

쇠비름 추출물의 미백 및 항노화, 항염증 효과

장 료^{1,2} · 이현진^{1,2,3} · 윤영민^{1,2,3} · 김수미^{1,2,3} · 김현숙^{1,2,3} · 리순화¹ · 안성관^{1,2,3*}

¹건국대학교 미생물공학과, ²유전단백체 기능제어연구센터, ³(주)라이프엔진

The Melanin Inhibition, Anti-aging and Anti-inflammation Effects of *Portulaca oleracea* Extracts on Cells

Rui Zhang^{1,2}, Hyunjin Lee^{1,2,3}, Yeongmin Yoon^{1,2,3}, Sumi Kim^{1,2,3}, Hyunsook Kim^{1,2,3},
Shun Hua Li¹, and Sungkwan An^{1,2,3*}

¹Department of Microbial Engineering, ²Functional Genoproteome Research Centre, Konkuk University, Seoul, Korea, ³LIFeNGENE, Inc. Seoul, Korea.

Abstract The *Portulaca oleracea* (*P. oleracea*) is a popular herbal medicine in East Asia that was known to possess detoxification, antifebrile and antifungal effects. In the present study, we examined the biological activities of ethanol extracts of *P. oleracea* under various conditions with NIH3T3, B16F10, and MCF-7 cell line model systems. Extracts of *P. oleracea* (0.5 mg/ml) showed inhibition of expression of tyrosinase, but does not suppress either of TYRP-1 or DCT expression on B16F10 cells. Extracts of *P. oleracea* (2 mg/ml) showed anti-inflammatory effects on TNF- α -stimulated NIH3T3/NF κ B-Luc cells and increase of the synthesis of collagen on NIH3T3 (wild type) cells. These results suggest that extracts of *P. oleracea* could be used as a functional biomaterial in developing a skin whitening agent and having the anti-inflammatory, anti-wrinkle, and anti-aging activities.

Keywords: *Portulaca oleracea*, tyrosinase, collagen, anti-inflammation, anti-aging

서 론

과학과 의학의 발전으로 평균수명이 길어지고 생활수준의 향상으로 정신적, 육체적으로 건강과 아름다운 행복한 삶에 대한 관심이 급증하고 있다. 이로 인해 경기침체에도 불구하고 사회전반에 걸쳐 친환경, 순식물성을 내세운 제품들의 시장수요가 기하급수적으로 증가하고 있으며 특히, 유기농 식품의 연구와 판매가 급증하고 있다. 화장품업계에 있어서도 식물성화장품은 물론 유기농화장품의 시장규모가 지속적으로 확대하고 있다. 지금까지의 화장품에 있어 식물 추출물은 피부노화 억제에 대한 연구가 가장 많은

부분을 차지하고 있으며, 그 외 항균, 탈모, 세정, 자외선 차단에 대한 연구가 활발히 진행되었으며 현재 많은 제품에 적용되고 있다(1, 2). 따라서 천연 및 유기농 원료와 화장품에 대한 범국가적이며 신뢰성 있는 인증제도가 강화되어야 하며, 이에 근거가 되는 천연 추출물의 효능 검증 연구가 보다 체계적이고 엄격히 이루어져야 할 것이다.

마치현(馬齒莧) 또는 돼지풀이라고 불리는 쇠비름(*Portulaca oleracea*)은 쇠비름과에 속하는 한해살이풀로서, 최초 인도에서 기원하여 그 이후 세계 각처로 전파되었다. 본초강목(本草綱目), 식료초본(食療草本), 본보본초(本寶本草) 등 고대 의학 서적에 의하면 쇠비름(*P. oleracea*)은 청열해독(淸熱解毒), 양혈지혈(涼血止血), 부기(浮氣) 완화, 지사(止瀉) 등 다양한 효능이 있으며 임상에서는 장염, 혈변(血便), 설사, 피부궤양, 단독(丹毒), 뱀이나 벌레에 물린 상처, 피부염증 등 상처나 질병을 치료하였다. 근래에는 쇠비름(*P. oleracea*)이 이질간균, 티푸스균, 대장균, 포도상균

*Corresponding author

Rui Zhang and Hyunjin Lee contributed equally to the work.
Tel: +82-2-450-4054, Fax: +82-2-3437-4055
e-mail: ansfgrc@konkuk.ac.kr

등에 대한 억제작용이 현저하다고 새롭게 밝혀지고 있다. 더욱이 급성 장염의 완치율은 90%, 만성 장염 완치율은 60%인 것으로 알려져 '천연항생제'라고 평가되기도 한다(3-7).

