

품종별 땅콩 종피 추출물의 효소저해활성 및 암세포주 증식억제 효과

김민영 · 김현주* · 이유영* · 김미향* · 이진영* · 이병규** · †이병원*

국립식량과학원 증부작물부 수확후이용과 전문연구원, *국립식량과학원 증부작물부 수확후이용과 농업연수사,

**국립식량과학원 증부작물부 수확후이용과 농업연수관

Enzyme Inhibitory and Anti-Proliferation Effects of Peanut Skin Extracts Depending on Cultivar

Min Young Kim, Hyun-Joo Kim*, Yu-Young Lee*, Mi Hyang Kim*,

Jin Young Lee*, Byoungkyu Lee** and †Byong Won Lee*

Post-Doctor, Department of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 16613, Korea

*Researcher, Department of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 16613, Korea

**Senior Researcher, Department of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 16613, Korea

Abstract

The purpose of this study was to investigate the inhibitory effect of enzyme activity and anti-proliferation of human cancer cell lines (HCT 116, NCI-H460 and MCF-7) of peanut skin depending on cultivars (*Arachis hypogaea* L. cv. K-Ol, cv. Sinpalkwang, cv. Daan, cv. Heuksaeng) and extraction solvent. Peanut skin was extracted with 80% ethanol, 80% methanol, 80% acetone, and distilled water, followed by analysis of the enzyme inhibitory activity and anticancer activity. Methanol extract of Daan cultivar most effectively inhibited α -glucosidase (65.08%, 0.025 mg/mL), tyrosinase (82.49%, 2 mg/mL) and ACE (73.61%, 10 mg/mL). The inhibitory effect of peanut skin extracts on colon cancer cell (HCT-116), lung cancer cell (NCI-H460) and breast cancer cell (MCF-7) growth were investigate using MTT assay. The highest anti-proliferation of cancer cell line of peanut skin extracts was observed in the methanol extract of Daan cultivar. The cell viability on HCT 116, NCI-H460 and MCF-7 cell lines of methanol extracts from peanut skin of Daan cultivar was 48.13%, 41.03%, and 36.02% at 200 μ g/mL, respectively. These results suggest that peanut skin extracts may mediate physiological activity, and provide valuable information for the use of peanut byproduct as a functional food material.

Key words: peanut skin, cultivars, enzyme inhibitory activity, anticancer activity

서 론

땅콩(*Arachis hypogaea* L.)은 장미목(Rosales) 콩과(Fabaceae)에 속하는 1년생 초본 식물로 문헌에서 전해지는 역사적 기원은 남아메리카 열대지역에서 오래(약 B.C. 950년)전부터 재배되어 왔다고 알려져 있다. 땅콩의 높은 유지 함량으로 인해 유지원료 작물로 재배되며, 식용 기름으로 이용되거나, 단백질 공급을 위한 식품 급원으로 가공처리를 하지 않은 상태의 땅콩으로의 섭취가 이루어지고 있다(Woodroof 1973; Woodroof 1983). 농촌진흥청에서는 땅콩에 대한 연구로 수량

성이 높고 재배가 쉬우면서 품질이 우수한 신탄광(Pae 등 2016a) 및 다안(Pae 등 2017a), 올레산 함량이 82% 이상 함유된 기능성 품종인 케이올(Pae 등 2016b), 안토시아닌 함량이 높은 품종인 흑생(Pae 등 2017b)등 60여 종의 땅콩 품종을 육성하였으며, 품종별 유지의 지용성 영양성분, 산화 안정성 및 이화학적 특성에 대한 연구(Lee 2001; Lim 등 2017)와 함께 땅콩의 기능성에 대한 연구는 종자를 중심으로 진행되었다.

특히 땅콩이 가진 높은 불포화지방산 조성은 혈중 저밀도 지질단백질(LDL)-콜레스테롤 함량을 감소시키며, 땅콩 유지

† Corresponding author: Byong Won Lee, Researcher, Department of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, Suwon 16613, Korea. Tel: +82-31-695-0625, Fax: +82-31-695-0609, E-mail: bwlee@korea.kr

내 식물성 스테롤은 장내 콜레스테롤 흡수를 저해하고, 지용성 비타민의 하나인 tocopherol은 체내 활성산소를 소거하여 유리라디칼 및 과산화 지질의 생성을 억제한다고 알려져 있다(Ricciareli 등 2001; Ostund 등 2002; Sabat 등 2010). 그 밖에도 땅콩에는 resveratrol(3,5,4'-trihydroxystilbene), coumaroyl-rhamnose, *p*-coumaric acid 유도체를 비롯한 폴리페놀 화합물이 2차 대사산물로서 존재하며(Limmongkon 등 2017), 그 중에서도 resveratrol은 항산화 활성과 함께 UV-B에 의해 멜라닌 생성이 유도된 흑색종 세포내에서 tyrosinase 활성과 멜라닌 생성을 효과적으로 저해한다는 연구결과가 보고되었다(Lee 등 2014).

땅콩을 비롯한 브라질넛, 헤이즐넛, 아몬드 등과 같은 유지작물의 종피는 종자에 비해 작은 비중을 차지하지만, 페놀산, 안토시아닌, 프로시아니딘 및 프로안토시아닌 중합체 등의 페놀화합물을 다량 함유하고 있는 것으로 알려져 있으며(Yen 등 2005), 그 중 땅콩 종피는 추출용매에 따라 115~149 mg/g의 페놀화합물이 존재한다고 보고되었다(Nepote 등 2005). 특히, 본 연구에서 사용한 케이올, 신탄팍 및 다안과 같은 적땅콩 종피의 주요 성분은 procyanidin dimer, trimer 및 tetramer 등의 procyanidin oligomer와 catechin, epicatechin, luteolin, quercetin 등의 monomeric flavonoids이며(Yu 등 2006), 흑색과 같은 흑땅콩 종피의 주요 성분은 cyanidin-3-*O*-sophoroside (C3So), cyanidin-3-sambubioside(C3Sa), cyanidin-3-*O*-glucosylrutinoside 및 cyanidin-3-*O*-xylosylrutinoside 등의 안토시아닌 계열로 알려져 있지만(Zhao 등 2017), 땅콩 종피 추출물의 생리활성에 대한 연구는 항산화(Oldoni 등 2016) 및 항균활성(De Camargo 등 2017b)에 대해서 한정적으로 진행되었다.

이와 같이 땅콩의 생리활성에 대한 연구는 불포화 지방산과 resveratrol 함량이 높은 땅콩종자를 중심으로 이루어져 있으며, 땅콩 종피의 구성성분은 구명되었지만, 생리활성에 대한 연구는 상대적으로 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 품종별 땅콩 종피의 추출용매에 따른 효소저해활성 및 암세포주 억제 활성을 검토하여 기능성 식품소재 개발을 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 추출물 제조

본 연구에서 사용된 땅콩 품종은 2018년에 전라북도 전주 소재의 국립식량과학원에서 생산된 케이올(*Arachis hypogaea* L. cv. K-OI), 농업기술실용화재단에서 구입한 신탄팍(cv. Sinpalkwang), 고창이엠푸드에서 생산된 다안(cv. Daan)과 흑색(cv. Heuksaeng) 품종을 사용하였다. 땅콩 종피 추출물을 제조하기 전에 품종별 시료는 종피와 종자를 분리한 후 분쇄기(Hanil Co., Kangwon,

Korea)를 사용하여 분쇄하여 추출 시료로 사용하였다. 땅콩 종피는 시료 중량 대비 10배량의 80% 에탄올(v/v), 80% 메탄올(v/v), 80% 아세톤(v/v) 및 증류수(v/v)를 첨가하여 1시간동안 3회 반복하여 초음파 추출하고, 이 추출물을 여과, 감압농축 및 동결건조하였으며, 추출물을 100 mg/mL의 농도로 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 용해한 후 증류수 및 배지(DMEM, Gibco Co.)로 희석하여 생리활성 측정용 시료로 사용하였다.

