., Kim, M.-K., Shim, J.-G., Yeom, S.-H., Kwon, S.-H. and Lee, M.-W. (2004) Anti-oxidative phenolic compounds from Sophorae Fructus. *Nat. Prod. Sci.* **10**: 330-334.
  25. Kato, K., Takahashi, S., Cui, L., Toda, T., Suzuki, S., Futakuchi, M., Sugiura, S. and Shirai, T. (2000) Suppressive effects of dietary genistein and daidzin on rat prostate carcinogenesis. *Jpn. J. Cancer Res.* **91**, 786-791.
  26. Matrone, G., Smart, W. W. G., Carter, M. W., Smart, V. W., and Garren, H. W. (1956) Effect of genistein on growth and development of the male mouse. *J. Nutr.* **59**: 235-241.
  27. Yamaguchi, M. and Gao, Y. H. (1998) Anabolic effect of genistein and genistin on bone metabolism in the femoral-metaphyseal tissues of elderly rats: the genistein effect is enhanced by zinc. *Mol. Cell Biochem.* **178**: 377-382.
  28. Guarente, L. and Kenyon, C. (2000) Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. *Nature* **408**: 255-262.
  29. Collins, J. J., Evason, K. and Kornfeld, K. (2006) Pharmacology of delayed aging and extended lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Exp. Gerontol.* **41**: 1032-1039.
  30. Petrascheck, M., Ye, X. and Buck, L. B. (2007) An antidepressant that extends lifespan in adult *Caenorhabditis elegans*. *Nature* **450**, 553-556.
  31. Zhang, L., Jie, G., Zhang, J. and Zhao, B. (2009). Significant longevity-extending effects of EGCG on *C. elegans* under stress. *Free Radic. Biol. Med.* **46**: 414-421.
  32. Melov, S., Ravenscroft, J., Malik, S., Gill, M. S., Walker, D. W., Clayton, P. E., Wallace, D. C., Malfroy, B., Doctrow, S. R. and Lithgow, G. J. (2000) Extension of life-span with superoxide dismutase/catalase mimetics. *Science* **289**: 1567-1569.
  33. Schriener, S. E., Linford, N. J., Martin, G. M., Treuting, P., Ogburn, C. E., Emond, M., Coskun, P. E., Ladiges, W., Wolf, N., Van Remmen, H., Wallace, D. C. and Rabinovitch, P. S. (2005) Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria. *Science* **308**: 1909-1911.
  34. Sampayo, J. N., Gill, M. S. and Lithgow, G. J. (2003) Oxidative stress and aging-the use of superoxide dismutase/catalase mimetics to extend lifespan. *Biochem. Soc. Trans.* **31**: 1305-1307.
  35. Kampkotter, A., Nkwonkam, C. G., Zurawski, R. F., Timpel, C., Chovolou, Y., Watjen, W. and Kahl, R. (2007) Effects of the flavonoids kaempferol and fisetin on thermotolerance, oxidative stress and FoxO transcription factor DAF-16 in the model organism *Caenorhabditis elegans*. *Arch. Toxicol.* **81**: 849-858.

(2015. 3. 3 접수; 2015. 3. 12 심사; 2015. 3. 16 게재확정)