쇠비름 (*P. oleracea*)에는 noradrenalin, flavonoids, cardiac glycosides, anthraquinone glycosides 등의 성분이 확인되었고, 그 외 dihydroxy triethylamine, malic acid, 비타민 B1, B2 등 영양성분도 함유되어 있다(8-10). 최근 보고에 의하면 쇠비름의 성분 중 큰 비율을 차지하고 있는 flavones의 항산화 효과가 아주 뛰어나다고 보고되고 있으며, 산화적 스트레스를 유발하는 요인을 해소함으로써 노화방지 및 심장질환 예방에 효과가 있어 의약품, 화장품 등 다양한 분야에 활용되고 있다(11-16).

자연 지향적이고 환경 친화적인 국내 소비추세에 따라 이미 쇠비름 추출액을 이용한 미백, 항노화 화장품이 출시되고 있으며 항균활성(17), collagen 형성으로 인한 상처치유 능력(7, 18, 19), tyrosine에서 DOPA로의 전환을 도와 melanin 형성에 기여하는 핵심 enzyme인 tyrosinase의 활성을 억제하여 미백에 기여한다(12, 15, 20)는 보고가 있다. 이에 따라 본 실험에서는 쇠비름 추출물의 NF- κ B 활성 조절을 통한 항염증 효과와 collagen 합성 촉진에 의한 노화 방지 효과를 확인하였고 tyrosinase mRNA 합성 억제를 통한 미백 작용 기전을 검증하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 쇠비름과 목단피 (*Moutan cortex*)는 경동시장 동의보감에서 구입하였고 추출액은 건조 상태의 쇠비름을 분쇄하여 80%의 ethanol, 60°C에서 4일 동안 진탕 배양하여 준비하였다. 상등액을 취하여 동결건조 한 후 분말을 수득하였으며 pH를 보정하기 위해 이를 PBS buffer에 용해 시켰다. 그 후 filtration시켜 용액을 본 실험에서 사용하였다. 실험에 사용된 α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH), arbutin, L-ascorbic acid, doxolubicin은 Sigma (USA)로부터, Collagen assay kit는 Biocolor (UK), MTT assay kit는 Promega (USA), TNF- α 는 R&D Systems (USA)로부터 각각 구입하여 사용하였다.

세포주 및 세포배양

본 실험에 사용한 B16F10 mouse melanoma cells, NIH3T3 mouse embryonic fibroblast cells, MCF-7 human breast adenocarcinoma cells은 한국 세포주 은행으로부터 분양받아 10% heat inactivated fetal bovine serum (FBS, Invitrogen, USA), 1% penicillin (WelGENE, Korea)을 첨가한 DMEM (WelGENE) 배지를 사용하여 5%의 CO₂와 90%의 습도, 37°C가 일정하게 유지되는 배양기에서 배양하였다.