2. α -Glucosidase 저해활성 측정

α -Glucosidase 저해활성은 Tibbot와 Skadsen(1996)의 방법에 따라 측정하였다. α -Glucosidase(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)와 *p*-NPG(*p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, Sigma-Aldrich Co.)는 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.0)에 용해하여 사용하였으며, 10 mg/mL 농도의 추출물 50 μ L를 0.35 unit/mL α -glucosidase 효소액 100 μ L와 혼합하여 37°C에서 10분간 전배양한 후 1.5 mM *p*-NPG 50 μ L를 가하여 37°C에서 20분간 반응시켰다. 1 M Na₂CO₃ 1 mL를 가하여 반응을 정지시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하고 저해율(%)을 계산하였으며, positive control로 acarbose(Sigma-Aldrich Co.)를 사용하였다.

3. Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 활성은 Kubo 등(1994)의 방법을 변형하여 사용하였다. 반응액의 총 부피는 300 μ L이며, 0.07 M sodium phosphate buffer 180 μ L, 5 mg/mL 농도의 각 추출액 30 μ L, 0.1 mM L-3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA, Sigma-Aldrich Co.) 40 μ L, tyrosinase(Sigma-Aldrich Co.) 50 μ L를 넣고 25°C에서 10분 동안 반응시킨 후 475 nm에서 흡광도를 측정하고 저해율을 계산하였으며, positive control로 kojic acid(Sigma-Aldrich Co.)를 사용하였다.

4. Angiotensin converting enzyme I (ACE) 저해활성 측정

ACE(Angiotensin I Converting Enzyme) 저해활성은 Cushman과 Cheung(1971)의 방법으로 다음과 같이 실시하였다. Hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL, Sigma-Aldrich Co.) 25 mg을 0.1 M sodium borate buffer(pH 8.3)에 용해하여 제조한 기질 30 μ L에 10 mg/mL 농도의 시료 10 μ L를 가하여 37°C에서 10분간 반응하였다. 그 다음 효소 Angiotensin Converting Enzyme(0.5 unit/mL, Sigma-Aldrich Co.) 10 μ L를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응한 다음 1 N HCl 50 μ L를 첨가하여 반응을 종료하였다. 그 후 모든 처리군에 ethyl acetate 300 μ L를 첨가한 다음 원심분리기를 이용하여 원심분리를 한 후 상층액 250 μ L를 취해서 70°C에서 1시간 동안 방치하였다. 그 다음 증류수

300 μ L를 첨가하여 교반 후 228 nm에서 흡광도를 측정하고 저해율을 계산하였으며, positive control로 enalapril maleate (Sigma- Aldrich Co.)를 사용하였다.

5. 암세포주 배양

본 실험에서 사용한 암세포는 NCI-H460(lung cancer cell), HCT-116(colon cancer cell) 및 MCF-7(breast cancer cell)를 한국세포주은행에서 분양받아 사용하였다. 각각의 세포는 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco Co., Carlsbad, California, USA)과 100 U/mL penicillin G, 50 μ g/mL streptomycin을 첨가한 DMEM 배지(Gibco Co.)를 사용하여 5% CO₂, 37°C 배양기(EYELA, Vision scientific Co., Daejeon, Korea)에서 배양하였으며, 세포 밀도가 높아지면 5분간 trypsin-EDTA를 처리하여 계대배양을 실시하였다.

6. 세포독성 측정

땅콩 종피 추출물의 세포독성은 일반세포인 3T3-L1 cell을 이용하여 Ishiyama 등(1996)의 방법에 따라 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay를 이용하여 측정하였다. 3T3-L1 cell은 한국세포주은행에서 분양받아 사용하였으며, 1×10^5 cell/well 농도로 96 well plate에 100 μ L씩 분주한 후 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양하였다. 시료는 일정농도가 되도록 DMSO로 희석하여 사용하였으며, 배양에 사용된 배지를 제거하고 배지에 일정농도로 희석된 시료를 첨가하여 다시 24시간 배양하였다. 배양 완료 후 2 mg/mL 농도의 MTT 시약을 well당 10 μ L씩 첨가한 다음 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 4시간 후 MTT 시약이 포함된 배지를 제거하고, DMSO 100 μ L를 가한 후 상온에서 발색시키고, ELISA microplate reader(ELx 808, Bio-Tek Inc., Winooski, VT, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각각의 세포독성은 세포생존률로 표시하였고, 3T3-L1 cell에서 세포독성을 나타내지 않는 농도범위 내에서 암세포주 성장억제 효과를 측정하였다.

7. 암세포주 성장억제 효과 측정

땅콩 종피 추출물의 암세포 성장억제 효과를 측정하기 위해 Ishiyama 등(1996)의 방법에 따라 MTT assay로 측정하였다. 즉, 각각의 암세포주를 1×10^5 cell/well 농도로 96 well plate에 100 μ L씩 분주한 후 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양하였다. 전 배양에 사용된 배지를 제거하고, 배지에 일정농도로 희석된 물 및 추출물 100 μ L를 첨가하여 다시 24시간 배양하였다. 배양 완료 후 2 mg/mL 농도의 MTT시약을 well당 10 μ L씩 첨가한 다음 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 4시간 후 MTT 시약이 포함된 배지를 제거하고 dimethyl sulfoxide

(DMSO) 100 μ L를 가한 후 상온에서 발색시키고, ELISA microplate reader(ELx808, Bio-tek[®] Inc., Winooski, VT, USA)를 이용, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각각의 암세포주 증식 억제율은 생존율로 표시하였다.

8. 통계분석

통계분석은 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0 SPSS Inc., Chicago, USA)을 이용하여 각 측정군의 평균과 표준편차를 산출하고, 품종간의 차이 유무를 one-way ANOVA(analysis of variance)로 분석한 뒤 신뢰구간 $p < 0.05$ 에서 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. α -Glucosidase 저해활성

추출용매에 따른 품종별 땅콩 및 탈지땅콩 추출물의 α -glucosidase 저해활성을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 양성대조군으로 사용한 acarbose는 0.25 mg/mL의 농도에서 47.78%의 α -glucosidase 저해활성을 나타내었다. Acarbose는 N-butyldeoxyojirimycin과 함께 탄수화물 분해 관련 효소를 억제하여 식이 후 혈당 상승을 조절할 수 있는 합성 약물로서, Kim 등(2015)의 연구에서는 acarbose와 N-butyldeoxyojirimycin이 α -glucosidase 저해활성에 대한 IC₅₀값이 각각 447.73 및 569.80 μ g/mL로 측정되었다고 보고하였다. 땅콩 종피 추출물의 α -glucosidase 저해

