

Sarcoma-180 세포를 이용한 *in vivo*에서 감잎의 항암효과

문숙희* · 김광혁** · 박건영†

부산대학교 식품영양학과

*경남전문대학 식품영양과

**고신대학교 의학부 미생물학교실

Antitumor Effect of Persimmon Leaves *in vivo* using Sarcoma-180 Cells

Suk-Hee Moon*, Kwang-Hyuk Kim** and Kun-Young Park†

Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Kyungnam Junior College, Pusan 617-701, Korea

**Dept. of Microbiology, Kosin Medical College, Pusan 602-702, Korea

Abstract

Antitumor effects of hexane, chloroform fractions and tannins from persimmon leaves were studied by using sarcoma-180 tumor cells. The solid tumor growth was inhibited most effectively when 0.5mg/kg of hexane fraction was administered to the Balb/c mouse. The life prolongation effects were 35.6%, 11.5% and 29.9%, respectively when hexane fraction, chloroform fraction and tannins from the persimmon leaves were administered to the mouse. Spleen index, a marker for immunological activity, was increased in mice administered hexane fraction, chloroform fraction and tannins of persimmon leaves, compared with the control group.

Key words: antitumor effects, persimmon leaves, sarcoma-180 tumor cells

서 론

현대의학의 발달에도 불구하고 암은 여전히 치료하기 어려운 병의 하나로 여겨지고 있으며, 암 발생의 80~90%는 환경적 요인에 기인하며, 환경적 요인의 30~60%가 식이 및 영양과 관련이 있고, 그외 다른 요인으로 흡연, 방사선 조사(UV, X-ray 등), 직업적 요인, 음주 및 내인성 호르몬 등을 들 수 있다(1,2). 또 암 발생의 상황은 나라별, 연령별, 성별, 지역간에도 차이가 있어 미국인의 경우 결장암의 발생율이 높은 반면 우리나라의 경우 암 사망자 중 위암으로 인한 사망률이 가장 높는데 이는 식이 및 영양소와의 관련이 크다고 하겠다(3).

감은 학명이 *Diospyros kaki* Thunberg로 과실은 감미가 강한 알칼리성 식품으로서 전통적으로 오랫동안 애용되어 왔다(4). 감잎은 비타민 A, C, D 및 엽록소가 풍부해서 고혈압, 호흡기 질환, 심장병 등의 성인병

예방에 좋으며 지혈, 기관지염 치료에도 약효가 있다고 하였으며(5) 그외 비타민 B₁, 판토텐산, 엽산의 함유량도 녹차엽 보다 많아 감잎차의 경우 성인에게 권장할만한 차라고 한다. 100g 중에 함유된 비타민 C의 함량을 보면 레몬 50mg, 딸기 80mg, 귤 40mg, 사과 5mg, 양배추 70mg, 녹차는 280mg인데 비해 어린 감잎에는 500~1000mg이나 들어있고 성엽에도 200mg이나 함유되어 있다. 발암에 대한 비타민 C의 작용은 N-nitroso 화합물들의 전구체들과 여러가지 암유발 물질들과의 상호반응에 의해 암의 형성을 막는 작용, 종양 촉진제의 대사를 방해하는 작용, 세포의 면역성을 증가시키는 작용 및 발암물질들의 형성을 억제하는 작용에 의한다고 하며(6), 그외 nitrite scavenger로서의 작용과 mice의 자외선 조사에 의한 발암과정에서도 비타민 C의 항발암성 효과가 증명된 바 있다(6).

최근에는 녹차나 홍차에서 떫은 맛을 내는 탄닌의 일종인 catechin 성분이 쥐실험을 통해 항암 효과와 콜

† To whom all correspondence should be addressed

레스테롤 억제 효과가 있음이 밝혀졌다(7-9). 한편 감(잎) 탄닌은 여러가지 축합형 탄닌의 혼합물로 그중 (-)-epicatechin, (+)-catechin, phloroglucinol은 nitrite scavenger로 작용하여(10) 위암의 원인이 될 수 있는 nitrosamine의 생성을 억제하며, 감(잎) 탄닌은 catechin, catechin-3-gallate, gallocatechin, gallocatechin-3-gallate가 1 : 1 : 2 : 2의 비율로 이루어져 있고(11), 그의 알려지지 않은 말단 잔기와 proanthocyanidin group에 속하는 것으로 구성되어 있으므로 감(잎)의 여러가지 약리 작용과 더불어 항암효과도 예상된다 하겠다.