세포독성 측정

각각의 세포주를 96-well plate에 1×10^3 /well 개의 세포를 접종하여 24시간 동안 배양한 후 시료를 각 well당 다양한 농도로 처리하여 24시간 배양하였다. $1 \times$ MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)가 첨가된 배지를 세포에 처리하여 5% CO₂와 90%의 습도, 37°C가 일정하게 유지되는 배양기에서 10~15분 동안 세포를 배양 후, 배지를 버리고 DMSO (Sigma)로 세포를 용해시켜 ELISA reader (Molecular Devices, USA)를 이용해 570 nm에서 O.D. 값을 측정하였다.

$$\text{세포생존율(\%)} = \frac{\text{시료 첨가군의 O.D. at 570 nm}}{\text{시료 무첨가군의 O.D. at 570 nm}} \times 100\%$$

Tyrosinase 단백질 발현 분석

B16F10 mouse melanoma 세포주를 6-well plate에 4×10^4 /well개로 접종하여 24시간 배양하고 배지를 제거한 후 각각의 well에 시료가 함유된 배지를 처리한 후 5% CO₂와 90%의 습도, 37°C가 일정하게 유지되는 배양기에서 2일 동안 배양하였다. 배양이 끝난 세포는 PBS buffer로 2~3회 세척한 후 RIPA lysis buffer를 첨가하고 4°C에서 30분간 lysis 시킨 후 12,000 rpm에서 30분간 원심분리하였다. 단백질 농도 정량은 Bradford법을 이용하였으며 40 μ g의 단백질을 10% SDS-PAGE를 통해 변성 분리하고, nitrocellulose transfer membrane (Whatman, Germany)에 150 mV로 1시간 동안 transfer하였다. Tyrosinase 항체는 Santa Cruz사 (USA)의 제품을 5% skim milk가 함유된 1X TBST에 1 : 1000으로 희석하여 반응시켰고, 순차적으로 1차 항체 및 2차 항체를 처리한 후 ECL kit (Amersham Pharmacia Biotech, USA)를 사용하여 발광시킨 후 film을 이용하여 현상하였다.

Collagen 합성 측정

NIH3T3 mouse embryonic fibroblasts (wild type)를 6-well plate에 4×10^4 /well 개로 접종하여 24시간 배양하고 배지를 제거한 후, 각 well에 시료가 함유된 배지를 첨가하여 24시간 배양하였다. 배지를 제거한 후 5% FBS가 함유된 배지로 교체하여 24시간 배양하고, 배양 상등액을 수집한 후 단백질 함량을 Bradford기법으로 측정하였다. Collagen assay kit (Biocolor, UK) 따라 100 μ L씩 단백질은 첨가한 튜브에 Sircol Dye 1 mL/sample로 첨가하여 30분 동안 교반 한 후 12,000 rpm, 10분 동안 원심분리하였다. 원심분리를 통해 얻어진 pellet을 10분 동안 건조시킨 다음 alkali reagent를 1 mL/sample로 첨가하여 pellet을 완전히 용해시킨 다음 540 nm에서 흡광도를 측정하고 시료마다 collagen 함유량을 계산하였다.

TNF- α 에 의한 NF- κ B 활성 측정

TNF- α 에 의한 NF- κ B 활성 측정 실험을 위해서 pNF- κ B-luc vector (Panomics, USA) 유전자가 영구 삽입된 NIH3T3/NF κ B-Luc mouse embryonic fibroblasts를 사용하였다. 각각의 시료가 함유된 배지에 NIH3T3/NF κ B-Luc mouse embryonic fibroblasts를 24시간 배양 후, PBS solution으로 2회 세척한 다음 1 \times lysis reagent (Sigma)를 첨가하여 4 $^{\circ}$ C에서 5분 동안 배양시켰다. 12,000 rpm에서 10분간 원심분리하고, 상등액을 새로운 시험관으로 옮긴 후 luciferin (Sigma)을 처리하여 590 nm로 측정하였다.

항노화 활성 측정

시료가 함유된 배지에 MCF7 human breast adenocarcinoma 세포주를 5일간 배양하였다. 배양된 세포를 PBS solution으로 2회 세척하고 1 \times fixative solution (BioVision, USA)로 15분 동안 세포를 고정시킨 다음, x-gal (Sigma)로 24시간 동안 염색시키고 PBS solution으로 세척하였다. 노화된 세포수는 \times 400 배율의 광학현미경 (Olympus, Japan)으로 측정하였다.