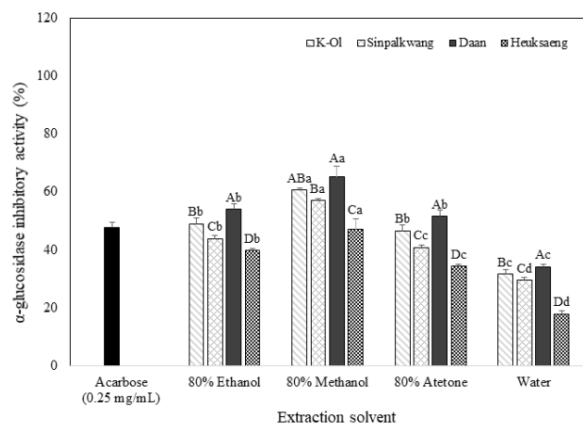


Fig. 1. α -Glucosidase inhibitory activity (%) peanut skin (0.025 mg/mL) depending on cultivars and extraction solvent. Value are mean \pm SD of 4 replicates. Different capital letters in the same items indicate a significant difference ($p < 0.05$) among different cultivars. Different small letters in the same items indicate a significant difference ($p < 0.05$) among different extraction solvent.

활성은 다안 품종이 0.025 mg/mL의 농도에서 34.13~65.08%로 가장 높게 나타났으며, 케이올, 신파광 및 흑생은 동일농도에서 각각 31.70~60.59%, 29.49~56.90% 및 17.87~47.17% 범위로 품종에 관계없이 모든 추출물에 acarbose보다 10배 낮은 농도에서 유사한 범위의 α -glucosidase 저해활성을 보였다. 또한 추출용매에 따른 땅콩 종피 추출물의 α -glucosidase 저해활성은 메탄올 추출물이 47.47~65.08% 범위로 가장 우수한 저해활성을 보였으며, 에탄올 추출물(39.79~53.99%), 아세톤추출물(34.26~51.63%), 물 추출물(17.87~34.13%)의 순서로 높게 나타났다. 즉, 땅콩 종피를 80% 메탄올 및 에탄올로 추출하였을 때 다안품종의 α -glucosidase 저해활성이 각각 65.08% 및 53.99%로 가장 높게 나타났다. α -Glucosidase는 소장 상피세포의 brush-border membrane에 존재하는 효소로서 이당류나 다당류를 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 하며, α -glucosidase에 대한 저해능은 탄수화물 식이 후 혈당상승을 억제할 수 있어 항당뇨 활성 측정법으로 이용된다(Gua 등 2006). 땅콩 종피의 항당뇨 활성에 대한 연구는 α -glucosidase 및 α -amylase 저해활성(Tsukita 등 2013)과 함께 Caco2 소장세포로의 포도당 유입 저해 활성에 대한 연구가 보고되었으며(Tamura 등 2015), 땅콩 및 땅콩 종피 추출물의 항당뇨 효능 평가에 대한 De Camargo 등(2017a)의 연구에서는 땅콩종피(peanut skin), 땅콩종자(whole peanuts), 건조땅콩종자(dry-blanching peanut) 순으로 높은 α -glucosidase 저해활성을 나타낸다고 하여 땅콩 종피 추출물의 항당뇨 활성에 대해 확인하였다.

2. Tyrosinase 저해활성

추출용매에 따른 품종별 땅콩 종피 추출물의 tyrosinase 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 양성대조군으로 사용한 kojic acid는 0.05 mg/mL의 농도에서 50.69%의 tyrosinase 저해활성을 나타내었다. 품종별 땅콩 종피 추출물의 tyrosinase 저해활성은 케이올, 신파광, 다안 및 흑생 품종이 추출물 2 mg/mL의 농도에서 각각 20.54~68.71%, 29.56~76.45%, 37.55~82.49% 및 40.73~80.95%로 나타나 다안과 흑생 품종이 다른 품종에 비해 유의적으로 높은 tyrosinase 저해활성을 보였다. 추출용매에 따른 땅콩종피 추출물의 tyrosinase 저해활성은 품종에 상관없이 80% 메탄올 및 80% 아세톤 추출물이 각각 67.36~82.49% 및 68.71~8.49% 범위로 80% 에탄올 및 물 추출물에 비해 높게 나타났다. Melanin은 피부 흑화 및 기미, 주근깨 같은 피부질환의 원인이 되는데, tyrosinase는 melanin 합성의 key enzyme으로 melanin 합성의 초기단계인 L-tyrosine에서 L-DOPA로 전환시키는 hydroxylase로서의 활성과 L-DOPA에서 L-dopaquinone으로 전환시키는 dopaoxidase로서의 활성을 모두 가지고 있다 (Imokawa & Mishima 1980). 따라서

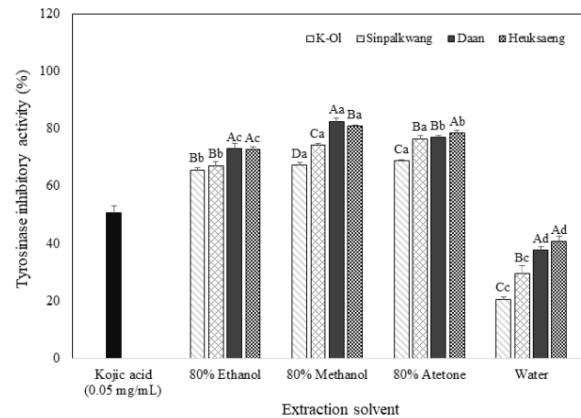


Fig. 2. Tyrosinase inhibitory activity (%) of peanut skin extracts (2 mg/mL) depending on cultivars and extraction solvent. Value are mean \pm SD of 4 replicates. Different capital letters in the same items indicate a significant difference ($p < 0.05$) among different cultivars. Different small letters in the same items indicate a significant difference ($p < 0.05$) among different extraction solvent.

melanin 생합성 과정에서 중요한 역할을 하는 tyrosinase를 억제하게 되면 피부의 melanin 색소 생성을 조절하여 미백효능을 나타내는 물질로 사용할 수 있어 tyrosinase 억제제에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Laskin & Piccinini 1986). 땅콩 종피 추출물의 tyrosinase 저해활성에 대한 연구는 보고된 바 없지만, 포도씨(Bai 등 2019), 녹두종피(Cahi 등 2018) 및 수수(Wang 등 2011)와 같은 식물로부터 추출한 procyanidin dimer, trimer 및 tetramer와 같은 카테킨 중합체와 delphinidin-3-glucoside(D3G), cyanidin-3-glucoside(C3G) 및 petunidin-3-glucoside(P3G)와 같은 안토시아닌 계열의 색소가 UV에 의한 지질 과산화 억제 능력이 있고, 멜라닌 생성에 관여하는 tyrosinase 활성 저해가 있다고 보고한 바 있다. 따라서 본 연구에서 적색땅콩 품종 중 다안이 tyrosinase 저해활성이 높게 나타난 것은 주요 색소성분인 procyanidin oligomer 함량이 신파광 및 케이올보다 높은 것에 기인된 것으로 생각되며, 안토시아닌과 procyanidin oligomer은 메탄올과 아세톤에 효과적으로 추출되는 것으로 판단된다.