본 연구에서는 *in vitro*에서 감(잎)의 시료 중 여러 항돌연변이 효과와 암세포 증식억제 활성이 컸던(12-15) 감(잎)의 핵산, 클로로포름 획분 및 감(잎) 탄닌에 대해 *in vivo*에서 Balb/c mouse를 이용한 세포 독성작용, 고형암 성장저지 실험 및 수명연장 효과 등의 항암실험과 함께 면역관련 장기인 비장의 중량을 측정하여 면역계의 관련성도 검토하여 감(잎)의 전반적인 항암효과에 대한 연구를 행하였다.

재료 및 방법

실험동물

본 실험에 사용한 동물은 음성 Balb/c mouse(한국생명공학센터, 대구)로 체중이 25~30g에 속하는 것을 사용하였으며, 사료는 표준사료로 사용하였다. 사육시 물과 사료는 충분한 양을 공급하였고, 동물실은 12시간 간격의 light-dark cycle을 유지하였다.

종양세포

Balb/c mouse의 복강내에 1주일 간격으로 계대 배양하여 보존하고 있는 sarcoma-180세포를 실험용 종양세포로 사용하였다. 즉 실험동물의 복강내에서 1주일간 배양된 sarcoma-180세포를 복수와 함께 취하고 PBS와 함께 원심분리(1200rpm, 10min.)하여 종양세포를 분리하였다. 분리된 세포를 다시 PBS에 부유시켜 재차 원심하여 상등액을 제거한 후 sarcoma-180 세포만을 취하였다. 동일방법으로 2회 세척하고 세포수가 1.0×10^6 cells/ml가 되도록 종양세포 부유액을 만들어 1ml씩을 복강주사하여 이식 보존하면서 실험에 사용하였다.

시료의 조제

감(잎)의 시료를 건조, 분쇄하고 시료 중량의 20배의 메탄올로 3시간씩 3회 교반 추출하여 얻은 메탄올 추

출물을 회전식 진공 농축기(Buchi 011 & 461, Switzerland)를 이용하여 농축한 후 이를 다시 핵산 및 클로로포름으로 추출하여 농축한 후 감(잎)의 핵산 및 클로로포름 획분으로 하였다. 감(잎)으로 부터의 탄닌은 Okonogi 등(16)의 방법에 의해 분리하였다. 즉, 건조 분쇄한 100g의 감(잎)에 소량의 증류수를 넣고 120°C에서 1시간 가열하여 150ml 아세톤으로 추출한 뒤 농축하였다. 농축액에 메탄올 100ml를 넣고 여과(여과지 Whatman No. 2, England)한 뒤, 이 여과액에 디에틸에테르 80ml를 넣고 염산을 이용하여 pH를 4.0으로 맞춘 뒤 cellulose membrane(M.W.>12,000, Sigma Chemical Co., USA)으로 투석한 후 동결건조하여 분말상의 탄닌(tannin)을 얻었다. 감(잎)의 핵산, 클로로포름 획분 및 감(잎) 탄닌을 멸균된 PBS를 이용하여 조제하였으며, 투여량은 마우스 kg당 0.05, 0.1, 0.5 및 1mg으로 하고, 대조군은 멸균 PBS만 투여하였으며 투여하지 않을 때는 냉장조에 보관하면서 사용하였다.

Viability test(Cytotoxicity test)

항발암효과를 나타낸 감(잎)시료의 직접적인 세포 독성작용의 유무를 알아보기 위해서 dye exclusion method를 이용하여 *in vitro*에서 viability test를 행하였다(17).

1회용 6 well plate에 조제한 종양세포 부유액 0.1ml (2.5×10^5 cells)와 최종 농도 20% HFCS(Heat inactivated fetal Calf Serum: Gibco Lab., USA)의 EMEM(Eagle's Minimal Essential Medium: Gibco Lab., USA) 배지 5ml를 가하였다. 여기에 감(잎) 시료를 넣어서 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 24시간 배양 후 세포 50ml를 0.2% trypan blue용액 50ml와 잘 섞어 hemocytometer를 사용하여 전체의 세포수와 염색되어진 세포(non-viable cell) 및 염색되지 않은 세포(viable cell)의 수를 산정한 다음, 감(잎) 시료를 넣지 않은 대조 세포군과 비교하여 viability 비율을 계산하였다.

