

시험관법에 의한 식물 열수추출물의 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl CoA Reductase 및 Acyl-CoA:Cholesterol Acyltransferase 활성 저해도 측정

- 연구노트 -

이희자 · 최명숙[†]

경북대학교 식품영양학과

Measurement of Inhibitory Activities on 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl CoA Reductase and Acyl-CoA:Cholesterol Acyltransferase by Various Plant Extracts *in vitro*

Hee-Ja Lee and Myung-Sook Choi[†]

Dept. of Nutrition and Food Science, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

Abstract

Hydroxy-methylglutaryl CoA(HMG-CoA) reductase and acyl-CoA:cholesterol acyltransferase(ACAT) are two important enzymes that are associated with regulation of cholesterol metabolism. The inhibitors of HMG-CoA reductase and ACAT are very effective in lowering serum cholesterol in most animal species. In present study, various plant extracts with hot water were used to examine the inhibitory activities against HMG-CoA reductase and ACAT that are involved in cholesterol biosynthesis and cholesterol esterification in tissues, respectively. The extracts of *Fagopyrum rotundatum*, *Rosa multiflora*, *Rosa rugosa* and *Alisma orientalis* exhibited significant inhibitory activities against the ACAT, 29%, 24%, 19%, and 18%, respectively. However the extracts of *Typha augustifolia*, *Polygonum cuspidatum*, *Crataegus pinnatifida*, *Polygonum multiflorum* inhibited the HMG-CoA reductase activity by 53%, 42%, 37%, and 33% respectively. Results suggest that these plant extracts might play important roles in the regulation of the cholesterol metabolism *in vivo*.

Key words: hydroxy-methylglutaryl CoA reductase, acyl-CoA:cholesterol acyltransferase, inhibitory activity, plant extracts

서 론

콜레스테롤 대사 조절에 있어 두가지 중요한 효소로 간조직에 존재하면서 콜레스테롤 합성과 저장에 영향을 미치는 것으로 hydroxy-methyl-glutaryl CoA(HMG-CoA) reductase와 acyl-CoA:cholesterol acyltransferase (ACAT)를 들 수 있다. HMG-CoA reductase는 간의 콜레스테롤 합성을 조절하는 중요한 속도조절 효소이며, ACAT은 소장, 간 및 타 조직의 유리콜레스테롤을 에스테르화하는 효소로, 식이 콜레스테롤의 장내 흡수와 간에서 VLDL (very low density lipoprotein) 콜레스테롤 분비 및 동맥 혈관의 콜레스테롤 축적에 관여한다(1-6). 혈장 콜레스테롤 농도 조절은 콜레스테롤의 흡수, 생합성, 이화(담즙산의 합성), 배설, 조직으로의 분배 및 축적에 관련하는 복합기전들의 상호작용에 의해서 이루어진다. 지금까지의 보고에 의하면 이들 두 효소의 저해제들은 사람을 포함한 다양한 실험동물에서 콜레스테롤 저하 효과를 나타내었

을 뿐만 아니라, 항동맥경화 효과를 발휘하였다(7-18).

최근 국내에서는 천연자원을 대상으로 지질 저하 기능을 가진 생리 활성 물질을 생약이나 식물 식품로부터 찾아내려는 연구가 활발히 진행되고 있는데 마늘(19), 인삼(20), 고추(21), 보리(22), 갈대(23), 도토리(24), 송화분(25), 솔잎(26,27), 차전자(28), 메밀(29), 오갈피(30), 신선초(31) 및 그 외 약용 식물(32-34)로부터 혈청 콜레스테롤이나 중성지질 저해 효과가 보고된 바 있다. 본 연구는 생약제 성분중 항동맥경화작용이 있다고 보고된 다양한 생약제(35)를 선택하여 이들로부터 얻은 열수 추출물의 HMG-CoA reductase 및 ACAT 활성 저해 여부를 측정하여 향후 *in vivo* 실험에 응용하고자 시도되었다.

재료 및 방법

식물 추출물의 제조

약용 식물은 대구 약령 시장에서 구입하였으며 실험에

[†]To whom all correspondence should be addressed

사용된 재료는 Table 1과 같다. 재료의 전처리과정으로는 먼저 수세, 풍건, 세절하여 분말화 한 후 20 mesh 체를 통과시켜 사용하였다. 단 포황은 분말 상태이므로 전처리 없이 그대로 사용하였다. 열수 추출물의 조제는 증류수와 재료를 10:1(v:w)의 비율로 넣어 수욕상에서 환류 냉각하면서 3시간 동안 끓인 후 여과하여 상등액을 취하여 냉동 건조시켰다.