3. Angiotensin converting enzyme I (ACE) 저해활성

추출용매에 따른 품종별 땅콩종피 추출물의 ACE 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 양성대조군으로 사용한 enalapril maleate는 0.025 mg/mL의 농도에서 49.27%의 ACE 저해활성을 나타내었다. 품종에 따른 땅콩 종피 추출물의 ACE 저해활성은 다안 품종이 추출물 10 mg/mL의 농도에서 31.37~73.64%로 가장 우수한 저해활성을 보였으며, 흑생 및

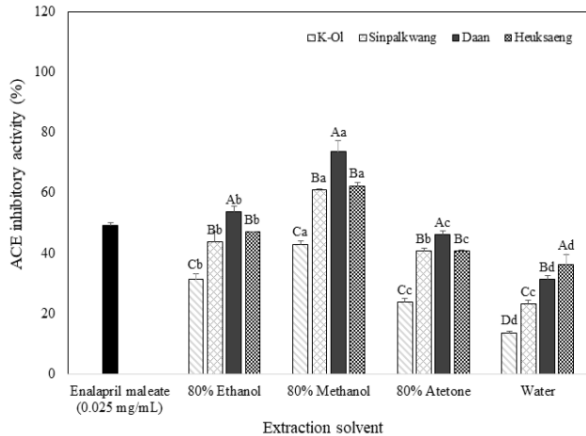


Fig. 3. ACE inhibitory activity (%) of peanut skin (10 mg/mL) depending on cultivars and extraction solvent. Value are mean±SD of 4 replicates. Different capital letters in the same items indicate a significant difference ($p<0.05$) among different cultivars. Different small letters in the same items indicate a significant difference ($p<0.05$) among different extraction solvent.

신팔광 품종은 각각 36.09~62.23% 및 23.16~60.89% 범위로 나타났고, 케이올의 경우 13.68~42.92% 범위로 모든 추출물에서 가장 낮은 저해능을 보였다. 하지만, 물추출물의 경우 특이적으로 다안(31.37%)보다 흑생(36.09%) 품종이 높은 ACE 저해활성을 보여 물 추출 시 적색땅콩보다 흑색땅콩의 항고혈압 활성이 높게 나타났다. 추출용매에 따른 품종별 땅콩 종피추출물의 ACE 저해활성을 살펴보면, 모든 품종에서 80% 메탄올(42.92~73.64%), 에탄올(31.26~53.59%), 아세톤(23.82~46.41%) 및 물 추출물(13.68~36.09%) 순서로 높게 나타났다. 즉, 종합적으로 다안 품종의 땅콩 종피를 80% 메탄올로 추출하였을 때 ACE 저해활성이 10 mg/mL의 농도에서 73.64% 가장 높게 측정되었다. ACE는 불활성형의 angiotensin I(decapeptide)의 C말단에 존재하는 His-Leu를 절단하여 혈관벽 수축작용을 하는 angiotensin II(octapeptide)를 생성하고, 혈압을 감소시키는 bradykinin을 불활성화 시키는 효소이다(Noh & Song, 2001). ACE 저해제는 ACE의 작용을 저해함으로써 angiotensin II의 생성저해, aldosterone 분비 감소, 혈관확장제인 bradykinin의 증가 등의 과정을 통해 신장혈관을 확장시켜 sodium의 배설을 촉진함으로써 혈압을 낮추어 줄 수 있다. 땅콩 종피 추출물의 ACE 저해 활성에 대한 연구는 보고되지 않았지만, 적포도 껍질 및 포도씨로부터 추출한 proanthocyanidins(PAs) 중합체의 ACE 저해활성은 IC_{50} 값이 0.019~24.63 μ M로 우수하게 나타났고, 그 활성은 구조적 특징에 따라 상이하게 나타나 epicatechin 및 galloylation 비율에 따라 다양한 ACE 저

해활성을 보인다고 보고하였다(Godoy 등 2012). 따라서, 본 연구에서 다안 품종의 종피에 proanthocyanidins 함량이 높아 항고혈압 활성이 높게 나타난 것으로 생각되며, ACE 저해 활성이 높은 proanthocyanidins은 메탄올로 추출하였을 때 효과적으로 용출되는 것으로 판단된다.

4. 폐암 (NCI-H460) 성장억제효과

품종 및 추출용매에 따른 땅콩종피 추출물의 인체유래 폐암세포주(NCI-H460) 성장억제효과에 대한 결과는 Fig. 4와 같다. 암세포주의 성장억제 효과 평가전 3T3-L1세포에서 땅콩종피 추출물의 세포독성을 확인 하였으며(Table 1), 90% 이상의 생존율을 보이는 200 μ g/mL 이하의 농도에서 항암활성을 측정하였다. 50 μ g/mL 농도에서는 모든 추출물에서 80% 이상의 세포생존율을 보여 성장억제효과를 나타내지 않았지만 100 및 200 μ g/mL 농도에서는 각각 57.89~73.69% 및 41.03~73.69%의 세포생존율을 보여 품종 및 추출용매에 따라 다양한 항암 활성을 보였다. 품종별 땅콩 종피 추출물은 200 μ g/mL 농도에서 다안(41.03~52.42%), 신팔광(44.08~57.50%), 케이올(46.63~59.87%) 및 흑생(55.91~73.69%) 품종 순으로 폐암세포주의 성장을 억제하였다. 또한, 추출용매에 따른 땅콩 종피 추출물의 폐암세포주에 대한 세포생존율은 메탄올 추출물이 200 μ g/mL의 농도에서 41.03~60.45%로 가장 우수한 억제 효과를 보였으며, 아세톤추출물과 에탄올 추출물이 각각

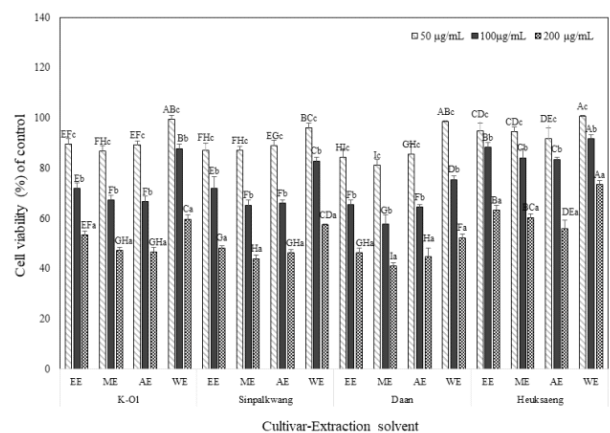


Fig. 4. Anti-proliferative effects of peanut skin extracts depending on cultivars and extraction solvent in NCI-H460 lung cancer cell. Value are mean±SD of 4 replicates. Different capital letters in the same items indicate a significant difference ($p<0.05$) among different cultivars and extraction solvent. Different small letters in the same items indicate a significant difference ($p<0.05$) among different treatment concentration. *EE: ethanol extracts, ME: methanol extracts, AE: acetone extracts, WE: water extracts.

Table 1. Cell viability for Non-cancer cell (3T3-L1 adipocyte cell) of peanut skin extraction depending on cultivars and extraction solvent.

