

췌장 콜레스테롤 에스테레이즈 저해제인 초두구 추출물의 혈중 콜레스테롤 저해효과

김희숙 · 김지영 · 최종원* · 허영미** · 서관길** · 류성호**
경성대학교 식품공학과, *경성대학교 약학대학, **포항공과대학교 생명과학과

Plasma Cholesterol-Lowering Effects of *Alpiniae katsumadaii* Extract as an Inhibitor of Pancreatic Cholesterol Esterase Activity

Hee Sook Kim, Ji Young Kim, Jong Won Choi*, Young Mi Huh**,
Pann-Ghill Suh** and Sung Ho Ryu**

Department of Food Science and Technology, Kyungsoong University

*College of Pharmacy, Kyungsoong University, Pusan 608-736, Korea

**Department of Life Science, POSTECH, Pohang 790-784, Korea

Abstract

Ethanol extract of *Alpiniae Katsumadaii* semen inhibited potently cholesterol esterase activity *in vitro*. Chloroform fraction of ethanol extract showed the stronger inhibitory effect than other solvent fractions-ethylacetate fraction, butanol fraction, and aqueous fraction. The chloroform fraction of *Alpiniae katsumadaii* semen were studied as a candidator of plasma cholesterol lowering material in high cholesterol-fed rats. In high cholesterol-fed rats, the diet with chloroform fraction of 100 mg/kg and 150 mg/kg lowered not only plasma neutral lipids contents 25.9% and 26.5% but also plasma total cholesterol level 11.8% and 20.8%, respectively. Plasma HDL-cholesterol level and Atherogenic Index(AI) in *Alpiniae* chloroform fraction-fed rats were recovered as those level of normal rats.

Key words : *Alpiniae katsumadaii* semen, cholesterol esterase, acyl CoA: cholesterol acyltransferase, Atherogenic Index

서 론

콜레스테롤은 세포를 구성하는 필수성분으로 세포의 성장, 분화 및 발육에 중요한 역할을 담당하고 있으나 과다섭취로 인하여 혈관에 축적될 때 동맥경화, 협심증 등의 심각한 심혈관질환을 초래하여 치명적 결과를 낳기도 한다⁽¹⁾. 성인의 경우 매일 약 1,000 mg 정도의 콜레스테롤을 신체의 거의 모든 세포에서 생산하며 약 300 mg 정도를 음식물로부터 섭취한다. 현대인들은 보통 신체 요구량보다 과다한 콜레스테롤을 섭취하고 있으며⁽²⁾ 남은 콜레스테롤은 혈액속을 떠돌다가 단핵구, 거식세포 등과 함께 혈관내막에 흡착, 거품세포로 전환되어 동맥경화를 일으킬 수도 있다고 하였다⁽³⁾. LRH-CPPT 연구⁽⁴⁾ 및 헬싱키 심장연구⁽⁵⁾에서는

콜레스테롤의 섭취를 1% 줄일 경우 심혈관계 질환을 2% 줄일 수 있다고 보고한 바 있다.

콜레스테롤 흡수과정에 대한 지금까지의 연구결과에 의하면 섭취된 콜레스테롤성분 중 콜레스테릴 에스테르는 췌장에서 장내로 분배되는 효소중의 하나인 췌장 cholesterol esterase(이하 CEase or pCEH, pancreas cholesterol ester hydrolase, E.C.3.1.1.13)에 의하여 유리 콜레스테롤과 지방산으로 가수분해되며, 또한 이 효소는 유리 콜레스테롤의 장내흡수를 용이하게 하는 것으로 알려져 있다⁽⁶⁾. 췌장 CEase는 담즙산의존성 효소로서 식이성 콜레스테릴 에스테르 및 다른 acyl화된 지질들이 가수분해되는 장소인 소장으로 분비된다. 그러나 많은 연구결과들은 췌장 CEase가 콜레스테릴 에스테르를 가수분해할 뿐 아니라 소장의 흡수용도로 췌장 CEase가 흡수된 후 흡수된 유리콜레스테롤과 지방산이 다시 에스테르화(reesterification)하는데도 관여함을 보여주었다^(7,8). 가수분해된 유리콜레스테롤이