결과 및 고찰

쇠비름 추출물의 멜라닌 합성 효소의 저해 효과

쇠비름 알코올 추출물의 tyrosinase 합성 저해 효과를 실험하기에 앞서, 쇠비름 알코올 추출물의 B16F10 mouse melanoma 세포주에 대한 독성을 측정하였다. 대조군으로 사용한 α -MSH와 arbutin은 세포독성을 나타내지 않았으며 각 시료를 농도별(Fig. 1A) 시간별로 (data not shown) 처리하고 MTT assay로 분석한 결과, 사용한 실험조건에서는 세포 독성이 없는 것으로 확인되었다. 또한, 저농도에서 배양기간은 무관하였으나 1 mg/mL 이상의 농도에서는 2일째부터 생존율이 60% 이상 감소하는 것으로 확인되었다 (Fig. 1B). 위의 결과에 의거하여 α -MSH와 arbutin은 세포 독성이 없는 적정 농도에서, 쇠비름 추출액은 2 mg/mL 농도에서 최대 배양 시간을 2일로 실험하였다.

PKA 신호전달경로를 경유하여 멜라닌 합성을 유도하는 것으로 알려진 α -MSH (0.3 mg/mL)와 멜라닌 생성 저해제인 arbutin (1×10^{-4} mg/mL)을 쇠비름 추출액 (0.5 mg/mL)과 함께 처리하여 2일간 배양한 결과 tyrosinase 발현에 영향을 주는 것을 확인 할 수 있었다(Figs. 2A, 2B). 대조군에 비해 쇠비름 추출액을 처리한 경우 tyrosinase 발현이 약 80% 감소하였고 α -MSH를 처리한 경우 보다는 약 82%가 억제되는 것으로 나타났다. 미백제로서 상당한 효과가 있는 것으로 알려져 있는 arbutin에 비해 쇠비름 추출액의 미백효과가 40% 정도 더 있는 것으로 나타났다.

반면, TYRP-1과 DCT 활성에도 영향을 미칠 것이라는 예상과는 달리 이들 단백질의 발현에는 변화가 거의 없었다. 즉, 쇠비름 추출물이 멜라닌 형성을 억제하는데 효과적인 것은 tyrosine에서 DOPA로 전환을 도와주는 효소 tyrosinase의 활성을 감소시키는 것이 원인이며, 고농도의 쇠비름 추출액은 미량의 arbutin을 사용하는 것보다 피부에 대한 안전성이 뛰어나기 때문에 현재 많은 한방 화장품의 원료로 사용하는 것으로 판단된다.

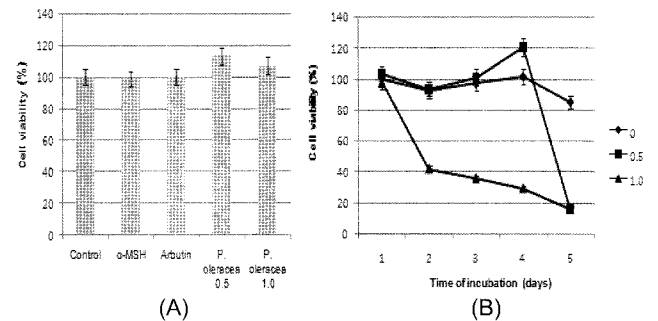


Fig. 1. Cytotoxicity of ethanol extracts of *P. oleracea* on B16F10 mouse melanoma cells.

A, B16F10 mouse melanoma cells were cultured without or with α -MSH (0.3 mg/mL), arbutin (1×10^{-4} mg/mL) and extracts of *P. oleracea* (0.5 and 1.0 mg/mL) for 1 day. B, B16F10 cells were cultured in medium prepared with different concentrations of extracts of *P. oleracea* (0.5 and 1.0 mg/mL) for 1 to 5 days. Analysis of cytotoxicity was carried out using the MTT assay as described in Materials and Methods.