Cultivars	Extraction solvent	Cell viability of non-cancer (3T3-L1) cell (%)				
		50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL	400 µg/mL	800 µg/mL
K-OI	80% EtOH	107.07±1.33	104.59±2.91	102.28±3.70	89.98±4.35	78.71±3.17
	80% MeOH	103.69±5.39	96.96±2.67	93.53±2.62	76.35±3.71	57.81±4.44
	80% Acetone	100.60±3.16	92.95±7.22	90.53±1.02	85.54±1.48	61.35±2.52
	Water	100.80±3.41	105.89±0.93	96.11±2.05	85.89±1.17	70.92±0.85
Sinpalkwang	80% EtOH	107.78±3.04	102.83±2.54	94.43±2.33	83.89±1.44	75.83±2.58
	80% MeOH	105.44±5.74	104.00±3.00	96.71±4.56	85.70±2.50	65.39±4.23
	80% Acetone	100.60±2.59	99.59±2.95	100.99±3.04	79.71±2.23	72.27±1.72
	Water	108.67±1.45	103.18±1.5	98.63±5.48	86.46±2.27	77.00±2.05
Daan	80% EtOH	102.04±7.87	96.05±3.98	91.84±6.62	72.71±3.59	62.27±1.78
	80% MeOH	99.17±4.21	100.16±7.58	90.74±1.94	65.79±2.31	51.79±2.39
	80% Acetone	102.23±4.8	101.16±2.56	93.19±1.59	72.53±2.45	54.77±4.22
	Water	100.98±1.97	96.70±5.71	92.70±3.85	78.94±0.84	70.45±0.73
Heuksaeng	80% EtOH	109.28±3.35	104.24±2.56	96.22±3.67	95.12±4.74	79.87±4.5
	80% MeOH	104.45±8.66	99.04±2.31	98.14±2.24	90.36±3.59	74.72±2.74
	80% Acetone	108.04±1.12	98.48±1.67	91.64±4.45	80.39±3.5	76.54±6.62
	Water	109.16±2.54	106.06±2.39	96.57±4.93	89.36±1.65	78.55±2.76

Value are mean±SD of 4 replicates. Treatment with ≤200 µg/mL of peanut skin extract did not affect 3T3-L1 adipocyte cell viability.

44.93~55.91% 및 46.49~63.31% 범위로 나타났고, 물추출물의 경우 52.42~73.68%로 가장 낮은 억제효과를 나타냈다. 즉, 적색땅콩인 다안 품종을 80% 메탄올로 추출하였을 때, 인체유래 폐암세포주(NCI-H460)에 대한 세포생존율이 50, 100 및 200 µg/mL의 농도에서 각각 81.41, 57.89 및 41.03%로 농도의 의존적으로 감소하여 가장 우수한 항암활성을 보였다. 땅콩 및 땅콩종피 추출물은 유방암, 자궁경부암(Saenglee 등 2016) 및 전립선암(Cehn 등 2018)에 대한 항암활성이 보고되었으며, 땅콩종피로부터 분리한 procyanidin의 전립선암세포주(DU145) 성장 억제 효과에 관한 Chen 등(2018)의 연구에서 procyanidin B3와 procyanidin dimer가 12.5~100 µg/mL의 농도에서 유의적인 증식억제 효과를 보였으며, apoptosis 과정에 관련된 ROS 축적과 p53 및 caspases-3의 활성화를 조절함으로써 적색 땅콩의 주요 성분인 procyanidin 중합체가 우수한 항암활성을 나타낸다고 보고하였다. 땅콩종피 추출물의 폐암세포주에 미치는 영향에 대한 연구는 보고된바 없지만, 식물로부터 추출한 procyanidin은 폐암세포(A-427) 및 폐선암종세포의 형태학적 변화 및 apoptosis를 유발한다는 연구(Ye 등 1999) 결과로 미루어 볼 때, 본 연구에서 폐암세포주의 증식억제 효과는 다안을 비롯한 적색 땅콩에 다량 함유되어 있는 procyanidin 중합체가 폐암세포주의 형태학적 변화와

apoptosis를 유발함에 따른 결과로 판단된다.

5. 대장암세포(HCT-116) 성장억제효과

품종 및 추출용매가 땅콩 종피 추출물의 인체유래 대장암세포주(HCT-116) 성장억제에 미치는 영향을 살펴본 결과, Fig. 5와 같이 처리농도에 따라 다양하게 나타났다. 저 농도인 50 및 100 µg/mL의 경우, 모든 추출물에서 각각 89.39~105.80% 및 78.76~96.27%의 세포 생존율을 보여 폐암 및 유방암 세포주에 비해 성장억제 효과가 미비하였지만, 200 µg/mL에서는 세포생존율이 품종 및 추출용매에 따라 89.55~48.13% 범위까지 감소하였다. 200 µg/mL 농도에서 대장암 세포 성장억제효과를 품종별로 살펴보면 케이올, 신팔광, 다안 및 흑생 품종이 각각 64.27~76.16%, 60.18~71.92%, 48.13~62.86 및 65.98~89.55%로 모든 추출용매에서 다안 품종이 가장 우수한 항암활성을 나타내었다. 또한, 추출용매에 따른 땅콩종피 추출물의 대장암세포(HCT-11)에 대한 성장억제효과는 적색 땅콩인 신팔광, 케이올 및 다안 품종은 메탄올 추출물이 48.13~64.28%로 가장 효과적으로 세포생존율을 저해하였지만, 흑색땅콩인 흑생 품종은 아세톤 추출물이 65.98%로 가장 우수한 항암활성을 나타냈다. 즉, 다안 품종의 땅콩 종피

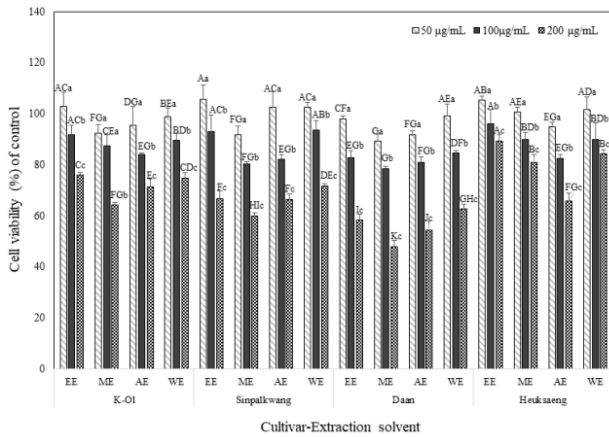


Fig. 5. Anti-proliferative effects of peanut skin extracts depending on cultivars and extraction solvent in HCT 116 colon cancer cell. Value are mean±SD of 4 replicates. Different capital letters in the same items indicate a significant difference ($p < 0.05$) among different cultivars and extraction solvent. Different small letters in the same items indicate a significant difference ($p < 0.05$) among different treatment concentration. *EE: ethanol extracts, ME: methanol extracts, AE: acetone extracts, WE: water extracts.