Viable cells(%) =

$$\frac{\text{Number of viable cells per ml of aliquot}}{\text{Total number of cells per ml of aliquot}} \times 100$$

고형암 성장 저지 실험

실험동물을 각 군당 7마리씩으로 하여 실험실에서 1주일 간격으로 계대 보관중인 종양세포 부유액 0.2 ml(6×10^6 cells/mouse)씩을 실험동물의 왼쪽 서혜부(left groin)에 피하 이식한 후 24시간 후부터 20일간

연속으로 시료용액을 복강으로 투여하였다. 종양세포 이식 32일째 되는 날 치사시켜 생성된 고형암을 적출하고 그 무게를 측정 한 후 다음 식에 따라 종양 성장 저지 백분율(tumor growth inhibition ratio, I.R.; %)을 계산하였다(18).

$$I.R.(%) = \frac{C_w - T_w}{C_w} \times 100$$

수명연장 실험

실험동물들 각 군당 7마리씩으로 하여 전술한 방법으로 조제한 종양 세포 부유액 1ml(1×10^6 cells/mouse)씩을 실험동물의 복강내에 이식한 뒤 24시간 후부터 10일간 연속으로 시료를 복강으로 투여하고 35일까지의 생존 여부를 관찰하여 평균 수명 일수를 계산하고 다음 식으로부터 수명 연장 백분율(prolongation ratio, P.R.; %)을 구하였다(19).

$$P.R.(%) = \frac{T - C}{C} \times 100$$

비장 장기의 증량변화

실험동물들 각 군당 7마리씩으로 하여 시료 투여군과 대조군으로 나누어 시료 투여군은 시료를, 대조군은 생리식염수를 10일간 연속으로 마우스의 복강내에 투여하고 투여 최종일부터 32일째 되는 날 마우스를 경추탈골법에 의하여 치사시키고 체중을 측정 한 후 비장을 적출하여 무게를 측정하였고, 체중에 대한 비장의 비율을 계산하였다(20).

통계학적 분석

실험성적은 평균 또는 평균±표준편차로 나타냈으며 각군간에 통계학적 검정에는 student's t-test를 사용하였고 p값이 0.05 이하일 때 유의있는 차로 간주하였다(21).

결과 및 고찰

세포독성작용(Viability test)

감잎의 시료 중 항돌연변이 효과와 암세포 증식 억제 효과가 컸던 헥산, 클로로포름 획분 및 감잎 탄닌의 sarcoma-180 종양세포에 대한 세포독성작용의 결과는 Table 1과 같다. 대조군에 비해 헥산 획분 1.0mg/ml, 클로로포름 획분 0.5mg/ml, 감잎 탄닌 0.5mg/ml에서

Table 1. Viability of sarcoma-180 cells in a culture medium containing hexane fraction, chloroform fraction and tannins from persimmon leaves

Dose(mg/ml medium)	Viability of the cells
Control	93.6±4.1 ¹⁾
Hexane fr.	
0.05	93.4±4.7
0.1	92.7±2.7
0.5	91.7±5.9
1.0	85.7±2.3
Chloroform fr.	
0.05	92.7±3.2
0.1	88.1±2.0
0.5	16.3±1.6**
1.0	1.9±1.7**
Tannin	
0.05	93.4±2.04
0.1	88.4±6.6
0.5	37.2±6.3**
1.0	2.1±3.6**

¹⁾Values are mean±S.D. of 7 mice

**Significantly different from the control with p<0.01

sarcoma-180 종양세포에 대한 독성이 급격히 증가하였으므로 세포에 큰 영향을 주지 않는 범위내에서 고형암 성장저해 효과 및 수명 연장효과를 살펴보았다.

