

공심채 추출물의 멜라닌 생성 저해 및 피부장벽 개선 효과

김 현 수*

중원대학교 식품공학과

Effect of *Ipomoea aquatica* extract on anti-melanogenesis and skin barrier function

Hyun-Soo Kim*

Department of Food Science and Technology, Jungwon University

Abstract We investigated the applications of functional materials through the examination of a variety of physiological activities of *Ipomoea aquatica* extract. *I. aquatica* extract showed low cytotoxicity against murine melanoma B16F10 cells. At concentrations that exerted little or no cytotoxicity to the cells, *I. aquatica* extract showed high DPPH radical scavenging activity (ID₅₀, 7.84 µg/mL), inhibited tyrosinase activity (ID₅₀, 106.56 µg/mL), and decreased melanin content (ID₅₀, 41.75 µg/mL). The treatment of B16F10 cells with *I. aquatica* extract suppressed the protein expression of tyrosinase in a dose-dependent manner. These findings suggested that *I. aquatica* extract inhibited melanin synthesis in murine melanoma B16F10 cells through the suppression of intracellular tyrosinase expression, as well as the simultaneous direct inhibition of tyrosinase activity. Additionally, *I. aquatica* extract promoted the expression of involucrin, which is related to skin barrier protection. These results indicate that *I. aquatica* extract may be an appropriate material for the improvement of skin barrier function.

Keywords: *Ipomoea aquatica*, melanin, tyrosinase, involucrin

서 론

피부의 최외각에 위치하고 있는 표피는 외부의 다양한 물리적, 화학적 및 기계적 자극에 대한 방어와 체내 수분의 과도한 발산을 막는 보호 기능을 수행하고 있으며 이는 각질형성세포로 구성된 각질층이 정상적으로 형성되고 유지됨으로써 가능하다(1,2). 각질형성세포는 표피최하층에서 지속적으로 증식하던 기저세포가 각질층으로 이동하면서, 단계적으로 형태 및 기능상의 변화를 거치며 형성된 세포이며, 자연보습인자와 세라마이드(ceramide), 콜레스테롤 및 지방산과 같은 세포 간 지방질을 생성함으로써 피부장벽으로서의 기능을 보유하게 된다(3). 피부장벽은 지속적인 외부 자극에 의해 손상 받아 피부건조증, 아토피 등의 피부질환이 유발되는데 현재 화장품에서 손상된 장벽을 보충하기 위해 보습제, 세라마이드 등 증상완화를 위한 물질을 사용할 뿐 피부항상성 기전에 근거한 효능 물질 개발은 미미한 상황이다(4). 또한, 하얀색 피부를 선호하는 여성들을 중심으로 미백효과를 볼 수 있는 소재개발에 대한 관심이 증가하고 있으며 피부색은 멜라닌 생성세포가 합성하는 멜라닌의 양과 종류에 따라 결정되고 자외선과 같은 외부자극으로부터 피부를 보호하기 위해 멜라닌 생성을

하게 된다(5). 멜라닌 생성은 타이로시네이스(tyrosinase), tyrosinase related protein-1 (TRP-1), TRP-2 효소에 의해 조절되며 특히 타이로시네이스는 구리를 포함한 효소로 DL-β-3,4-dihydroxyphenyl alanine (DOPA)를 산화시켜 DOPA 퀴논(quinone)을 만드는 DOPA 산화효소(oxidase)로써 작용하여 멜라닌 중합체를 합성하는 멜라닌 형성에 핵심 효소로 작용한다(5). 따라서 멜라닌 생합성을 억제하여 미백효과를 가져올 수 있는 독성이 없는 천연소재 물질에 대한 개발이 요구되고 있다(6).