식물 추출물에 의한 HMG-CoA reductase 및 ACAT의 저해도 측정

지질저하 기능이 있다고 보고된(35) 12종의 식물을 선택하여 이들 시험물질에 대해 *in vitro* test에 의한 HMG-CoA reductase와 ACAT 활성의 저해정도를 측정하였으며 이때 사용된 방법은 다음과 같다.

Microsome 분리

간조직내의 HMG-CoA reductase와 ACAT활성도 측정을 위하여 Hulcher와 Oleson(36)의 방법을 수정하여 효소원으로 사용될 microsome을 분리하였다. 흰쥐의 간 2g을 0.1M triethanolamine, 0.02M ethylenediamine tetra-acetic acid(pH 7.4), 2mM dithiothreitol 완충용액에서 균질화한 후 10,000×g와 12,000×g에서 차례로 원심분리한 상층액을 100,000×g에서 초원심분리하여 상층액을 버리고 현탁하여 세척하였다. 이를 다시 100,000×g에서 초원심분리하여 1ml 완충액에 녹여 microsome 단백질을 정량하였으며, 이들 시료를 4개로 나누어 -70°C에 보관하여 사용하였다. 단백질 정량은 Bradford 방법(37)을 이용하였다.

ACAT 활성도 측정법

Gillies 등(38)의 방법을 수정, 보완하여 본 실험에 적용하였다. Cholesterol 6mg을 6ml acetone에 용해시켜 Triton WR-1339 600mg을 녹인 용액과 잘 섞은 후 N₂ gas 밑에서 acetone을 모두 휘발시켰다. 건조된 cholesterol은 20ml

의 물에 녹여 cholesterol(300µg/ml)용액을 준비하였다. 기질로 쓰이게 되는 oleoyl-CoA는 200µg/ml의 농도가 되게 물에 녹여 -70°C에 보관하여 사용하였다.

효소의 전반응으로는 Triton WR-1339에 녹인 cholesterol 6µg(20µl), 1M K-phosphate(pH 7.4) 20µl, 0.6mM BSA 10µl와 50~100µg microsome을 잘 섞은 후, 효소 저해제로 사용된 식물 추출액을 각각 10µl 취하여 최종부피가 180µl가 되게 증류수로 채운 후 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이때 공시료에는 microsome과 식물 추출액을 넣지 않았고 대조군시료에는 식물 추출액을 첨가하지 않았다. 이어서 [¹⁴C]oleoyl-CoA(specific activity: 2.1420 GBq/mmole, NENTM Life science products, INC. Boston) 5.62 nmole를 추가하여 전체 부피가 200µl가 되게 한 후 37°C에서 30분간 반응한 후, 500µl의 isopropanol:heptane(4:1, v/v) 용액, 300µl의 heptane 그리고 200µl의 0.1M K-phosphate(pH 7.4)를 넣고 교반하여 실온에서 2분간 방치한 후 층분리를 실시하여 상층액을 구하였다. 상층액 400µl 중 200µl를 취하여 scintillation counter(Packard Tricarb 1600TR, Packard, Australia)로 측정된 동위원소 활성을 2배 곱하여 효소 활성도로 하였다. 활성도의 계산은 1mg의 microsome 단백질이 1분간 생성하는 cholesteryl oleate의 pmole수(pmoles cholesteryl oleate formed/min/mg microsomal protein)로 나타내었다.

HMG-CoA reductase 활성도 측정법

Shapiro 등(39)의 방법을 수정, 보완하여 실시하였다. NADPH(500 nmole), microsome(50~100µg) 및 식물 추출액(100µg)과 완충용액을 첨가하여 37°C에서 5분간 전반응 후 [¹⁴C]HMG-CoA(specific activity: 2.1420 GBq/mmole, NENTM Life science products, INC. Boston) 50 nmole를 더하여 37°C에서 5분간 반응시켰다. 이때 공시료에는 microsome과 효소저해제를 넣지 않았고 대조시료에는 효소저해제를 첨가하지 않았다. 이때 생성된 mevalonate를 mevalolactone으로 전환시키기 위해 6 N HCl을 첨가하여 37°C에서 15분 이상 반응시켰으며, 원심분리 후 상층액 15~20µl를 silica gel 60F₂₅₄ TLC plate에 점적하여 Rf값이 0.6 부근의 band를 잘라 scintillation counter(Packard Tricarb 1600TR, Packard, Australia)로 측정하였다. 효소 활성도는 1mg microsomal 단백질이 1분간 생성한 mevalonate의 pmole수(pmoles mevalonate/min/mg microsomal protein)로 나타내었다.