고형암 성장 저지효과

감잎의 헥산 획분, 클로로포름 획분 및 감잎으로부터 추출한 탄닌의 고형암 성장저해에 대한 실험결과는 대조군의 경우 종양 무게가 1.6g인데 반해 헥산 획분, 클로로포름 획분 및 감잎 탄닌의 시료를 투여한 경우는 종양 무게가 각각 0.6g, 1.2g, 1.1g으로 감잎의 헥산 획분의 경우 0.5mg/kg의 농도에서 고형암 성장저지율이 59.6%로 높은 저지율을 보였으며(p<0.05), 감잎 클로로포름 획분 및 감잎 탄닌의 경우는 0.1mg/kg의 농도에서 고형암 성장 저지율은 각각 22.4% 및 30.1%이었다(Table 2). 한편 tannic acid를 함유한 식이를 공급 받은 마우스의 경우 대조군에 비해 위 및 폐에서의 고형암 성장이 크게 저해를 받으며, 피부에서의 종양형성의 개시가 지연된다고 한다(22). Fujita 등(23)도 N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine에 노출시킨 후 녹차 탄닌의 주성분인 (-)-epigallocatechin gallate(EGCg) 0.005%를 계속적으로 경구 투여할 경우 마우스의 십이지장에서의 종양성장이 크게 저해를 받는다고 하였다. 녹차의 crude catechin과 녹차 탄닌의 주성분인 EGCg는 고형암의 성장을 저해하는 효과는 있으나 수명연장효과는 없으며, 종양세포의 증식에 직접적으로

Table 2. Antitumor activities of hexane fraction, chloroform fraction and tannins of persimmon leaves in tumor bearing BALB/c mice with sarcoma-180 cells

Sample	Dose ¹⁾ (mg/kg)	Tumor weight (g)	Inhibition rate (%)
Control		1.6±0.7 ²⁾	—
Hexane fr.	0.5	0.6±0.4*	59.6
Chloroform fr.	0.1	1.2±1.5	22.4
Tannin	0.1	1.1±1.2	30.1

¹⁾Mice were treated by samples for 20 days

²⁾Values are mean±S.D. of 7 mice

*Significantly different from the control with p<0.05

관여하기 보다는 TNF(Tumor Necrosis Factor)와 같은 물질을 유도하여 면역계의 메카니즘을 통해 고형암의 성장을 억제한다고도 알려져 있다(24).

수명연장 효과

감잎의 헥산 획분, 클로로포름 획분 및 감잎으로 부터 추출한 탄닌이 Balb/c mouse의 sarcoma-180 cell 복수암에 대한 항암효과 실험 결과는 Table 3과 같다. 이 실험에서는 25일 이후까지 생존한 마우스는 없었으며 대조군의 평균 수명도 17.4일로서 류 등(25)의 결과로부터의 수명연장 보다 다소 높은 값을 나타내었다. 시료 투여군의 수명연장 백분율은 감잎의 헥산 획분의 경우 0.5mg/kg일 때 35.6%(p<0.01), 클로로포름 획분

Table 3. Effects of hexane fraction, chloroform fraction and tannins of persimmon leaves on life span of BALB/c mice

Sample	Dose ¹⁾ (mg/kg)	Survival time (g)	Prolongation rate (%)
Control		17.4±2.3 ²⁾	—
Hexane fr.	0.5	23.6±1.1**	35.6
Chloroform fr.	0.1	19.4±2.1**	11.5
Tannin	0.1	22.6±2.2**	29.9

¹⁾Mice were treated by samples for 10 days

²⁾Values are mean±S.D. of 7 mice

**Significantly different from the control with p<0.01

의 경우 및 감잎 탄닌의 경우 0.1mg/kg일 때 각각 11.5% 및 29.9%(p<0.01)로써 감잎의 헥산 획분, 클로로포름 획분 및 감잎 탄닌 모두 수명연장 효과를 관찰할 수 있었으며 감잎의 헥산 획분을 투여한 경우 생존일수가 23.6일로 가장 큰 수명연장 효과를 나타내었다. 한편 유방의 발암 모델에서 catechin을 투여한 rat의 경우, 유방의 종양 생성은 대조군과 큰 차이가 없었지만 수명이 크게 연장되었다고 한다(22).