본 연구의 재료인 공심채는 잎채소로 자라는 반수생적 열대식물로서 중국 남부에서 동남아시아에 걸쳐 분포한다(7). 예로부터 공심채는 당뇨(8), 간기능 부전(9), 변비(10), 해독작용(11)등 다양한 증상에 민간 치료제로 이용되어 왔다. 이와 같이 다양한 의학적 이용 가능성을 연구했음에도 불구하고 과학적으로 활성메커니즘에 대한 연구가 부족하며 특히, 미백활성, 피부장벽 개선 등 피부개선 효과를 비롯한 기능성 화장품소재에 활용하기 위한 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 공심채 잎 추출시료를 가지고 산화방지 및 생리활성 시험을 실시하였으며 또한 미백시험을 비롯한 피부효능 개선 시험, 멜라닌 생성 억제에 대한 메커니즘 및 피부장벽 개선 관련 시험을 조사하여 기능성 화장품 소재로서의 개발 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

공심채(*Ipomoea aquatica*) 잎은 가락동 농수산물 시장에서 구입하여 사용하였다. 시료 30-40g에 에탄올 200 mL를 첨가하고 용매추출장치(ASE300 Accelerated Solvent Extractor, Dionex Cor-

*Corresponding author: Hyun-Soo Kim, Department of Food science and Technology, Jungwon University, Goesan, Chungbuk 28024, Korea
Tel: +82-43-830-8616
Fax: +82-43-830-8679
E-mail: hyun1006@jwu.ac.kr
Received April 13, 2017; revised May 11, 2017;
accepted May 29, 2017

poration, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 50°C, 1500 psi에서 20분 동안 추출하였다. 이후 건조기(Modul spin 40, Biotron Corporation, Marysville, WA, USA)에서 40°C에서 24시간 동안 건조하고 실험에 사용하였다(12).

세포독성평가

세포독성 시험은 세포내의 미토콘드리아 수소제거효소에 의해 수용테트라졸륨염(water soluble tetrazolium salts) (WST-1)에서 불용성의 포마잔(formazan)결정으로 변환되는 원리를 이용하였다(13). 이는 포마잔이 많이 생성될수록 세포 활성이 커지는 것을 의미하였다. 포마잔은 다이메틸설폭사이드(dimethyl sulfoxide)에 녹아서 보라색 빛을 띄는데 분광광도계(spectrophotometer)로 540 nm 파장에서 OD값을 재어서 정량 하였다. 미국 세포주은행(ATCC, Manassas, VA, USA)에서 분양 받은 멜라노마 세포(murine melanoma B16F10)를 10% 소태아 혈청(fetal bovine serum: FBS, Gibco, Waltham, MA, USA)이 포함된 Dulbecco's Modified Eagle's medium (DMEM)에서 배양하고 24 well plate에 2×10^4 cells/well 의 농도로 세포를 접종한 후, 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 이후 배양세포에 추출물을 농도별로 처리하고 72시간 배양하였다. 결과는 %로 환산하였다. 각 처리농도에서의 결과 수치로 50% 저해 농도(ID₅₀)을 계산하여 세포 독성 정도를 표현하였다.

산화방지력 측정

DPPH 라디칼(Radical) 소거능 실험은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)에 의한 전자공여능(electron donating ability, EDA)을 측정하였다(14). 즉, 0.2 mM의 DPPH 용액 0.8 mL에 식물추출물 시료 0.2 mL를 첨가하여 혼합한 다음 실온에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 산화방지력은 $[1 - (\text{시료첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도})] \times 100$ 의 계산식에 의해 전자공여능(%)을 구하였으며, 대조구는 시료 대신 메탄올을 첨가하였고, positive control로 아스코브산(ascorbic acid)을 사용하였다. 각 처리농도에서의 결과 수치로 50% 저해 농도(ID₅₀)을 계산하여 DPPH 소거 활성 정도를 표현하였다.

타이로시네이스 억제활성측정

멜라닌(melanin) 합성 주요 단계에 관여하는 타이로시네이스 저해활성 측정은 효소 작용 결과 형성되는 DOPA chrome을 비색법에 의해 측정하는 Masamoto 등의 방법(15)을 변형하여 측정하였다. 기질로서 5 mM DL-DOPA 용액 0.2 mL, 0.1 M 인산완충염수(pH 6.8) 0.2 mL 및 시료용액 0.5 mL의 혼합액에 mushroom tyrosinase (Sigma-Aldrich Co.) 0.1 mL (2,000 unit/mL)을 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 다음 475 nm 파장에서 흡광도를 측정하고 아래 식에 따라 타이로시네이스 저해활성을 산출하였다. 각 처리농도에서의 결과 수치로 50% 저해 농도(ID₅₀)을 계산하여 타이로시네이스 저해 활성 정도를 표현하였다.

$$\text{Tyrosinase 저해 활성 (\%)} = 1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