를 80% 메탄올로 추출하였을 때, 50, 100 및 200 µg/mL의 농도에서 대장암세포주의 세포생존율을 89.39, 78.46 및 48.13%로 농도 의존적으로 감소시켜 가장 효과적으로 대장암세포주의 성장을 억제하였다. 적색 땅콩의 주요 기능성분인 프로안토시아닌의 항암활성은 구강암세포(KB, CAL-27), 유방암세포(MCF-7), 대장암세포(HT-29, HCT116), 전립선암세포(LNCap) 등 다양한 인체유래 암세포의 증식억제 및 apoptosis를 유발한다는 연구가 다수 진행되었다(Seeram 등 2006). 특히, Choy 등(2016)의 연구에 따르면, epicatechine subunit이 2-6개 결합되어 있는 procyanidin oligomer 추출물이 인체유래의 다양한 대장암세포(Caco-2, HCT 116, SW-480, HT-29, Lovo 및 HCT-15)의 P13K/Akt 신호경로를 억제함으로써 암세포주의 형태학적 변화와 apoptosis를 유발하고, 증식을 억제한다고 보고하여(Choy 등 2016), 본 연구에서도 다안, 케이올, 신팔광 등의 적색 땅콩의 종피 추출물에 함유되어 있는 procyanidin과 같은 폴리페놀화합물이 검은 땅콩의 안토시아닌보다 인체유래 대장암 세포(HCT-116)의 성장을 효과적으로 억제한 것으로 판단된다.

6. 유방암세포(MCF-7) 성장억제효과

품종 및 추출용매에 따른 땅콩종피 추출물이 인체유래 유방암세포(MCF-7) 성장 억제에 미치는 영향을 측정한 결과는

Fig. 6과 같다. 모든 처리구의 50 µg/mL 농도에서 80% 이상의 세포생존율을 보인 폐암세포(NCI-H460) 및 대장암세포(HCT-116)와 달리 유방암세포(MCF-7)는 땅콩종피 추출물을 50 µg/mL, 100 µg/mL 및 200 µg/mL에서 각각 57.73~87.26%, 47.78~7.22% 및 36.02~61.63%의 세포생존율을 보여 저농도에서도 항암활성을 나타냈다(Fig. 7). 품종별 땅콩 종피 추출물의 유방암 세포 성장억제효과를 살펴보면, 추출물 200 µg/mL의 농도에서 처리하였을 때 적색품종은 다안(36.02~42.20%), 신팔광(39.80~47.17%) 및 케이올(47.00~54.70%) 순서로 유방암세포주를 효과적으로 억제하였으며, 흑색품종인 흑생은 38.55~61.63%의 세포생존율을 보여 용매에 따른 차이가 크게 나타났다. 또한, 추출용매에 따른 품종별 종피추출물의 유방암세포 성장억제 효과는 흑색품종을 제외한 케이올, 신팔광 및 다안은 품종에 상관없이 메탄올 추출물 200 µg/mL의 농도에서 각각 40.71, 39.80 및 36.02%로 세포생존율을 가장 효과적으로 감소시켰지만, 흑색품종은 아세톤(38.55%), 메탄올(49.19%), 에탄올(57.96%) 및 물추출물(61.63%) 순으로 높은 항암활성을 나타내었다. 즉, 다안 품종의 메탄올 추출물과 흑생 품종의 아세톤 추출물을 유방암 세포주에 처리하였을 때 각각 36.02 및 38.55%의 세포생존율을 보여 가장 효과적으로 성장을 억제하는 것을 확인하였다. 땅콩 유래 페놀화합물의 유방암 및 자궁경부암의 항암활성에 대한 Saenglee 등(2016)에 대한 연구에서는 *p*-coumaric acid, ferulic acid 및 resveratrol과 같은

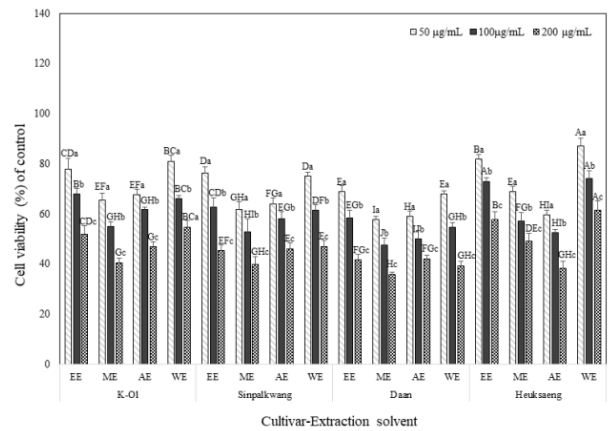


Fig. 6. Anti-proliferative effects of peanut skin extracts depending on cultivars and extraction solvent in MCF-7 breast cancer cell. Value are mean±SD of 4 replicates. Different capital letters in the same items indicate a significant difference ($p < 0.05$) among different cultivars and extraction solvent. Different small letters in the same items indicate a significant difference ($p < 0.05$) among different treatment concentration. *EE: ethanol extracts, ME: methanol extracts, AE: acetone extracts, WE: water extracts

monomeric phenolics가 인체유래의 유방암세포(MCF-7) 및 자궁경부암세포(HeLa)의 Cell cycle과 apoptosis 과 관련된 Bcl-2, p53, p21, CDK4 및 pERK1/2과 같은 단백질 발현을 조절함으로써 세포의 성장을 억제한다고 하였으며(Saenglee 등 2016), 적색 땅콩 종피의 주요 성분 중에 하나인 procyanidin dimer는 10~50 mM에서 MCF-7 유방암 세포주의 apoptosis와 성장을 효과적으로 억제한다고 하였다(Aelar & Couvea 2012). 따라서 본 연구에서 땅콩종피 메탄올 추출물의 유방암세포(MCF-7)에 대한 항암활성은 다른 세포주와 마찬가지로 항암활성을 나타내는 monomeric phenolics와 procyanidin dimer 등의 폴리페놀성 화합물이 메탄올로 추출하였을 때 효과적으로 용출되는 것으로 판단되며, 향후 이러한 항암 성분과 메커니즘 구명에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

7. 상관관계분석

품종 및 추출용매에 따른 땅콩 종피 추출물의 α-glucosidase, tyrosinase 및 ACE 저해활성과 인체유래 폐암세포(NCI-H460), 대장암(HCT-116) 및 유방암세포(MCF-7)에 대한 세포생존율 간의 상관관계를 분석한 결과는 Table 2와 같다. α-Glucosidase 저해활성은 tyrosinase 저해활성(r=0.680**), ACE 저해활성(r=0.640**)과는 높은 양의 상관관계를 나타내었으며, 암세포주의 세포생존율과 폐암세포(r=-0.755**), 대장암세포(r=-0.452**) 및 유방암세포(-0.389**) 모두 높은 음의 상관관계를 보였다. 또한, ACE 저해활성의 경우 암세포주의 세포생존율과의 상관분석 결과, 폐암세포, 대장암세포 및 유방암세포가 각각 -0.397**, -0.354* 및 -0.228로 음의 상관성이 α-glucosidase 및 tyrosinase에 비해 상대적으로 낮게 나타났지만, 전체적으로 추출물에 대한 효소저해활성과 암세포주의 생존율은 음의 상관관계를 보여 효소저해활성이 높은 추출물은 암세포주의

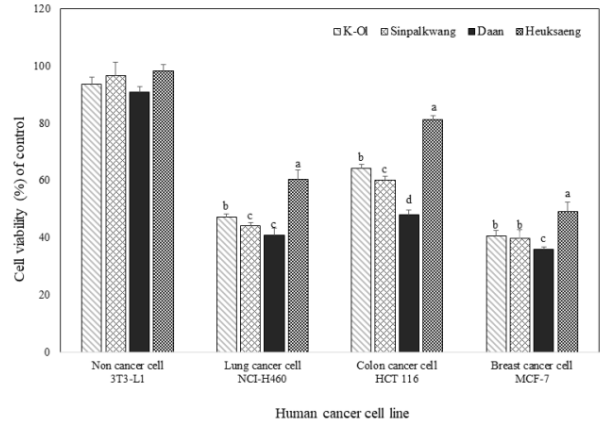


Fig. 7. Anti-proliferative effects of peanut skin methanol extracts (200 µg/mL) depending on cultivars in human colon cancer cell (HCT-116), Human lung cancer cell (NCI-H460) and human breast cancer cell (MCF-7). Value are mean±SD of 4 replicates. Different small letters in the same items indicate a significant difference (p<0.05) among different cultivars.