Corresponding author : Hee Sook Kim, Department of Food Science and Technology, Kyungsoong University, 110 Daeyoung-Dong Nam-Gu, Pusan 608-736, Korea

소장벽으로 흡수된 후에는 대부분의 유리 콜레스테롤은 다시 지방산과 에스테르를 형성하게 되는데 이 과정에 관여하는 효소들은 췌장 CEase와 acyl-CoA:cholesterol acyltransferase(이하 ACAT)가 관여한다고 알려져 있다. Gallo 등⁽⁹⁾은 췌장의 소화액으로부터 CEase를 제거하고 ACAT를 정상으로 유지시키면 혈류의 콜레스테롤 흡수가 거의 80% 저해된다고 하였으며 이는 ACAT만으로는 외인성 콜레스테롤의 흡수를 유지하지 못하며 췌장 CEase가 가장 필수적인 역할을 한다고 주장하였다. 혈중 콜레스테롤함량을 감소시키기 위한 방법으로는 세포내 콜레스테롤의 생합성에 관여하는 합성효소들인 HMG-CoA reductase나 HMG-CoA synthase 또는 squalene epoxidase 등을 저해하거나 체내의 콜레스테롤의 배설을 촉진시키거나 또는 콜레스테롤 흡수를 저해하는 방법들이 있으며 저해제를 개발하기 위하여 많은 연구들이 진행되고 있다.⁽¹⁰⁻¹²⁾

본 실험에서는 166종의 한방재료를 ethanol 추출하여 췌장 CEase활성 저해제를 screening하던 중 건위, 진토 및 수렴지사작용 등 약리작용을 가지는 것으로 알려진⁽¹³⁾ 생강과(Zingiberaceae)에 속하는 초두구(*Alpinia katsumadai* semen)의 추출물에 췌장 cholesterol esterase를 저해하는 물질이 존재함을 발견하고 이들 추출물들이 생체내에서 고지혈증 또는 동맥경화증의 억제에 기여할 수 있는지 검토하기 위하여 식이성 고콜레스테롤혈증을 유발한 흰쥐에게 추출물을 섭취시켰을 때 혈중 cholesterol 함량, 인지질 함량, 중성지질 함량 및 HMG-CoA reductase활성을 측정하고 *in vitro*에서의 췌장 CEase 저해활성을 측정하였다.

재료 및 방법

재료

중국산 초두구(*Alpinia katsumadai* semen)를 부산에 소재하는 자유시장내 한약재료상에서 구입하여 공시재료로 하였다.

소 췌장으로부터 CEase의 정제

신선한 소 췌장으로부터 CEase의 정제는 Lee 등의 방법⁽¹⁴⁾에 따랐다. 즉, 소 췌장을 완충용액(50 mM Tris/HCl, pH 7.4, 5 mM EDTA, 2 mM EGTA, 2 mM PMSF 및 0.1 mM DTT)과 함께 균질화하고 13,000×g에서 원심분리한 후 아세트산으로 pH를 5로 조절하고 침전물을 제거한 후 상층액에 (NH₄)₂SO₄를 가하여

60%포화되게 하였다. 침전물을 완충용액(20 mM HEPES/NaOH, pH 7.0, 3 M KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA 및 0.1 mM DTT)에 녹이고 같은 완충용액으로 평형시킨 TSKgel phenyl-5PW 컬럼(21.5×150 mm)에 주입하였다. 단백질은 3 M~0 M KCl이 함유된 완충용액의 농도구배법으로 용출시킨 후 증류수로 20분간 용출시켰다. 췌장 cholesterol esterase 활성이 있는 단백질을 모아 농축하고 HEPES완충용액으로 평형시켜 놓은 TSKgel heparin-5PW 컬럼(7.5×75 mm)에 흡착시킨 후 1 M~0 M NaCl이 함유된 완충용액의 농도구배법으로 용출시켰을 때 400 mM NaCl 용출부분에서 효소활성이 나타났으며 SDS-PAGE로 단백질 band를 확인하고 농축한 다음 아래의 효소활성실험에 사용하였다.