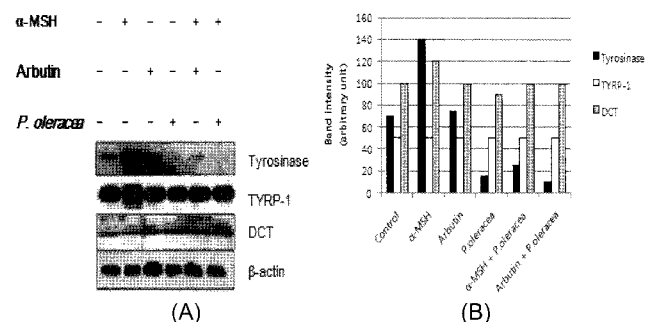


Fig. 2. The inhibitory effect of extract of *P. oleracea* on the protein expression of tyrosinase, TYRP-1, and DCT. A, B16F10 mouse melanoma cells were cultured without or with α -MSH (0.3 mg/mL), arbutin (1×10^{-4} mg/mL) and extracts of *P. oleracea* (0.5 and 1.0 mg/mL) for 2 days. Analysis of the inhibitory effect of extract of *P. oleracea* was carried out using immunoblotting as described in Materials and Methods. B, Each band from A was normalized to expression levels of β -actin and expressed as means of three experiments (arbitrary unit).

쇠비름 추출물의 Collagen 합성 촉진에 미치는 영향

뼈, 연골 조직, 힘줄, 그리고 진피를 구성하는 가장 중요한 요소인 교원질 (collagen fibro)은 섬유아세포 내부에서

모교원질 (tropocollagen) 형태로 생성된 뒤 섬유아세포 외부에서 섬유다발을 형성한다. 이들은 피부 부속기관들과 상피 진피에서 망상 조직을 형성하며 노화의 가장 뚜렷한 척도라 할 수 있는 주름 형성을 억제하는데 관여하므로(21), 본 실험에서는 NIH3T3 mouse fibroblast 세포주를 사용하여 다양한 농도에서 collagen 합성 정도를 측정하였다. Collagen assay를 위해 사용한 kit의 dye reagent는 모든 유형의 collagen [Gly-X-Y] 특정 잔기에 결합함으로써 collagen의 합성 정도를 측정할 수 있다. NIH3T3 세포에서 쇠비름 추출액의 독성을 검사한 결과, 0.1 mg/mL 농도에서는 대조군과 차이가 없는 반면, 0.5~2.0 mg/mL 농도에서 세포 증식에 도움을 주는 것으로 나타났다(Fig. 3A). 이미 collagen 합성에 기여하는 것으로 알려진 L-ascorbic acid (0.5 mg/mL)와 함께 여러 농도로 1일간 배양한 결과 0.5 mg/mL에서는 대조군과 차이가 거의 없었으며 1.0 mg/mL에서는 L-ascorbic acid 만큼은 못 미치지만 유사한 결과를 나타냈다(Fig. 3B). 반면 2.0 mg/mL 농도에서는 L-ascorbic acid보다 collagen 합성을 약 15% 촉진 시키는 결과를 나타내므로, 쇠비름 추출액이 NIH3T3 mouse fibroblast 세포의 성장에 영향을 주며 모교원질 생성을 촉진함으로써 주름 생성 억제 효과가 있는 것으로 사료된다.

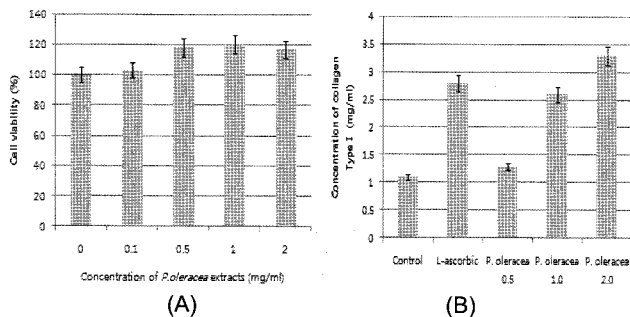


Fig. 3. The enhancing effect of extracts of *P. oleracea* on the production of collagen type I in NIH3T3 mouse embryonic fibroblast cells. A, Analysis of cytotoxicity of extracts of *P. oleracea* on NIH3T3 mouse embryonic fibroblast cells cultured in medium prepared with different concentrations of *P. oleracea* extracts (0.1, 0.5, 1.0, and 2.0 mg/mL) for 1 day. B, NIH3T3 cells were cultured in medium prepared without or with different concentrations of extracts of *P. oleracea* (0.5, 1.0, and 2.0 mg/mL) and L-ascorbic acid (0.5 mg/mL) for 1 day, which were then examined for production of collagen type I as described in Materials and Methods.