세포생존율이 낮아 효과적인 암세포주 증식 억제효과를 확인하였다.

요약 및 결론

본 연구에서는 땅콩 종피 추출물의 생리활성을 검토하기 위하여 품종별 땅콩 종피의 추출용매에 따른 in vitro 효소저해활성 및 인체유래 암세포주 증식 억제효과를 측정하였다. 품종은 케이올(Arachis hypogaea L. cv. K-OL), 신탄광(cv. Sinpalkwang), 다안(cv. Daan)과 흑생(cv. Heuksaeng) 품종을

Table 2. Correlation coefficients among inhibitory effect of α-glucosidase, tyrosinase, ACE activity and cell viability of human lung cancer cell(NCI-H460), colon cancer cel(HCT-116), breast cancer cell(MCF-7) of peanut skin extracts depending on cultivars and extraction solvent

Factor	Inhibitory effect of enzyme activity			Cell viability of human cancer cell		
	α-Glucosidase	Tyrosinase	ACE	NCI-H460	HCT-116	MCF-7
α-Glucosidase	1	0.680**	0.640**	-0.755**	-0.452**	-0.389**
Tyrosinase		1	0.752**	-0.660**	-0.665**	-0.457**
ACE			1	-0.397**	-0.354*	-0.228
NCI-H460				1	0.811**	0.779**
HCT-116					1	0.843**
MCF-7						1

Significant at * p<0.05 and ** p<0.01.

사용하였고, 땅콩 종피를 80% 에탄올(v/v), 80% 메탄올(v/v), 80% 아세톤(v/v) 및 증류수(v/v)로 초음파 추출한 후, tyrosinase 저해활성, ACE 저해활성, α -glucosidase 저해활성과 함께 인체유래 폐암세포(NCI-H460), 대장암(HCT-116) 및 유방암세포(MCF-7)에 대한 성장억제 효과에 대해 측정하였다. 미백, 고혈압 및 통풍에 관여하는 α -glucosidase, tyrosinase 및 ACE 효소 저해활성은 다안 품종의 땅콩 종피를 80% 메탄올로 추출하였을 때, 각각 65.08%(0.025 mg/mL), 82.49%(2 mg/mL) 및 73.61%(10 mg/mL)로 가장 효과적으로 저해하는 것을 확인하였으며, tyrosinase 저해활성의 경우, 흑색 땅콩의 흑생 품종이 다안과 유사한 범위의 활성을 나타내었다. 또한, 품종 및 추출용매에 따른 땅콩 종피의 인체유래 대장암(HCT-116), 폐암(NCI-H460) 및 유방암(MCF-7) 세포주에 대한 증식억제 효과 측정 결과, 다안>신팔광>케이올>흑생 순으로 우수한 암세포 성장억제효과가 나타났다. 특히, 유방암세포(MCF-7)은 저농도(50 μ g/mL)에서도 57.73~87.26% 범위의 세포생존율을 보여 가장 높은 암세포 증식억제 효과를 나타내었으며, 다안 품종의 메탄올 추출물을 유방암 세포주에 처리하였을 때 각각 36.02%의 세포생존율을 보여 가장 효과적으로 성장을 억제하는 것을 확인하였다. 따라서, 품종 및 추출용매에 따라 다양한 효소저해활성 및 암세포주 증식 억제 활성에 차이가 나며, 이는 적색 및 흑색 땅콩에 함유되어 있는 프로시아니딘 중합체, 플라보노이드 및 안토시아닌 등의 페놀화합물의 차이와 함께 추출용매의 극성에 따라 추출된 페놀화합물의 용해도 차이로 생각된다. 이상의 결과로부터 땅콩종피의 품종 및 추출용매에 따른 생리활성을 확인하였으며, 국산 땅콩 부산물로부터 다양한 생리활성을 나타내는 색소 추출물의 개발이 가능할 것으로 생각된다. 또한, 추후 땅콩 종피로부터 미백, 항고혈압, 항당뇨 및 항암 활성 물질의 분리 동정과 메커니즘 규명에 대한 연구가 수행되어야 할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 국내 육성땅콩의 생리활성 검정, 세부과제번호: PJ01430303)의 지원에 의해 이루어진 것입니다.

References

- Avelar MM, Gouvea CM. 2012. Procyanidin B2 cytotoxicity to MCF-7 human breast adenocarcinoma cells. *Indian J Pharm Sci* 74:351-355
- Bai R, Cui Y, Luo L, Yuan D, Wei Z, Yu W, Sun B. 2019. A semisynthetic approach for the simultaneous reaction of grape seed polymeric procyanidins with catechin and epicatechin to obtain oligomeric procyanidins in large scale. *Food Chem* 278:609-616
- Chai WM, Ou-Yang C, Huang Q, Lin MZ, Wang YX, Xu KL, Huang WY, Pang DD. 2018. Antityrosinase and antioxidant properties of mung bean seed proanthocyanidins: Novel insights into the inhibitory mechanism. *Food Chem* 260:27-36
- Chen L, Yan F, Chen W, Zhao L, Zhang J, Lu Q, Liu R. 2018. Procyanidin from peanut skin induces antiproliferative effect in human prostate carcinoma cells DU145. *Chem Biol Interact* 288:12-23
- Choy YY, Fraga M, Mackenzie GG, Waterhouse AL, Cremonini E, Oteiza PI. 2016. The PI3K/Akt pathway is involved in procyanidin mediated suppression of human colorectal cancer cell growth. *Mol Carcinog* 55:2196-2209
- Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20:1637-1648
- De Camargo AC, Regitano-d'Arce MAB, Shahidi F. 2017a. Phenolic profile of peanut by-products: Antioxidant potential and inhibition of α -glucosidase and lipase activities. *J Am Oil Chem Soc* 94:959-971
- De Camargo AC, Regitano-d'Arce MAB, Rasera GB, Canniatti-Brazaca SG, do Prado-Silva L, Alvarenga VO, Sant'Ana AS, Shahidi F. 2017b. Phenolic acids and flavonoids of peanut by-products: Antioxidant capacity and antimicrobial effects. *Food Chem* 237:538-544
- Godoy S, Roeckel M, Fernandez K. 2012. Influence of the structure and composition of the País grape proanthocyanidins on the inhibition of angiotensin I-converting enzyme (ACE). *Food Chem* 134:346-350
- Gua J, Jin YS, Han W, Shim TH, Sa JH, Wang MH. 2006. Studies for component analysis, antioxidative activity and α -glucosidase inhibitory activity from *Equisetum arvense*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49:77-81
- Imokawa G, Mishima Y. 1980. Isolation and characterization of tyrosinase inhibitors and their differential action on melanogenic subcellular compartments in amelanotic and melanotic melanomas. *Br J Dermatol* 103:625-634
- Ishiyama M, Tominaga H, Shiga M, Sasamoto K, Ohkura Y, Ueno KA. 1996. Combined assay of cell viability and *in vitro* cytotoxicity with a highly water-soluble tetrazolium