멜라닌 생성 저해 측정

멜라닌 정량은 Hosoi 등의 방법(16)을 변형하여 사용하였다. 24 well plate에 2×10^4 cells/well로 멜라노마 세포를 분주하였고, 100 M 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX)으로 멜라닌 생성을 유도한

후, 상기 세포독성 실험에서 관찰된 공심채 추출물시료 농도를 처리하고 48시간 동안 37°C CO₂ 배양기에서 배양하였다. 세포를 수집하여 세포수를 측정하고, 1200 rpm에서 5분간 원심 분리하여 침전한 후, 1 mL 균질완충용액(homogenization buffer) (50 mM sodium phosphate pH 6.5, 1% Triton X-100, 2 mM phenylmethylsulfonyl fluoride)로 용해시켰다. 여기서 얻은 펠릿(pellet)에 1 N 수산화소듐(NaOH) (10% dimethyl sulfoxide, DMSO) 200 μ L를 첨가하고 vortex 후 405 nm에서 흡광도값을 측정하였다. 추출물을 처리하지 않은 시료군을 대조군으로 하고 결과는 %로 환산하였다. 각 처리농도에서의 결과 수치로 50% 멜라닌 생성 저해 농도(ID₅₀)을 계산하여 멜라닌 생성 저해 활성을 표현하였다.

웨스턴 블롯(Western blot) 분석

공심채 추출물에 의한 타이로시네이스 단백질 발현을 분석하기 위하여 western blot을 시행하였다. 멜라노마 세포를 α -MSH 첨가로 멜라닌 생성을 유도한 후, 상기 세포독성 실험에서 관찰된 추출물시료 농도로 처리하고 48시간 동안 37°C CO₂ 배양기에서 배양하였다. 배양된 세포를 수확하여 PBS로 두 번 세척한 후, RIPA 완충용액(buffer)에서 용해시키고 얼음에서 1시간 동안 정치시켰다. 처리된 세포 용해물을 4°C 15,000 rpm에서 20분간 원심분리하고, 획득한 상층액은 분석을 위해 -70°C에서 보관하였다. 단백질 농도는 단백질 분석키트(protein assay kit) (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 사용하여 측정하였다. 각 20 μ g 단백질량에 해당되는 시료를 10% SDS-PAGE에서 전기이동 하여 분리 한 후, 폴리바이닐리덴 플루오린화물(polyvinylidene fluoride) (PVDF) 막(membrane)에 옮겨 주었다. 막을 상온에서 1시간 동안 blocking buffer (5% skim milk in TBST)에서 처리한 후 1차 항체(mouse anti-tyrosinase: 1:200, Abcam, Cambridge, UK; mouse anti-involucrin: 1:500, Santa Cruz Biotechnology, Carlsbad, CA, USA; mouse anti-b-actin: 1:1000, Sigma-Aldrich Co.)를 3시간 동안 상온에서 처리하였다. 이후 10분 간격으로 TBST로 5회 세척하고 2차 항체(rabbit anti-mouse IgG-HRP: 1:5000, Santa Cruz Biotechnology, Carlsbad, CA, USA)로 1시간 동안 반응시켰다. 이후 10분 간격으로 TBST로 5회 세척하고 enhanced chemiluminescence (ECL) 웨스턴 블롯 검출 키트(western blotting detection kit, Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, USA)로 검출하였다. 단백질밴드는 광 이미지 시스템(photo-image system) (Molecular Dynamics, Uppsala, Sweden)기기를 사용하여 정량하였다.

통계처리

모든 실험은 독립적으로 3회 반복 시행하고 실험결과는 평균 \pm 표준편차로 표기하였으며, 통계처리는 GraphPad Prism 5 program (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA)을 이용하여 *p* 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다. 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후, 각 시료간의 통계적 유의성은 Bonferroni's 다중비교 검정을 수행하였다.