효소활성 및 저해제 활성 측정법

100 μl 반응혼합물은 방사선동위원소로 표시된 cholesteryl [¹⁴C-1] oleate 20,000 cpm, 10 μM cholesteryl oleate, 10 μM phosphatidyl choline, 100 mM sodium cholate, 50 mM Tris/HCl, pH 8.0과 200 ng의 효소가 함유되었다. 초두구 추출물의 cholesterol esterase 저해 활성을 측정하는 경우, 먼저 초두구의 추출물을 시험관에 넣고 질소가스로 건조시킨 다음, 완충용액을 넣어 초음파 파쇄기로 균질화시키고 효소와 기질을 넣어 반응시켰다. 37°C에서 10분 동안 반응시킨 후 1.625 ml의 methanol/chloroform/heptane(1.41 : 1.25 : 1.0)과 50 mM sodium carbonate/50 mM sodium borate용액(pH 10.0) 0.525 ml로 반응을 정지시키고 실온에서 원심분리한 후 수용액층 0.75 ml를 취하여 가수분해된 [¹⁴C-1]oleate의 방사능양을 β-ray liquid scintillation counter(Model: TRI-CARB 2100TR, Packard Instrument, Netherland)로 측정하였다.

초두구로부터 에탄올추출물 및 용매분획물 조제

초두구로부터 췌장 CEase활성을 저해하는 물질을 분획하기 위하여 잘게 부순 초두구 1 kg을 500 g씩 21의 환저 플라스크에 넣고 95% 에탄올 1000 ml를 가하여 환류냉각장치를 설치한 후 플라스크내의 용액을 끓이면서 환류냉각시키고 여액을 거른 다음 잔사를 다시 에탄올로 2회 반복 가열 추출하여 여액을 합하고 회전 증발기로 감압 농축하였다. 감압 농축된 에탄올 추출물을 10% 메탄올로 현탁하여 클로로포름, 에틸아세테이트 및 n-부탄올로 단계별 추출하고 농축하여 얻은 클로로포름분획, 에틸아세테이트분획, 부탄올분획 및 물분획이 췌장 CEase활성에 미치는 영향을 관찰하였다.

Table 1. The composition of high cholesterol diet

Ingredients	%
Casein	20.0
Corn oil	10.0
Lard	12.0
Corn starch	46.75
Cellulose	5.0
AIN-mineral mixture	3.5
AIN-vitamin mixture	1.0
Choline bitartrate	0.2
DL-methionine	0.3
Cholesterol	1.0
Na-cho late	0.25

동물사육 및 조직처리

실험동물로는 대한실험동물센터(충북 음성군 소재)로부터 분양받은 Sprague-Dawley계 rat(체중 210 g 내외)를 일정한 조건(온도 : 24±2°C, 습도 : 55-60%, 명암 : 12 시간 dark/light cycle)에서 적응시킨 후 본 실험에 사용하였다. 또한 고지혈증 유발은 1%의 cholesterol과 0.25% sodium cholate를 함유한 사료(Table 1)로 4주간 사육한 다음 1주일간 초두구 클로로포름분획을 1% Tween 80에 녹인 다음 50 mg/kg, 100 mg/kg 및 150 mg/kg을 needle zone을 사용하여 구강으로 투여하였다. 투여실험이 끝난 rat를 CO₂로 가법계 마취시킨 뒤 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취한 뒤 실온에서 30분간 방치한 후 3000 rpm에서 10분간 원심분리 하여 혈청을 분리하였다. 이상의 모든 조작은 따로 규정이 없는 한 4°C 이하에서 행하였다. 초두구 클로로포름추출물의 독성검사를 위하여 각각 30마리의 mouse에 kg 당 250-2,250 mg의 클로로포름추출물을 복강으로 투여한 후 24시간 내에 죽는 개체수를 세어 LD₅₀을 계산하였다.