쇠비름 추출물의 TNF-α에 의한 NF-κB 활성화에 미치는 효과

외부로부터 침입한 병원체가 선천성 면역반응에 의해 제거되는 단계에서 cytokine의 일종인 TNF-α가 분비되면서 NF-κB가 활성화 되고, 이로 인해 호중구에 의해 병원체가 제거되는 과정에서 염증반응이 유발된다(22). 이에

따라 TNF-α에 의한 NF-κB의 활성화 과정에 쇠비름 추출액이 어떤 영향을 미치는지 확인하였다. TNF-α가 세포를 사멸시키지 않으면서 염증을 유발한다고 알려져 있는 농도인 40 ng/mL의 농도(18)가 본 실험에서도 가장 적절한 농도로 확인되어 이 농도로 실험을 진행하였다(data not shown). 이미 항염증제로 알려진 목단피 (*M. cortex*, 2.5 × 10⁴ mg/mL)를 positive control로 사용하였다. 쇠비름 (2 mg/mL)을 처리 후 24시간 배양한 다음 luciferin 반응을 측정된 결과, 목단피의 경우 TNF-α에 의한 NF-κB의 활성이 50% 감소한 반면 쇠비름의 경우 77% 가량 억제되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4).

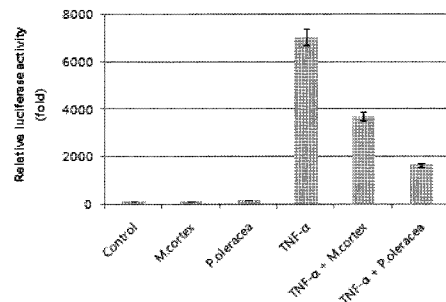


Fig. 4. The inhibitory effect of extracts of *P. oleracea* on TNF-α-induced inflammation in NIH3T3 mouse embryonic fibroblast cells. NIH3T3/NFκB-Luc mouse embryonic fibroblast cells were treated with *M. cortex* (2.5 × 10⁴ mg/mL), *P. oleracea* (2 mg/mL) and TNF-α (40 ng/mL) alone or their combinations for 24 h, which were then examined for activation of NF-κB by monitoring luciferase activities as described in Materials and Methods.

쇠비름 추출물의 항노화 효과

피부노화는 세포주기가 촉진되거나 collagen과 같은 진피 조직의 합성 저해로 발생할 수 있다(21). 쇠비름의 항노화에 대한 효과를 측정하기 위하여 사용된 시약인 doxorubicin은 세포사멸을 유도하는 작용이 있어 현재 항암제로 널리 사용되고 있으며, 고농도로 처리하면 세포사멸이 발생하지만 적당한 농도로 처리하면 세포 노화를 촉진할 수 있다고 알려져 있다(19). 본 실험에서는 doxorubicin을 0.01 μg/mL 농도로 사용하였으며, L-ascorbic acid (0.25 mM)를 positive control로 사용하였다(23). 쇠비름 추출액 (2 mg/mL)을 NIH3T3 mouse fibroblasts에 처리한 후 5일 동안 배양한 결과, collagen 합성을 촉진하여 노화를 억제하는 L-ascorbic acid 만큼 2 mg/mL 농도의 쇠비름 추출액에서 효과가 있음을 확인하였다(Fig. 5). 정상상태인 NIH3T3 mouse fibroblasts에서는 쇠비름 추출액의 효과가 큰 반면, 과노화 상태의 세포에서는 쇠비름 추출액과 L-ascorbic acid의 효과가 비슷하였다. 쇠비름 추출액이 tyrosinase 활성을 억제하여 미백효과를 나타낸과 더불어 세포의 성장에 도움을 주어 collagen 생성 촉진을 통해 노화 방지에 효과가 있는 것으로

사료되며 화장품 원료로서의 활용가치도 있다고 판단된다.