결과 및 고찰

공심채 추출물의 세포독성시험

멜라노마 세포에 공심채 추출물(*Ipomoea aquatica* extract: IAE) 10, 100, 250, 500 μ g/mL의 농도로 처리한 후, WST-1 분석법(13)을 이용하여 세포독성을 측정하였다(Fig. 1). 대조군 대비하여 10, 100, 250, 500 μ g/mL의 IAE 농도에서 각각 0, 3.61, 15.50,

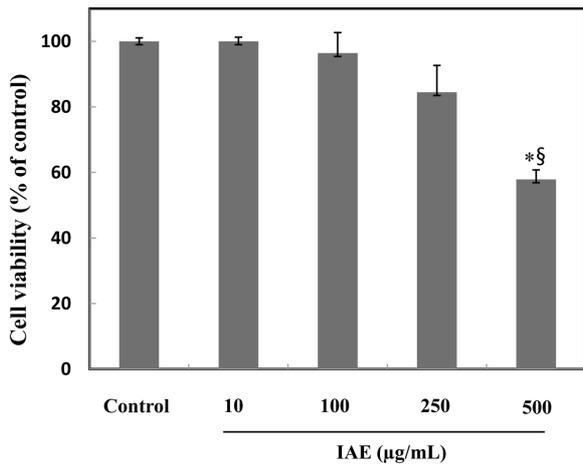


Fig. 1 Cell cytotoxicity of *Ipomoea aquatica* extract (IAE) on murine melanoma B16F10 cell. IAE-untreated group was used as a control. Values are presented as mean±SEM. Differences were considered statistically significant, * $p < 0.05$ compared to the control group, § $p < 0.05$ compared to the IAE 10 µg/mL group.

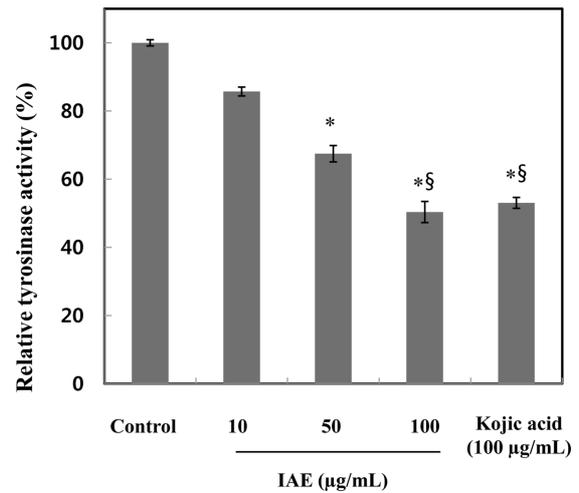


Fig. 3 Inhibitory effect of *Ipomoea aquatica* extract (IAE) on tyrosinase. The tyrosinase activity assay was performed with mushroom tyrosinase. Kojic acid was used as a positive control. IAE-untreated group was used as a control. Values are presented as mean±SEM. Differences were considered statistically significant, * $p < 0.05$ compared to the control group, § $p < 0.05$ compared to the IAE 10 µg/mL group.

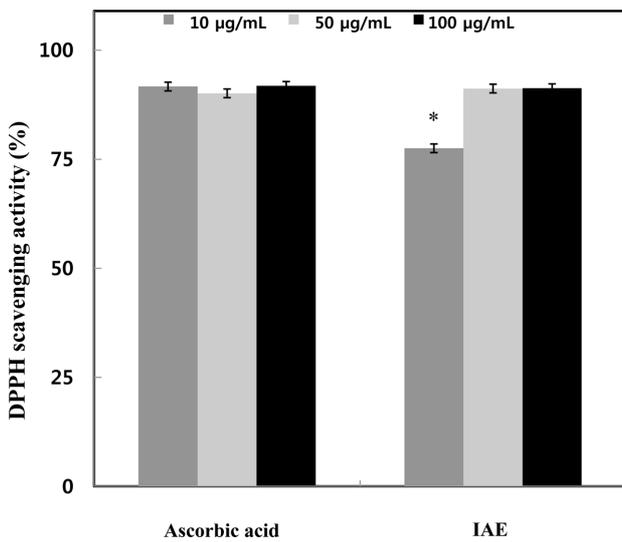


Fig. 2 Anti-oxidant effects of *Ipomoea aquatica* extract (IAE). Ascorbic acid was used as a positive control. Values are presented as mean±SEM. Differences were considered statistically significant, * $p < 0.05$ compared to the ascorbic acid group at the same concentration.

42.10% 세포독성을 나타냈으며, 50% 세포독성을 나타내는 농도 (ID₅₀)는 519.17 µg/mL로 나타났다. 따라서 이후의 실험은 독성이 거의 없는 100 µg/mL 이하의 농도에서 진행하였으며 멜라닌 생성 억제효과로서 보고된 해양자연물 미역취 추출물(17)의 경우에도 세포독성이 거의 없는 농도가 100 µg/mL 이하인 것과 비교하였을 때 자연물시료로서 독성이 없는 안전한 물질로 판단된다.