결과 및 고찰

열수 추출물의 회수율

식물을 3회 각각 추출하여 얻은 평균 회수율을 계산한 결과는 Table 2와 같다. 회수율이 가장 많은 시료는 산사로 34.7%였고, 그 다음이 인삼으로 26.0%, 포황 24.1%,

Table 1. List of test samples for screening of ACAT and HMG-CoA reductase inhibitors

English name	Parts of plant used for extraction
<i>Cassia obtusifolia</i>	dried seed
<i>Crataegus pinnatifida</i>	dried fruit
<i>Typha augustifolia</i>	dried pollen
<i>Alisma orientalis</i>	dried root
<i>Polygonum multiflorum</i>	dried tuberous root
<i>Polygonum cuspidatum</i>	dried root
<i>Carthamus tinctorius</i>	dried seed
<i>Panax ginseng</i>	dried root
<i>Fagopyrum rotundatum</i>	dried seed shell
<i>Rosa multiflora</i>	dried root
<i>Ganoderma lucidum</i>	dried fructification
<i>Rosa rugosa</i>	dried root

텍사 22.1% 순이었다. 회수율이 가장 적은 시료는 영지와 메밀피로 4% 정도이었다.

ACAT 저해 활성

ACAT 활성 저해제를 탐색하기 위해 12종의 상기 시료를 열수 추출한 후 효소활성 저해 정도를 측정된 결과는 Table 3과 같다. 아래와 같이 12종의 열수 추출물 중에서 결명자, 산사, 포황을 제외한 나머지 9종은 ACAT 활성을 저해하였으며 그 중에서 메밀피(29%), 쥘레근(24%), 해당화근(19%), 텍사(18%)가 비교적 높은 저해도를 나타내었다.

HMG-CoA reductase 저해 활성

HMG-CoA reductase 활성 저해제를 탐색하기 위해 시료를 열수 추출한 후 효소활성 저해 정도를 측정하였다. ACAT 활성 저해결과를 참고로 하여 추출 용매는 증류수를 사용하였으며, 약초의 효능면에서 HMG-CoA reductase에 대해 비교적 저해활성이 있을 것으로 예상되

는 후보물질로 결명자, 산사, 포황, 텍사, 하수오 및 호장근의 열수 추출물을 시험 대상으로 선택하였다. Table 4와 같이 상기 6종의 열수 추출물에 의한 HMG-CoA reductase 저해 활성 시험 결과, 6종 모두 HMG-CoA reductase에 대해 저해 활성을 나타내었다. 그 중에서 포황(53%), 호장근(42%), 산사(37%), 하수오(33%)가 비교적 높은 효소 저해활성을 나타내었다.

현대 생활의 풍요로움으로 인해 증가되고 있는 고콜레스테롤혈증은 여러가지 성인병을 유도하며, 각국에서는 이 문제를 해결하기 위해 식이요법과 함께 사용될 콜레스테롤 저하 기능을 가진 생리 활성 물질의 개발 또는 합성에 주력하고 있다. 그러나 지금까지 개발된 체내 콜레스테롤 합성 저해제들은 대부분 미생물에 의해 합성되거나 유기 합성에 의한 것으로 그 효과가 단기적으로는 인정되나 장기적 사용으로 인한 부작용들이 확인되었다(40,41). 국내에서는 식물의 생리활성 기능을 탐색하는 연구의 일환으로 최근 생약이나 식용식물로부터 지질 강하 효능을 지닌 물질을 찾아내는 연구가 활발히 진행되고 있다(19-34,42).