접수 : 2009년 4월 24일, 게재승인 : 2009년 8월 7일

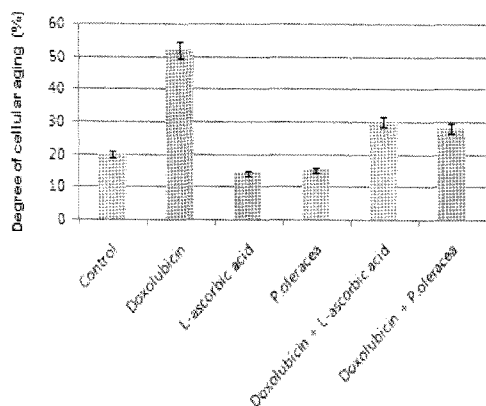


Fig. 5. The inhibitory effect of extracts of *P. oleracea* on doxorubicin-induced aging in MCF-7 human breast adenocarcinoma cells.

MCF-7 human breast adenocarcinoma cells were treated with doxorubicin (0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$), L-ascorbic acid (0.25 mM) and *P. oleracea* extract (2 mg/mL) for 5 days, which were then examined for degrees of cellular aging by x-gal-stained cell counting as described in Materials and Methods.

요약

본 연구에서는 몇 가지 생물공학 기반 기술로서 이미 한방 화장품의 소재로 사용되고 있는 쇠비름 에탄올 추출액의 tyrosinase 저해, collagen 합성, 항염증 기대 효과, 항노화 대한 효능을 알아보기 위하여 B16F10 mouse melanoma cell, NIH3T3 mouse embryonic fibroblast, MCF-7 human breast adenocarcinoma cell에 쇠비름 추출액을 처리하여 실험하였다. 실험 결과, 쇠비름 에탄올 추출액 (0.5mg/mL)은 tyrosinase 발현을 억제하여 멜라닌 합성을 억제하며, 농도 의존적으로 NIH3T3 mouse fibroblast 세포의 collagen 합성을 촉진시켰다. 또한 2.0 mg/mL 농도의 쇠비름 추출액은 목단피보다 더욱 효과적으로 cytokine (TNF- α)에 의한 NF- κ B 활성을 억제시켰다. Doxorubicin에 의한 과노화에서도 효과적인 항노화 작용을 하는 것으로 나타났다. Tyrosinase 합성을 억제하므로 미백에 대한 효과와 세포의 성장을 도와 collagen 합성을 촉진함으로써 노화방지에 효과적인 것으로 사료되며, TNF- α 에 의한 NF- κ B의 활성화를 저해함으로써 염증반응 억제 효과도 기대 할 수 있다.