비장장기의 중량변화

최근 면역 증강제나 면역 활성화제로서 식물유래 식품이나 약제로 부터 항암효과나 그외의 약리작용이 있는 물질을 찾고자 하는 노력이 시도되고 있다. 면역관련 장기 중 하나인 비장의 체중에 대한 중량 변화를

Table 4. Effects of hexane fraction, chloroform fraction and tannins of persimmon leaves on the body weight and spleen index of BALB/c mice

Sample	Dose ¹⁾ (mg/kg)	No. of mice	Body Wt. (g)	Spleen/Body Wt. (%)
Control		7	32.6±3.1 ²⁾	0.6±0.1
Hexane fr.	0.5	7	31.7±2.0	0.7±0.2
Chloroform fr.	0.1	7	32.2±2.3	0.8±0.2
Tannin	0.1	7	32.5±3.7	0.8±0.3

¹⁾Mice were treated by samples for 10 days

²⁾Values are mean±S.D. of 7 mice

*Significantly different from the control with p<0.01

Table 5. Effects of hexane fraction, chloroform fraction and tannins from persimmon leaves on body weight of BALB/c mice

Sample	Dose ¹⁾ (mg/kg)	Body weight		
		0 day	7 days	14 days
Control		31.0±1.3 ²⁾	34.0±1.5	38.7±1.7
Hexane fr.	0.5	31.5±0.9	33.8±1.2	39.8±2.1
Chloroform fr.	0.1	30.9±1.5	32.6±1.4	38.0±4.4
Tannin	0.1	30.7±1.8	33.3±1.9	38.8±5.5

¹⁾Mice were treated by samples for 10 days

²⁾Values are mean±S.D. of 7 mice

살펴 본 결과, 비장의 경우 대조군이 0.6%였으나 감잎의 핵산 획분, 클로로포름 획분 및 감잎 탄닌 0.5, 0.1, 0.1mg/kg을 각각 투여하였을 때 비장의 중량이 대조군에 비해 각각 0.7%, 0.8%($p < 0.05$), 0.8%로 약간의 증가를 나타내었다(Table 4). 이러한 비장의 중량 증가는 비장에는 splenic macrophage 등 면역계에 관련된 세포들의 활성이 증가되었기 때문이라 추정되며, 따라서 감잎의 항암성은 면역계의 활성 증가와도 관련이 있으리라 추측된다.

한편 감잎시료의 sarcoma-180 cell 복수암에 대한 항암효과 실험시 마우스의 체중 변화를 살펴 본 결과는 Table 5와 같다. 감잎의 핵산 획분 0.5mg/kg과 클로로포름 획분 및 감잎 탄닌 0.1mg/kg의 농도 처리군이 대조군과 비교해 볼 때 체중의 변화에 큰 차이가 없었으므로 체중 및 여러 장기에 시료 추출물로 인한 독성은 문제가 없으리라 생각된다.

요 약

감잎의 시료 중 항돌연변이 효과와 암세포 증식 억제효과가 컸던 감잎의 핵산, 클로로포름 획분 및 감잎 탄닌의 항암효과를 Sarcoma-180 종양세포를 이용하여 살펴 보았다. Sarcoma-180 종양세포에 대한 시료의 세포 독성작용을 관찰한 후 세포에 큰 영향을 주지 않는 범위내에서 고형암 성장저지 효과 및 수명 연장 효과를 살펴 본 결과 감잎의 핵산 획분이 59.6%로 가장 높은 고형암 성장 저지율을 나타냈으며 수명 연장 효과도 대조군의 경우 17.4일인데 반해 핵산 획분을 투여한 경우 생존일수가 23.6일로 가장 큰 수명 연장 효과가 관찰되었다. 면역 관련 장기 중 하나인 비장의 체중에 대한 중량 변화는 대조군의 경우 0.6%인데 반해 감잎의 핵산 및 클로로포름 획분 그리고 감잎 탄닌의 경우 0.7%, 0.8%, 0.8%로 약간의 증가를 나타내었다.

감사의 글

이 연구는 한국과학재단 연구비지원(과제번호 90-0500-03)에 의한 연구결과의 일부이며 이를 감사드린다.