콜레스테롤 생합성 과정의 속도조절 효소인 HMG-CoA reductase는 기질인 HMG-CoA를 mevalonate와 CoA-SH로 전환시킨다. HMG-CoA reductase 활성도를 분광광도법(36)을 이용하여 측정할 경우 1mg microsome 단백질이 1분간 생성한 CoA-SH pmoles 수로 나타내고, 동위원소를 사용한 thin layer chromatography(TLC)방법을 이용할 경우에는 1mg microsome 단백질이 1분간 생성한 [¹⁴C]mevalonate의 양을 pmoles 수로 측정한다(39). 본 연구에서 방사선 동위원소법을 사용하여 HMG-CoA reductase 저해 활성을 탐색한 결과 포황, 호장근, 산사, 하수오, 텍사, 결명자 열수 추출물에서 각각 53%, 42%, 37%, 33%, 13%, 8%의 저해 활성이 관찰되었다. 산사는 Lee 등(43)의 연구에서도 사용되었는데 산사 물 추출물은 효소 저해 활성이 음의 값을 보여 HMG-CoA reductase를 오히려 활성화시키는 물질이라고 하였다. 이는 산사 열수 추출물에 대해 37%의 효소 활성 저해 효과를 보인 본 연구 결과와는 상반되며 HMG-CoA reductase 활성 저해도의 측정 방법에 따른 차이일 수도 있다. Choi 등(29)도 메밀 물 추출물에 대하여 *in vitro* HMG-CoA reductase 저해 활성을 측정할 결과, 메밀 채소는 효소 활성을 150% 상승시켰으나, 메밀 종자는 7%, 메밀에 많이 포함되어 있는 rutin은 8%, 메밀피는 33%의 저해 효과가 있음을 보고하였다. 이처럼 *in vitro* test에서 rutin 또는 메밀 채소물 추출물은 HMG-CoA reductase 활성을 억제시키지 못하거나, 오히려 활성화시키는 효과를 나타내었으나, *in vivo* test에서는 혈장과 간의 콜레스테롤을 저하시키는 경향이 있음이 보고되어 *in vitro* 실험에서 효소활성을 저해하는 결과가 *in vivo*에서 그대로 일치하지 않음을 알 수 있다.

Table 2. Recovery rate of water extract from various plants

Samples	Recovery rate(%) ¹⁾
<i>Cassia obtusifolia</i>	15.9
<i>Crataegus pinnatifida</i>	34.7
<i>Typha augustifolia</i>	24.1
<i>Alisma orientalis</i>	22.1
<i>Polygonum multiflorum</i>	18.1
<i>Polygonum cuspidatum</i>	14.1
<i>Carthamus tinctorius</i>	9.1
<i>Panax ginseng</i>	26.0
<i>Fagopyrum rotundatum</i>	4.0
<i>Rosa multiflora</i>	9.1
<i>Ganoderma lucidum</i>	4.0
<i>Rosa rugosa</i>	9.2

¹⁾Average value of three times extraction, plant extract(g) obtained×100/raw material(g) used.

Table 3. ACAT inhibition activities by water extract from the various plants

Samples(10μl)	ACAT activity ¹⁾	Degree of inhibition(%) ²⁾
Control	497.51	0
<i>Cassia obtusifolia</i>	533.77	-7.29
<i>Crataegus pinnatifida</i>	512.56	-3.02
<i>Typha augustifolia</i>	575.39	-15.65
<i>Alisma orientalis</i>	407.45	18.10
<i>Polygonum multiflorum</i>	447.43	10.07
<i>Polygonum cuspidatum</i>	483.04	2.91
<i>Carthamus tinctorius</i>	470.00	5.53
<i>Panax ginseng</i>	468.71	5.79
<i>Fagopyrum rotundatum</i>	352.72	29.10
<i>Rosa multiflora</i>	376.86	24.25
<i>Ganoderma lucidum</i>	421.28	15.32
<i>Rosa rugosa</i>	401.36	19.33

¹⁾pmoles/min/mg protein

²⁾100-(sample activity×100/control activity)

Table 4. HMG-CoA reductase inhibition activities by water extract from the various plants

Samples(100µg)	HMG-CoA reductase activity ¹⁾	Degree of inhibition(%) ²⁾
Control	19055.01	0
<i>Cassia obtusifolia</i>	17586.90	7.70
<i>Crataegus pinnatifida</i>	11924.96	37.42
<i>Typha augustifolia</i>	8916.72	53.21
Control	18447.97	0
<i>Alisma orientalis</i>	16035.59	13.08
<i>Polygonum multiflorum</i>	12394.40	32.81
<i>Polygonum cuspidatum</i>	10790.57	41.51