공심채 추출물의 산화방지 활성

공심채 추출물에 대해서 DPPH 라디칼 소거 활성법(14)으로 대조구로 아스코브산을 이용하여 산화방지 활성을 측정하였다. 추출물 시료와 대조구 시료를 각각 10, 50, 100 µg/mL의 농도로 제조하여 DPPH 소거활성을 측정한 결과(Fig. 2), IAE 추출물 시료의 농도가 증가할수록 라디칼 소거능 활성이 증가되는 경향을 보

였으며 농도 10 µg/mL 경우 같은 시료농도 대조구인 아스코브산과 비교 하였을 때는 소거활성이 다소 낮았으나 77.50%의 소거능 활성을 보였다. IAE 각각에 대한 50, 100 µg/mL의 추출물 농도에서는 대조구와 거의 같은 라디칼 소거활성을 보였다(91.2, 91.30%). 또한, IAE의 경우, 50% 라디칼 소거활성 농도는 7.84 g/mL였으며 대조군 표준시료인 아스코브산의 경우는 5.65 µg/mL였다. 또한, 미백효과로서 보고된 정공피(18) 및 대나무(19) 추출물의 100 µg/mL 경우 각각 40, 50%의 소거활성을 보이는 것과 비교할 때, 산화방지 소재로서 더 우수한 공심채 추출물의 가능성을 확인할 수 있다.

공심채 추출물의 타이로시네이스 저해활성

타이로시네이스는 구리를 포함한 효소로서 멜라닌 형성에 중요한 역할을 하고 있다. 이러한 멜라닌 중합체 생합성을 효과적으로 저해하기 위한 타이로시네이스 저해활성을 측정하기 위하여 공심채 추출물에 대한 mushroom유래의 타이로시네이스 저해활성을 관찰하였다(Fig. 3). 추출물시료 10, 50, 100 µg/mL의 경우, 각각 14.30, 32.55, 49.66%의 타이로시네이스 저해활성을 나타내었다. 한편, 미백활성의 표준시료로써 kojic acid 100 µg/mL의 경우 46.97%의 저해활성을 나타내었다. 또한, IAE의 경우, 50% 타이로시네이스 저해활성 농도는 106.56 µg/mL였으며 대조군 표준시료인 kojic acid의 경우는 111.17 µg/mL였다. 공심채 추출물시료가 대조군 kojic acid와 비교했을 때, 50% 저해활성 농도가 낮게 나타남을 보임으로써 향후 미백 기능성 소재로서의 활용 가능성이 높다고 생각된다.

공심채 추출물의 멜라닌 생성 저해활성

공심채 추출물에 대한 세포독성 실험 측정에서 정한 독성이 없는 농도에서 멜라닌 생성 저해 활성을 측정하였다(Fig. 4). 대조군 대비하여 10, 50, 100 µg/mL의 IAE 농도에서 각각 41.80, 66.10, 71.50%의 멜라닌 생성 억제 활성을 확인하였다. 또한, 50% 멜라닌 저해활성 농도는 41.75 µg/mL이었으며 다른 천연소재 중

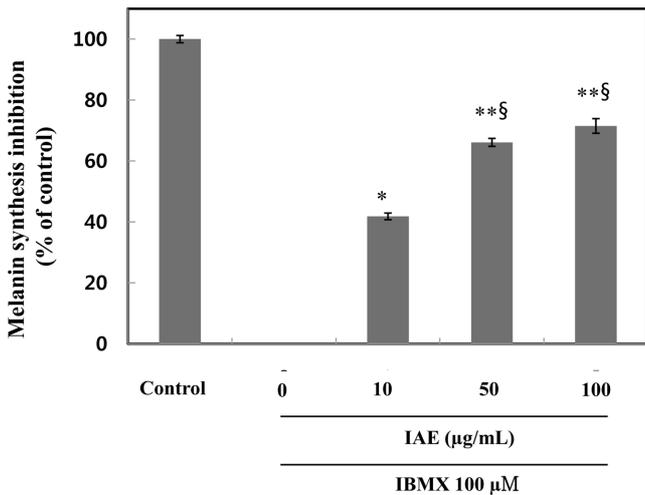


Fig. 4 Anti-melanogenic effects of *Ipomoea aquatica* extract (IAE). Cells were treated with 100M IBMX in presence or absence of IAE at the indicated concentration for 2 days. Untreated group (both IAE and IBMX) was used as a control. Values are presented as mean±SEM. Differences were considered statistically significant, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared to the IAE-untreated group, § $p < 0.05$ compared to the IAE 10 µg/mL group.