문 헌

- Doll, R. : Strategy for detection of cancer hazards to man. *Nature*, **265**, 589(1977)
- Doll, R. and Peto, R. : The cause of cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, **66**, 1191(1981)
- Gori, G. B. : Dietary and nutritional implications in the multifactional etiology of certain prevalent human cancers. *Cancer*, **43**, 2151(1979)
- 서은주, 손태화 : 감의 이용에 관한 연구. *한국농화학회지*, **19**, 93(1976)
- 江蘇新醫院編 : 中藥大辭典. 上海科學技術出版社, p.15 (1978)
- Glatthaar, B. E., Homig, D. H. and Moser, U. : The role of ascorbic acid in carcinogenesis. Hoffmann-La Roche Co., Ltd., Swizerland(1987)
- Hirose, M., Hoshiya, T., Takahashi, S., Hara, Y. and Ito, N. : Inhibition of carcinogenesis by green tea catechin in rats. Proceedings of the International Symposium on Tea Science(Japan), p.210(1991)
- Ikeda, I., Imasato, Y., Sasaki, S., Nakayama, M., Nagano, H., Takeo, T., Yayabe, F. and Sugano, M. : Tea catechins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats. Proceedings of the International Symposium on Tea Science(Japan), p.215 (1995)
- Muramatsu, K., Sugiyama, K., Amano, S., Nakashima, J. and Saeki, S. : Effect of green tea on cholesterol metabolism in rats. Proceedings of the International Symposium on Tea Science(Japan), p.220(1995)
- Choi, J. S., Park, S. H. and Choi, J. H. : Nitrite scavenging effect by flavonoids and its structure effect relationship. *Arch. Pharm. Res.*, **12**, 26(1989)
- Matsuo, T. and Ito, S. : The chemical structure of kaki-tannin from immature fruit of the persimmon (*Diospyros kaki* L.). *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 1637 (1978)
- 문숙희 : 감잎의 항돌연변이 및 항암효과. 박사학위논문, 부산대학교 대학원(1993)
- Moon, S. H., Kim, J. O., Rhee, S. H., Park, K. Y., Kim, K. H. and Rhew, T. H. : Antimutagenic effects and compounds identified from hexane fraction of Persimmon leaves. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**, 307 (1993)
- 박건영, 문숙희, 이숙희, 백경아, 임선영, 이세운 : AZ-521 인체위암세포에서 감잎탄닌의 암세포 성장억제 및 Type IV Collagen mRNA 함성에 미치는 효과. *한국환경성돌연변이발암원학회지*, **15**, 32(1995)
- 문숙희, 박건영 : 감잎 열수추출물 및 감잎 탄닌의 항돌연변이 효과. *한국영양식량학회지*, **24**, 880(1995)
- Okonogi, T., Hattori, Z., Ogiso, A. and Mitsui, S. : Detoxification by persimmon tannin of snake venoms and bacterial toxins. *Toxicon.*, **17**, 524(1970)
- Mishell, B. B. and Shiigi, S. M. : Selected methods in cellular immunology. Freeman and W.M. Co., San Francisco, p.16(1980)
- Suga, T., Shiio, T., Maeda, Y. Y. and Chihara, G. : Antitumor activity of lentinan syngenetic and autochthonous hosts and its suppressive effect on 3-methyl cholanthrene-induced carcinogenesis. *Cancer Res.*, **52**, 154(1992)
- Maeda, Y. Y. and Chihara, G. : The effect of neonatal thymectomy on the antitumor activity of lentinan, carboxymethyl pachymaran and zymosan and their effects on various immune responses. *Int. J. Cancer*, **11**, 153(1993)

20. Ishitsuka, H., Miwa, A., Takenoto, K., Fukuoka, K., Itoga, A. and Maruyama, H. B. : Role of uridine phosphorylase for antitumor activity of 5'-deoxy-5-fluorouridine. *Gann.*, **71**, 112(1980)
21. Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. : Principles and procedure of statistics. McGraw-Hill Kogakusha, Ltd., Tokyo, p.172(1980)
22. Athar, M., Khan, W. A. and Mukhtar, H. : Effect of dietary tannic acid on epidermal, lung, and forestomach polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism and tumorigenicity in Sencar mice. *Cancer Res.*, **49**, 5784(1989)
23. Fujita, Y., Yamane, T., Tanaka, M., Kuwata, K., Okuzumi, J., Takahashi, T., Fujiki, H. and Okada, T. : Inhibitory effect of (-)-epigallocatechin gallate on carcinogenesis with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in mouse duodenum. *Jpn. J. Cancer Res.*, **80**, 503(1989)
24. Kameda, K., Takaku, T., Okuda, H. and Kimura, Y. : Inhibitory effects of various flavonoids isolated from leaves of persimmon on angiotensin-converting enzyme activity. *J. Natural Products*, **50**, 680(1987)
25. Ryu, B. H., Kim, D. S., Cho, K. J. and Sin, D. B. : Antitumor activity of seaweeds toward Sarcoma-180. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **21**, 595(1989)

(1996년 6월 13일 접수)