¹⁾pmoles mevalonate formed/min/mg microsomal protein

²⁾100-(sample activity×100/control activity)

ACAT에 대한 작용기작은 이미 상세히 보고된 바 있으며(2-6) 콜레스테롤 대사와 동맥경화 발생과 관련된 주된 장기인 장, 간, 동맥조직에서 그 활성이 확인되었다. 본 연구에서 ACAT 활성 저해제를 탐색하기 위해 12종의 상기 시료를 물로 추출한 후 ACAT 저해 활성 시험을 실시한 결과, 12종의 물 추출물 중에서 결명자, 산사, 포황을 제외한 나머지 9종의 추출물은 ACAT에 대해 저해 활성을 나타내었다. 그 중에서 메밀피, 쫄레근, 해당화근, 택사가 비교적 높은 ACAT 활성 저해효과가 있으므로 초기 동맥경화증의 예방 및 치료에 효과적일 것으로 기대된다. 아울러 생약이나 식용 식물로부터의 시험관법을 이용한 HMG-CoA reductase와 ACAT 저해제 탐색과 체내 효능시험은 별도로 실시되어야 할 중요한 연구로 사료된다.

요 약

HMG-CoA reductase와 ACAT은 콜레스테롤 대사조절에 관여하는 두가지 주요 효소이며 체내에서 이들 효소를 저해하는 물질들은 콜레스테롤 저하작용을 나타낸다. 본 실험은 *in vivo* 실험에 선행하여 *in vitro*에서 이들 두 효소에 대한 저해활성을 식물의 열수 추출분획으로부터 찾고자하는 의도에서 실시되었다. 즉, 식물로부터 고지혈증 개선 효과를 가지는 후보물질을 시험관법으로 탐색하기 위하여, 결명자, 산사, 포황, 택사, 하수오, 호장근, 홍화씨, 인삼, 메밀피, 쫄레근, 영지, 해당화근을 대상으로 열수 추출물을 얻은 다음 HMG-CoA reductase 및 ACAT 활성의 저해정도를 측정하였다. 그 중 메밀피, 쫄레근, 해당화근, 택사가 비교적 높은 ACAT 활성 저해(29%, 24%, 19%, 18%)를 나타내었고, 포황, 호장근, 산사, 하수오가 HMG-CoA reductase 활성 저해에 대해 비교적 높은 값(53%, 42%, 37%, 33%)을 나타내었다.

감사의 글

이 논문은 1997년도 한국과학재단 학술연구조성비(핵심전문연구 971-0604-020-2)에 의해 수행된 연구의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

- Stein, E. A. : Drug and alternative therapies for hyperlipidemia. *Atherosclerosis*, **108**, S105-S116(1994)
- Heidner, J. G., Pickens, C. E. and Kelly, L. A. : Role of acyl-CoA:cholesterol acyltransferase in cholesterol absorption and its inhibition by 57-118 in the rabbit. *J. Lipid Research*, **24**, 1127-1134(1983)
- Krause, B. R., Anderson, M., Bisgaier, C. L., Bacon, T., Bousley, R., Dehart, P., Essenburg, A., Hamehle, K., Homan, R., Kieft, K., McNally, W., Stanfield, R. and R. S. : In vivo evidence that the lipid-regulating activity of the ACAT inhibitor CI-976 in rats is due to inhibition of both intestinal and liver ACAT. *J. Lipid Research*, **34**, 279-294(1993)
- Helgerud, P., Saarem, K. and Norum, K. R. : Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase in human small intestine: its activity and some properties of the enzymatic reaction. *J. Lipid Research*, **22**, 271-277(1981)
- Suckling, K. E. and Stange, E. F. : Role of acyl-CoA:cholesterol acyltransferase in cellular cholesterol metabolism. *J. Lipid Research*, **26**, 647-671(1985)
- Sugiyama, Y., Ishikawa, E., Odaka, H., Miki, N., Tawada, H. and Ikeda, H. : TMP-153, a novel ACAT inhibitor, inhibits cholesterol absorption and lowers plasma cholesterol in rats and hamsters. *Atherosclerosis*, **113**, 71-78(1985)
- Bocan, T. M. A., Mueller, S. B., Uhlendorf, P. D., Newton, R. S. and Krause, B. R. : Comparison of CI-976, an ACAT inhibitor and selected lipid-lowering agents for antiatherosclerotic activity in iliac-femoral and thoracic aortic lesions. *Arteriosclerosis and Thrombosis*, **11**, 1830-1843(1991)
- Peter, J. G., Kathy, A. R., Marie, A. P. and Candy, S. R. : Regulation of acyl-CoA:cholesterol acyltransferase activity in normal and atherosclerotic rabbit aortas: Role of a cholesterol substrate pool. *Experimental and Molecular Pathology*, **44**, 329-339(1986)
- Uday, S., Erika, F. and Roger, S. N. : Acyl-Coenzyme A:cholesterol acyltransferase(ACAT) inhibitors modulate monocyte adhesion to aortic endothelial cells. *Atherosclerosis*, **112**, 7-17(1995)
- Havel, R. J., Hunninghake, D. B., Illingworth, D. R., Lees, R. S., Stein, E. A., Tobert, J. A., Bacon, S. R., Bolognese, J. A., Fost, P. H. and Lamkin, G. E. : Lovastatin in the treatment of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Ann. Intern. Med.*, **107**, 609-615(1987)
- Kajinami, K., Toshimura, A. and Watanabe, A. : Proc IXth international symposium on drug effecting lipid metabolism. Florence, Oct. 27(1986)