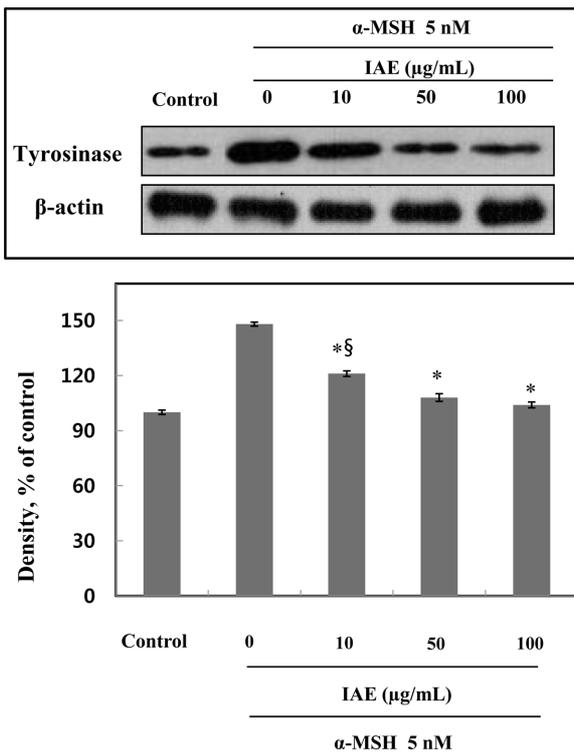


Fig. 5 Effect of *Ipomoea aquatica* extract (IAE) on expression of tyrosinase. Western blot analysis on expression of tyrosinase. Cells were treated with 5 nM α -MSH in presence or absence of IAE at the indicated concentration for 2 days. β -actin was used as an internal standard. Untreated group(both IAE and α -MSH) was used as a control. Values were normalized to β -actin before calculating changes and presented as mean±SEM. Differences were considered statistically significant, * $p < 0.05$ compared to the IAE-untreated group, § $p < 0.05$ compared to the control group.

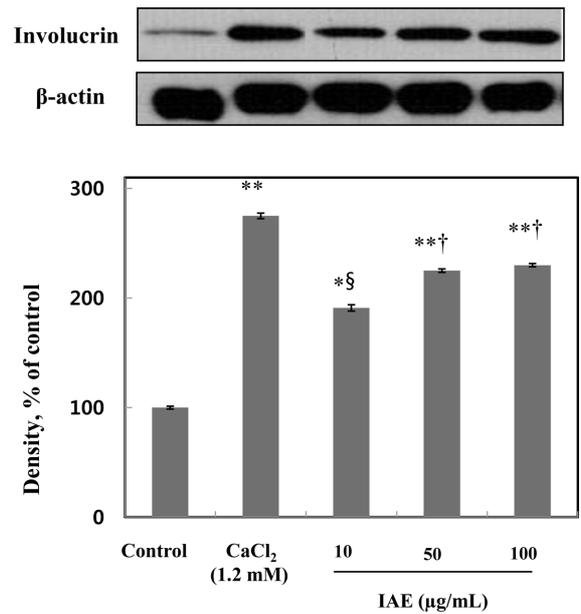


Fig. 6 Effect of *Ipomoea aquatica* extract (IAE) on expression of involucrin. Each signal was quantified by scanning densitometry. β -actin was used as an internal standard. 1.2 mM CaCl_2 was used as a positive control and no treatment was used as a negative control. Values were normalized to β -actin before calculating changes and presented as mean±SEM. Differences were considered statistically significant, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared to the control group, § $p < 0.05$ compared to the CaCl_2 group, † $p < 0.05$ compared to the IAE 10 µg/mL group.