혈청중 지질함량의 측정

혈청중의 총 cholesterol 함량의 측정은 Richmond 등의 효소법⁽¹⁵⁾에 의하여 조제된 kit(AM 202-K, Asan)를, 인지질 함량은 Goodwin의 방법⁽¹⁶⁾에 준하여 조제된 kit(Iatron Chem. Co.)를 사용하여 측정하였고 중성 지질의 함량은 McGowan 등의 방법⁽¹⁷⁾에 준하여 조제된 kit(AM 157S-K, Asan)를 사용하여 측정하였다. 모든 지질의 함량은 검량선에 준해 mg/dl로 표시하였다.

혈청중 HDL-C, LDL-C 및 VLDL-C 함량의 측정

혈청중 HDL-C(high density lipidprotein-cholesterol)의 함량은 Noma 등의 효소법⁽¹⁸⁾에 의하여 조제된 kit(AM 203-K, Asan)를 사용하여 측정하였고 LDL-

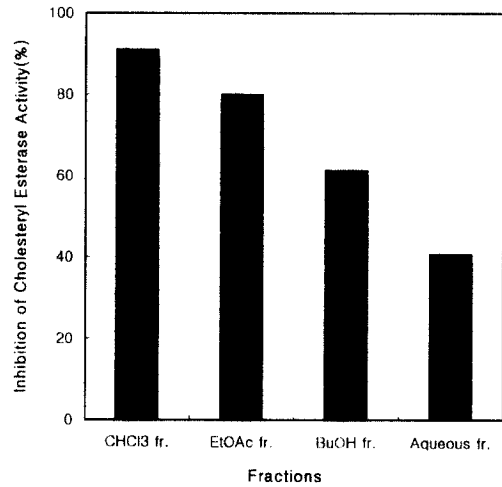


Fig. 1. The inhibitory effects of *Alpiniae katsumadaii* semen extract on cholesterol esterase activity. 10 µg of each extract was used in an assay.

C(low density lipoprotein-cholesterol)의 함량과 VLDL-C(very low density lipoprotein-cholesterol)의 함량은 Fridewald 등의 방법⁽¹⁹⁾에 따라 다음의 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{LDL-C} = [\text{총 cholesterol 양} - (\text{HDL-C} + \text{neutral lipid 양} / 5)]$$

$$\text{VLDL-C} = [\text{총 cholesterol 양} - (\text{HDL-C} + \text{LDL-C})]$$

통계처리

실험동물은 한 group당 8마리씩으로 하였고, 본 실험에서 얻어진 결과는 평균치±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성 검증은 Duncan's multiple range test를 이용하였다.

결과 및 고찰

초두구의 용매추출 및 저해활성

초두구 1 kg의 에탄올 추출물을 극성이 다른 용매로 분별추출하였을 때, 클로로포름분획 64.2 g(회수율 6.24%), 에틸아세테이트분획 7.08 g(회수율 0.78%), 부탄올분획 5.6 g(회수율 0.56%) 및 수용액분획 8.58 g(회수율 0.85%)을 얻었으며 각각 용매분획의 cholesterol esterase에 대한 저해활성은 Fig. 1 과 같았다. 각 분획 10 µg이 췌장 cholesterol esterase의 활성을 저해한 정도는 클로로포름분획은 91%, 에틸아세테이트분획은 80%, 부탄올분획은 62%이었으며 수용액분획의 경우 41% 저해하는 것으로 나타났다.