12. Yoshino, G., Kazumi, T., Kasama, T., Iwai, M., Iwatani, I., Matsuba, K., Matsushita, M. and Baba, S. : Effect of CS-514(pravastatin) on VLDL-triglyceride kinetics in rats. *Atherosclerosis*, **73**, 191-195(1988)
13. Feillet, C., Farnier, M., Monnier, L. H., Percheron, C., Colette, C., Descomps, B. and De Paulet, A. C. : Comparative effects of simvastatin and pravastatin on cholesterol synthesis in patients with primary hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*, **118**, 251-258(1995)
14. Tsujita, Y., Kuroda, M., Shimada, Y., Tanzawa, K., Arai, M., Kaneko, I., Tanaka, M., Masuda, H., Tarumi, C., Watanabe, T. and Fujii, S. : CS-514, a competitive inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase: tissue-selective inhibition of sterol synthesis and hypolipidemic effect on various animal species. *Biochim. Biophys. Acta.*, **50**, 50-60(1986)
15. Bruce, D., Roth, C., John, B., Milton, L. H. and Ann, H. : Inhibitors of ACAT. *J. Med. Chem.*, **36**, 1609-1617 (1992)
16. Illingworth, D. R. and Bacon, S. : Hypolipidemic effects of HMG-CoA reductase inhibitors in patients with hypercholesterolemia. *American J. Cardiology*, **60**, 33-42 (1987)
17. Naoumova, R. P., Marais, A. D., Mountney, J., Firth, J. C., Rendell, N. B., Taylor, G. W. and Thompson, G. : Plasma mevalonic acid, an index of cholesterol synthesis *in vivo*, and responsiveness to HMG-CoA reductase inhibitors in familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis*, **119**, 203-213(1996)
18. Matsunaga, A., Sasaki, J., Takada, Y., Hidaka, K. and Arakawa, K. : Effect of simvastatin on receptor mediated metabolism of low density lipoprotein in guinea pigs. *Atherosclerosis*, **90**, 31-37(1991)
19. Qureshi, A. A., Abuirmeil, N., Din, Z. Z., Elson, C. and Burger, W. C. : Inhibition of cholesterol and fatty acid biosynthesis in liver enzymes and chicken hepatocytes by polar fractions of garlic. *Lipids*, **18**, 343-348(1983)
20. Qureshi, A. A., Burger, W. C., Peterson, D. M. and Elson, C. : Suppression of cholesterol synthesis by plant constituents. *Lipids*, **20**, 817-822(1985)
21. Negulesco, J. A., Noel, S. A., Newman, H. A. I., Nabar, E. C., Bhat, H. B. and Witiak, D. T. : Effects of pure capsaicinoids(capsaicin and dihydrocapsaicin) on plasma lipid and lipoprotein concentrations of turkey poults. *Atherosclerosis*, **64**, 85-90(1987)
22. Qureshi, A. A., Burger, W. C., Peterson, D. M. and Elson, C. : The structure of an inhibitor of cholesterol biosynthesis isolated from barley. *J. Biol. Chem.*, **261**, 10544-10549 (1986)
23. Choi, J. S., Lee, J. H. and Young, H. S. : Anti-hyperlipidemic effect of phragmites communis and its active principles. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **24**, 523-529(1995)
24. Sung, I. S., Kim, M. J. and Choi, S. Y. : Effect of *Quercus acutissima* CARRUTHERS extracts on the lipid metabolism. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 327-333(1997)
25. Lee, Y. J., Park, M. H., Hwang, S. W., Bae, M. J. and Han, J. P. : Effect of pine pollen on serum and liver lipids in rats on a fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **23**, 192-197(1994)
26. Kim, J. D., Yoon, T. H., Choe, M., Im, K. J., Ju, J. S. and Lee, S. Y. : Effect of dietary supplementation with pine leaf on lipid parameters in rats. *Kor. J. Gerontol.*, **1**, 47-50(1991)