감사

본 논문은 2009학년도 건국대학교의 지원에 의하여 연구 되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Kim, K. H., I. K. Kang, E. J. Kang, E. K. Yang, and S. N. Park (2004), A research trend of natural product on well-being industry. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*. **30**, 329-343.
- Yoon, K. H. (2003), A study on trend analysis and product development of functional whitening cosmetics using natural resources. M. S. Thesis, Dept. of Management for cosmetic business industry. Chungang University, Seoul.
- Yang, Z., C. Liu, L. Xiang, and Y. Zheng (2009), Phenolic alkaloids as a new class of antioxidants in *Portulaca oleracea*. *Phytother. Res.* 10.1002/ptr.2742
- Yang, Z. J., Y. N. Zheng, and L. Xiang (2007), Study on chemical constituents of *Portulaca oleracea*. *Zhong Yao Cai*. **30**, 1248-1250.
- Kim, K. W., and J. S. Park (1988), Identification of physiologically active compounds from purslane (*Portulaca oleracea* L.), *J. Weed Sci.* **8**, 169-175.
- Elkhayat E. S., S. R. Ibrahim, and M. A. Aziz (2008), Portulene, a new diterpene from *Portulaca oleracea* L., *JANPR*. **10**, 1039-1043.
- Rasheda, A. N., F. U. Afifi, and A. M. Disib (2003), Simple evaluation of the wound healing activity of a crude extract of *Portulaca oleracea* L. (growing in Jordan) in *Mus musculus* JVI-1, *J. Ethnopharmacol.* **88**, 131-136.
- Rocha, M. J., S. F. Fulgencio, A. C. Rabetti, M. Nicolau, A. Poli, C. M. Simões, and R. M. Ribeiro-do-Valle (1994), Effects of hydroalcoholic extracts of *Portulaca pilosa* and *achyrocline satureioides* on urinary sodium and potassium excretion, *J. Ethnopharmacol.* **43**, 179-83.
- Simopoulos, A. P., D. X. Tan, L. C. Manchester, and R. J. Reiter Purslane (2005), A plant source of omega-3 fatty acids and melatonin, *J. Pineal Res.* **39**, 331-332.
- Xing, J., Z. Yang, B. Lv, and L. Xiang (2008), Rapid screening for cyclo-dopa and diketopiperazine alkaloids in crude extracts of *Portulaca oleracea* L. using liquid chromatography/tandem mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **22**, 1415-1422.
- Dweck A. C. (2001), (*Portulaca oleracea*)-the global panacea. *Personal Care Magazine*. **2**, 7-15.
- Cho, Y. J., I. S. Ju, O. J. Kwon, S. S. Chun, B. J. An, and J. H. Kim (2008), Biological and antimicrobial activity of *Portulaca oleracea*. *J. Korea Soc. Appl. Biol. Chem.* **51**, 49-54.
- Kim, S. H., E. J. Kim, and S. K. Park (2007), The

- moisturizing and cooling effects of the cosmetic products containing scrophulariae radix, poria, loniceræ flos, *Portulacæa* herba and ginkgo folium extract on human skin, *J. Herbol.* **22**, 45-50.
14. Farage, M. A., K. W. Miller, P. Elsner, and H. I. Maibach (2008), Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review, *Int. J. Cosmet. Sci.* **30**, 87-95.
 15. Veronique, D. M., and F. Beermann (1996), Tyrosinase and related proteins in mammalian pigmentation, *FEBS Letters* **381**, 165-168.
 16. Fisher, G. J., S. C. Datta, H. S. Talwar, Z. Q. Wang, J. Varani, S. W. Kang, and J. J. Voorhees (1996), Molecular basis of sun induced premature skin aging and retinoid antagonism, *Nature* **379**, 335-339.
 17. Oh K. B., I. M. Chang, K. J. Hwang, and W. Mar (2000), Detection of antifungal activity in *Portulaca oleracea* by a single-cell bioassay system, *Phytother. Res.* **14**, 329-332.
 18. Talwar, H. S., C. E. Griffith, and G. J. Fisher (1995), Reduced type I and type III procollagens in photodamaged adult human skin, *J. Invest. Dermatol.* **105**, 285-290.
 19. Uitto, J. (1986), Connective tissue biochemistry of the aging dermis. Age related alterations in collagen and elastin, *Dermatol. Clin.* **4**, 433-446.
 20. Baurin, N., E. Arnoult, T. Scior, Q. T. Do, and P. Bernard (2002), Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity, *J. Ethnopharmacol.* **82**, 155-158.
 21. Y. S. Han et al. (2005), topic *Dermatology* **2**, 41-42, Jungdam Media.
 22. Abul, K. A., H. L. Andrew, and S. P. Jordan (1994), *Cellular and Molecular Immunology* **2**, 243-251.
 23. Uitto, J., M. J. Fazio, and D. R. Olsen (1989), Molecular mechanisms of cutaneous aging, *J. Am. Acad. Dermatol.* **21**, 614-622.