- salt, neutral red and crystal violet. *Biol Pharm Bull* 19:1518-1520
- Kim MJ, Im KR, Yoon KS. 2015. Effect of medicinal herb prepared through traditional antidiabetic prescription on α -glucosidase activity and evaluation method for anti-melanogenesis agents using α -glucosidase activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44:993-999
- Kubo I, Kinst-Hori I, Yokokawa Y. 1994. Tyrosinase inhibitors from *Anacardium occidentale* fruits. *J Nat Prod* 57:545-551
- Laskin JD, Piccinini LA. 1986. Tyrosinase isozyme heterogeneity in differentiating B16/C3 melanoma. *J Biologic Chem* 261:16626-16635
- Lee C. 2001. The changes in the physico-chemical properties of peanut milk by processing conditions. *Korean J Food Nutr* 14:199-203
- Lee TH, Seo JO, Baek SH, Kim SY. 2014. Inhibitory effects of resveratrol on melanin synthesis in ultraviolet B-induced pigmentation in guinea pig skin. *Biomol Ther (Seoul)* 22:35-40
- Lee YR. 2019. Antioxidant activity of peanut flours with germination and roasting. *Korean J Food Nutr* 32:155-159
- Lim HJ, Kim MS, Kim DS, Kim HS, Pae SB, Kim JK, Shin EC. 2017. Comparison of lipid constituents and oxidative properties between normal and high-oleic peanuts grown in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 49:235-241
- Limmongkon A, Janhom P, Amthong A, Kawpanuk M, Nopprang P, Poohadsuan J, Somboon T, Saijeen S, Surangkul D, Srikummool M, Boonsong T. 2017. Antioxidant activity, total phenolic, and resveratrol content in five cultivars of peanut sprouts. *Asian Pac J Trop Biomed* 7:332-338
- Nepote V, Grosso NR, Guzman CA. 2005. Optimization of extraction of phenolic antioxidants from peanut skins. *J Sci Food Agric* 85:33-38
- Noh H, Song KB. 2001. Isolation of an angiotensin converting enzyme inhibitor from *Oenanthе javanica*. *Agric Chem Biotechnol* 44:98-99
- Odoni TL, Melo PS, Massarioli AP, Moreno IA, Bezerra RM, Rosalen PL, da Silva GV, Nascimento AM, Alencar SM. 2016. Bioassay-guided isolation of proanthocyanidins with antioxidant activity from peanut (*Arachis hypogaea*) skin by combination of chromatography techniques. *Food Chem* 192:306-312
- Ostlund RE Jr, Racette SB, Stenson WF. 2002. Effects of trace components of dietary fat on cholesterol metabolism: Phyto-sterols, oxysterols, and squalene. *Nutr Rev* 60:349-359
- Pae SB, Hwang CD, Kim SU, Lee MH, Shim KB, Park CH, Lee CK, Baek LY, Lee JK. 2016a. A new large grain and high-yielding Virginia type peanut cultivar 'Sinpalkwang'. *Korean J Breed Sci* 48:66-71
- Pae SB, Hwang CD, Lee MH, Kim SU, Oh KW, Lee BK, Park CH, Park KY, Baek IY, Jun YC. 2016b. A high oleate peanut variety 'K-Ol'. *Korean J Breed Sci* 48:313-318
- Pae SB, Kim SU, Lee MH, Hwang CD, Oh KW, Jung CS, Song DY, Baek IY, Lee Y. 2017b. A peanut variety 'Heuksaeng' with short stem and purple testa. *Korean J Breed Sci* 49:103-108
- Pae SB, Lee MH, Kim SU, Hwang CD, Oh KW, Jung CS, Lee YH. 2017a. A shinpung typed large grain and high-yielding peanut variety 'Daan'. *Korean J Breed Sci* 49:224-229
- Ricciarelli R, Zingg JM, Azzi A. 2001. Vitamin E: Protective role of a Janus molecule. *FASEB J* 15:2314-2325
- Sabate J, Oda K, Ros E. 2010. Nut consumption and blood lipid levels: A pooled analysis of 25 intervention trials. *Arch Intern Med* 170:821-827
- Saenglee S, Jogloy S, Patanothai A, Leid M, Senawong T. 2016. Cytotoxic effects of peanut phenolics possessing histone deacetylase inhibitory activity in breast and cervical cancer cell lines. *Pharmacol Rep* 68:1102-1110
- Seeram NP, Adams LS, Zhang Y, Lee R, Sand D, Scheuller HS, Heber D. 2006. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells *in vitro*. *J Agric Food Chem* 54:9329-9339
- Shin ZI, Ahn CW, Nam HS, Lee HJ, Lee HJ, Moon TH. 1995. Fractionation of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from soybean paste. *Korean J Food Sci Technol* 27:230-234
- Stirpe F, Della Corte E. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion *in vitro* of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol Chem* 244:3855-3863
- Tamura T, Ozawa M, Kobayashi S, Watanabe H, Arai S, Mura K. 2015. Inhibitory effect of oligomeric polyphenols from peanut-skin on sugar digestion enzymes and glucose transport. *Food Sci Technol Res* 21:111-115
- Tibbot BK, Skadsen RW. 1996. Molecular cloning and characterization of a gibberellin-inducible, putative α -glucosidase gene from barley. *Plant Mol Biol* 30:229-241

- Tsujita T, Shintani T, Sato H. 2013. α -Amylase inhibitory activity from nut seed skin polyphenols. 1. Purification and characterization of almond seed skin polyphenols. *J Agric Food Chem* 61:4570-4576
- Wang CY, Ng CC, Lin HT, Shyu YT. 2011. Free radical-scavenging and tyrosinase-inhibiting activities of extracts from sorghum distillery residue. *J Biosci Bioeng* 111:554-556
- Woodroof JG. 1973. Peanuts: Production, Processing, Products. 2nd ed. pp.12-38. AVI
- Woodroof JG. 1983. Peanuts: Production, Processing, Products. 3rd ed. pp.1-50. AVI
- Ye X, Krohn RL, Liu W, Joshi SS, Kuszynski CA, McGinn TR, Bagchi M, Preuss HG, Stohs SJ, Bagchi D. 1999. The cytotoxic effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract on cultured human cancer cells. *Mol Cell Biochem* 196:99-108
- Yen WJ, Chang LW, Duh PD. 2005. Antioxidant activity of peanut seed testa and its antioxidative component, ethyl protocatechuate. *LWT-Food Sci Technol* 38:193-200
- Yu J, Ahmedna M, Goktepe I, Dai J. 2006. Peanut skin procyanidins: Composition and antioxidant activities as affected by processing. *J Food Compos Anal* 19:364-371
- Zhao Z, Wu M, Zhan Y, Zhan K, Chang X, Yang H, Li Z. 2017. Characterization and purification of anthocyanins from black peanut (*Arachis hypogaea* L.) skin by combined column chromatography. *J Chromatogr A* 1519:74-82

Received 19 September, 2019

Revised 04 October, 2019

Accepted 14 October, 2019