미백활성 효과로서 보고된 바(20) 있는 백합뿌리 추출물 100 µg/mL의 경우 74% 멜라닌 생성 저해활성을 보이는 것을 고려하면 멜라닌 생성 저해 활성이 매우 우수함을 의미한다. 즉, 시험재료에 있어서 피부미백효과는 멜라닌 생성 저해에 따른 타이로시네이스 저해효과가 나타나야 한다. 본 연구의 공심채 추출물의 경우도 멜라닌 저해 활성이 우수하였으며 이에 따른 타이로시네이스 저해활성도 높았다.

공심채 추출물의 타이로시네이스 발현 억제 효과

공심채 추출물에 의한 타이로시네이스 단백질 발현에 미치는 영향을 독성이 없는 농도에서 측정하였다(Fig. 5). α -MSH 처리로 멜라닌 생성을 유도한 후, α -MSH와 IAE 모두 처리 하지 않은 대조군 대비하여 α -MSH와 함께 각각 무처리, 10, 50, 100 µg/mL의 IAE 농도에서 각각 149, 121, 108, 104%로 농도 의존적으로 타이로시네이스 발현이 억제되었으며, 500 µg/mL IAE 농도에서부터 대조군과 통계적으로 차이가 없이 저하되는 것을 확인하였다. 따라서 공심채 추출물의 경우, 직접적인 타이로시네이스 활성저해는 단백질 발현억제 효과에 의한 기작으로 멜라닌 생성이 억제된 것으로 판단된다(21).

공심채 추출물의 인볼루크린(involucrin) 발현 효과

피부장벽 보호 지표물질로서 관련된 단백질인 인볼루크린 발현에 대한 공심채 추출물의 영향을 측정하였다(Fig. 6). 무처리 대조군 및 양성대조군인 1.2 mM CaCl_2 와 함께 10, 50, 100 µg/mL의 IAE 농도에서 각각 191, 225, 230%로 농도 의존적으로 인볼

루크린 발현이 증가되었으며 1.2 mM 염화칼슘(CaCl_2) 275%에 비해서는 다소 낮았다. 따라서 공심채 추출물은 피부장벽 보호 역할이 있는 것으로 보인다. 특히, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 높은 인블루크린 발현증가 효과를 보이다가 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서는 증가 폭이 다소 낮았다. 이는 일정농도 이상에서는 인블루크린 발현에 큰 영향이 없음을 의미한다. 한편, 공심채 추출물의 유효 활성물질은 동일 추출조건에서 본 연구자가 진행한 연구결과에 따르면 플라보노이드(flavonoid) 성분들이 다량 함유되어 있을 것으로 생각된다(12).

요 약

본 연구에서 공심채(*Ipomoea aquatica*)에 대한 다양한 생리활성을 조사하여 기능성소재 응용가능성을 검토하였다. 공심채 추출물은 멜라노마 세포에 대하여 낮은 세포독성을 나타냈다. 세포독성이 거의 없는 농도에서 공심채 추출물 처리 시, 산화방지 활성(ID_{50} , 7.84 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 타이로시네이스 활성저해(ID_{50} , 106.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 및 멜라닌 함량 저하(ID_{50} , 41.75 $\mu\text{g}/\text{mL}$)를 보여주었다. 공심채 추출물 농도 의존적으로 타이로시네이스 발현이 억제되었으며, 이는 공심채 추출물이 직접적인 타이로시네이스 활성저해 및 세포 내 타이로시네이스 발현을 억제시킴으로써 멜라닌 합성을 저해하는 것으로 판단된다. 또한, 공심채 추출물이 피부장벽 보호 지표물질로서 관련된 단백질인 인블루크린 발현을 증가시키는 것을 확인하였다. 이와 같은 결과로 미루어 볼 때 공심채 추출물은 피부미백 소재 등 피부장벽 개선 효과를 지닌 기능성 화장품에 활용하기 위한 매우 효과적인 재료가 될 수 있다고 판단된다.