27. Kang, Y. H., Park, Y. K., Ha, T. Y. and Moon, K. D. : Effects of pine needle extracts on serum and liver lipid contents in rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**, 367-373(1996)
28. Cho, S. Y. and Kim, M. J. : The effect of plantaginis semen on serum and hepatic lipid metabolism in fed high and low fat diets. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **24**, 517-522 (1995)
29. Choi, T. S., Sur, J. H., Kim, C. H., Kim, Y. M., Han, S. S. and Lee, S. Y. : Effect of dietary buckwheat vegetables on lipid metabolism in rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **23**, 212-218(1994)
30. Sung, T. S., Son, G. M., Bae, M. J. and Choi, C. : Effect of acanthopanacis cortex boiling extract solutions on fat accumulation in the obese rats induced by high fat dietary. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **21**, 9-16(1992)
31. Park, J. R., Park, S. K., Cho, Y. S., Chun, S. S., Choi, S. H. and Park, J. C. : Effect of *Angelica keiskei* on lipid metabolism in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 308-313(1997)
32. Lee, Y. S., Kim, J. D., Lee, Y. H., Rhee, H. I. and Choi, Y. S. : Influence of extract of *Rosa Rugosa* roots on lipid levels in serum levels in serum and liver of rats. *Life Sci.*, **49**, 947-951(1991)
33. Choi, J. S., Yokoza, T. and Oura, H. : Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Prunus davidiana*. *J. Natural Products*, **54**, 218-224(1991)
34. Jo, Y. S., Park, J. R., Park, S. K., Chun, S. S., Chung, S. Y. and Ha, B. S. : Effect of mustard leaf(*Brassica juncea*) on cholesterol metabolism in rats. *Korean J Nutrition*, **26**, 13-20(1993)
35. Huang, K. C. : Antihypercholesterolemic herbs. In "The pharmacology of Chinese herbs" Huang, K. C.(ed.), CRC press, Boca Raton, Florida, pp.99-106(1993)
36. Hulcher, F. H. and Oleson, W. H. : Simplified spectrophotometric assay for microsomal 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase by measurement of coenzyme A. *J. Lipid Research*, **14**, 625-631(1973)
37. Bradford, M. M. : A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.*, **72**, 248-254(1976)
38. Gillies, P. J., Rathgeb, K. A., Perri, M. A. and Robinson, C. S. : Regulation of acyl-CoA:cholesterol acyltransferase activity in normal and atherosclerotic rabbit aortas: Role of a cholesterol substrate pool. *Experimental and Molecular Pathology*, **44**, 329-339(1986)
39. Shapiro, D. J., Nordstrom, J. L., Mitschelen, J. J., Rodwell, V. W. and Schimke, R. T. : Micro assay for 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase in rat liver and in L-cell fibroblasts. *Biochim. Biophys. Acta*, **370**, 369-377 (1974)
40. Illingworth, D. R. : An overview of lipid-lowering drugs. *Drugs*, **S3**, 63-71(1988)
41. Grundy, S. M., Mok, H. Y., Zech, L. and Berman, M. : Influence of nicotinic acid on metabolism of cholesterol and triglycerides in man. *Lipid Research*, **22**, 24-36 (1981)
42. Park, J. R., Park, J. C. and Choi, S. H. : Screening and characterization of anticholesterogenic substances from edible plant extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **26**, 236-241(1997)
43. Lee, Y. H., Shin, Y. M., Lee, J. E., Choi, Y. S. and Lee, S. Y. : *In vitro* screening of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor from plant extract. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **6**, 55-61(1991)