Table 2. The effects of chloroform fractions of *Alpinia katsumadai* semen on serum phospholipids and neutral lipids in rats fed high cholesterol diet

Group	Dose (mg/kg)	Phospholipids	Neutral lipids
		(mg/dl)	
Normal		103.3 ± 4.79 ^{a,1),2)}	75.4 ± 5.07 ^a
Positive control		107.6 ± 5.13 ^a	111.5 ± 4.65 ^d
Chloroform fr.	50	108.2 ± 6.66 ^a	98.6 ± 4.31 ^c
	100	107.8 ± 4.48 ^a	82.6 ± 3.98 ^b
	150	106.4 ± 5.51 ^a	81.9 ± 4.09 ^b

¹⁾The values above show mean ± standard deviation(n = 8).
²⁾Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's multiple range test.

혈청의 인지질, 중성지질 및 총 cholesterol 함량의 측정

초두구 에탄올추출물의 용매분획 중 cholesterol esterase활성을 가장 강하게 저해한 클로로포름분획을 동물실험에 사용하였다. 초두구의 클로로포름분획이 고콜레스테롤식을 섭취한 실험동물에서 혈중 지질의 함량에 미치는 영향을 실험하기 위하여 시료를 섭취시킨 후 혈청중의 인지질, 중성지질 및 콜레스테롤 함량을 측정된 결과는 Table 2 및 3과 같다. 혈중 인지질의 함량은 초두구 클로로포름분획 처리군에서 별다른 영향이 없었으나, 중성지질의 경우, 정상군에서는 75.4 ± 5.07 mg/dl이었으며 고콜레스테롤식을 섭취한 실험군에서는 111.5 ± 4.65 mg/dl로 많은 증가를 보였으나 초두구 클로로포름분획 처리군에서는 투여량이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다. 고콜레스테롤식을 섭취한 실험군에서는 총 콜레스테롤의 함량이 정상군에 비해 약 58.5% 증가하였으나 초두구 클로로포름분획을 100 mg/kg, 150 mg/kg 투여시 고지혈증 유도군에 비하여 각각 11.8%, 20.8%정도 감소하였다. LDL-cholesterol+VLDL-cholesterol의 함량도 식이성 고지혈증 유도시 약 65.2% 증가했으나 초두구 클로로포름분

획을 100 mg/kg, 150 mg/kg 투여시에 고지혈증 유도군 대비 각각 25.8% 및 30.9%가 감소하였으며 혈중 HDL-cholesterol의 함량도 34.8 ± 2.50 mg/dl로 정상군 수준으로 회복되었으며 동맥경화지수도 고지혈증 유도군에 비하여 약 2.7배 증가되던 것이 초두구 클로로포름분획을 처리함으로써 현저하게 감소되었다.

식이와 함께 섭취시킨 초두구 클로로포름분획이 혈중 콜레스테롤 함량을 저하시켰으므로 그 원인을 규명하기 위한 실험으로 콜레스테롤 생합성계의 율속효소인 HMG-CoA reductase 활성을 측정하였을 때 고콜레스테롤식을 섭취한 실험군의 HMG-CoA reductase 활성이 정상군에 비해 약 24.2% 정도 감소되었으나 초두구 클로로포름분획을 100 mg/kg, 150 mg/kg처리한 군에서는 오히려 정상군에 가깝게 효소활성이 증가한 것으로 나타났다(data not shown). 이와 같은 결과는 초두구 클로로포름분획에 의한 혈중 콜레스테롤의 저하가 콜레스테롤 생합성의 율속효소인 HMG-CoA reductase의 활성저해에 의한 것은 아니라고 추정할 수 있다. 또한 *in vitro*에서 CEase 저해 활성을 가진 초두구의 클로로포름분획이 고 콜레스테롤 식이를 섭취시킨 쥐의 혈중 지질 및 총 cholesterol 함량을 감소시켰으므로 이러한 결과들로부터 우리는 소장에서의 체장 CEase 활성저해, 콜레스테롤의 re-esterification의 저해 또는 ACAT의 활성 저해 등에 의한 콜레스테롤 흡수 저하가 원인이 될 수 있다는 가정을 할 수 있으므로 앞으로 이러한 효소들의 활성저해실험이 요구된다.