References

- Elias PM. Stratum corneum defensive functions: An integrated view. *J. Invest. Dermatol.* 125: 183-200 (2005)
- Holleran WM, Takagi Y, Menon GK, Jackson SM, Lee JM, Feingold KR, Elias PM. Permeability barrier requirements regulate epidermal beta-glucocerebrosidase. *J. Lipid Res.* 35: 905-912 (1994)
- Downing DT. Lipid and protein structures in the permeability barrier of mammalian epidermis. *J. Lipid Res.* 33: 301-313 (1992)
- Kuenzli S, Saurat JH. Peroxisome proliferator-activated receptors in cutaneous biology. *Br. J. Dermatol.* 149: 229-236 (2003)
- Briganti S, Camera E, Picardo M. Chemical and instrumental approaches to treat hyperpigmentation. *Pigment Cell. Res.* 16: 101-110 (2003)
- Lamy E, Schrder J, Paulus S, Brenk P, Stahl T, Mersch-Sundermann V. Antigenotoxic properties of *Eruca sativa* (rocket plant), erucin and erysolin in human hepatoma (HepG2) cells towards benzo(a)pyrene and their mode of action. *Food Chem. Toxicol.* 46: 2415-2421 (2008)
- Dua TK, Dewanjee S, Gangopadhyay M, Khanra R, Zia-Ul-Haq M. Ameliorative effect of water spinach, *Ipomoea aquatica* (Convolvulaceae), against experimentally induced arsenic toxicity. *J. Transl. Med.* 13: 81-98 (2015)
- Malalavidhane TS, Wickramasinghe SM, Perera MS, Jansz ER. Oral hypoglycaemic activity of *Ipomoea aquatica* in streptozotocin-induced, diabetic wistar rats and type II diabetics. *Phytother. Res.* 17: 1098-1100 (2003)
- Badruzzaman SM, Husain W. Some aquatic and marshy land medicinal plants from Hardoi district of Uttar Pradesh. *Fitoterapia* 63: 245-247 (1992)
- Samuelsson G, Farah MH, Claesson P, Hagos M, Thulin M, Hedberg O, Warfa AM, Hassan AO, Elmi AH, Abdurahman AD. Inventory of plants used in traditional medicine in Somalia. II. Plants of the families Combretaceae to Labiatae. *J. Ethnopharmacol.* 37: 47-70 (1992)
- Chopra RN, Nayar SL, Chopra IC. Glossary of Indian medicinal plants. Council of Scientific and Industrial Research, New Delhi, India (1956)
- Kim B, Choi YE, Kim HS. *Eruca sativa* and its flavonoid components, quercetin and isorhamnetin, improve skin barrier function by activation of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- α and suppression of inflammatory cytokines. *Phytother. Res.* 28: 1359-1366 (2014)
- Ranke J, Mlter K, Stock F, Bottin-Weber U, Poczobutt J, Hoffmann J, Ondruschka B, Filser J, Jastorff B. Biological effects of imidazolium ionic liquids with varying chain lengths in acute *Vibrio fischeri* and WST-1 cell viability assays. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 58: 396-404 (2004)
- Miliauskas G, Venskutonis PR, van Beek TA. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chem.* 85: 231-237 (2004)
- Masamoto Y, Ando H, Murata Y, Shimoishi Y, Tada M, Takahata K. Mushroom tyrosinase inhibitory activity of esculentin isolated from seeds of *Euphorbia lathyris* L. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67: 631-634 (2003)
- Hosoi J, Abe E, Suda T, Kuroki T. Regulation of melanin synthesis of B16 mouse melanoma cells by 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 and retinoic acid. *Cancer Res.* 45: 1474-1478 (1985)
- Jeon YS, Jung YJ, Youm JK, Kim YK, Kim SN. Inhibitory effect of *Endarachne binghamiae* extract on melanin synthesis. *Korean J. Plant Res.* 26: 526-532 (2013)
- Kim TH, You JK, Kim JM, Baek JM, Kim HS, Park JH, Choe M. Antioxidant and whitening effects of *Sorbus commixta* HEDL cortex extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1418-1424 (2010)
- Song HS, Moon HJ, Park BE, Choi BS, Lee DJ, Lee JY, Kim CJ, Sim SS. Anti-oxidant activity and whitening activity of bamboo extracts. *J. Pharm. Soc.* 51: 500-507 (2007)
- Yoon HS, Yang KW, Kim JE, Kim JM, Lee NH, Hyun CG. Hypopigmenting effects of extracts from bulbs of *Lilium otoriental* hybrid 'Siberia' in murine B16/F10 melanoma cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43: 705-711 (2014)
- Kim B, Lee SH, Choi KY, Kim HS. N-nicotinoyl tyramine, a novel niacinamide derivative, inhibits melanogenesis by suppressing MITF gene expression. *Eur. J. Pharmacol.* 764: 1-8 (2015)