현재 사용되고 있는 고 콜레스테롤혈증의 억제제 또는 치료제로는 compactin⁽²²⁾, atorvastatin⁽²³⁾ 및 pravastatin⁽²⁴⁾ 등 콜레스테롤 생합성 저해제들이 환자들에서 사용되고 있으며⁽²⁵⁾ 콜레스테롤 흡수저해제로는 현재 cholestylamine이 사용되고 있으나 위장장애를 일으킨다는 보고와 함께 위장장애를 감소시킬 수 있는 약물을 함께 섭취시키기도 한다⁽²⁶⁾. Krause 등⁽²⁷⁾에 의하면 cholesterol esterase 저해제로 개발된 phenoxypheyl

Table 3 The effects of chloroform fractions of *Alpinia katsumadai* semen on the cholesterol level and atherogenic index in rats fed high cholesterol diet

Group	Dose(mg/kg)	Cholesterol(mg/dl)			Atherogenic Index ³⁾
		Total	HDL	LDL+VLDL	
Normal		69.8 ± 2.11 ^{a,1),2)}	35.4 ± 2.09 ^a	41.7 ± 3.46 ^a	0.98 ± 0.06 ^a
Positive control		110.6 ± 3.40 ^d	30.1 ± 2.53 ^b	68.9 ± 13.5 ^c	2.69 ± 0.20 ^d
Chloroform fr.	50	109.2 ± 3.68 ^d	29.7 ± 1.62 ^b	67.2 ± 3.45 ^c	2.69 ± 0.18 ^d
	100	97.5 ± 2.12 ^c	33.9 ± 2.03 ^a	51.1 ± 2.59 ^b	1.84 ± 0.06 ^c
	150	87.6 ± 2.57 ^b	34.8 ± 2.50 ^a	47.6 ± 2.11 ^b	1.53 ± 0.11 ^b

¹⁾The values above show mean ± standard deviation(n = 8).
²⁾Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other(p<0.05) by Duncan's multiple range test.
³⁾Atherogenic Index = (Total cholesterol-HDL cholesterol)/HDL cholesterol

Table 4. Toxicity test(LD₅₀) of chloroform extract of *Alpiniae katsumadaii* semen

Dose(mg/kg)	Dead ¹⁾ /Treated
1,000	0/30
1,250	6/30
1,500	12/30
1,750	18/30
2,000	24/30
2,250	30/30

¹⁾The number of dead mice for 24 h after intraperitoneally injection of *Alpiniae katsumadaii* semen chloroform extract.

carbamate인 WAY-121,898를 0.04% 식이성 콜레스테롤을 섭취시킨 rat에게 섭취시켰을 때 혈중 콜레스테롤이 10% 감소하였으며 ACAT 저해제인 CI-976을 0.025% 함께 섭취시킨 경우 45%의 감소를 보여 cholesterol esterase 저해제 및 ACAT 저해제를 혼합하여 섭취시키면 혈중 콜레스테롤의 저해효능이 우수하여진다고 하였다.

독성검사

초두구 클로로포름추출물의 독성시험을 행한 결과는 Table 4와 같으며 250 mg/kg에서 1,000 mg/kg까지 투여하였을 때 mouse 30마리 모두 이상이 없었으며 1,250 mg/kg 투여군에서는 20%가, 1,750 mg/kg 투여군에서는 60%가, 그리고 2,250 mg/g 투여군에서는 30마리 모두 죽었으므로 LD₅₀은 1,625 mg/kg인 것으로 산출되었다. 독성이 없는 수준인 150 mg/kg의 초두구 클로로포름분획이 고 콜레스테롤혈증을 유발시킨 쥐의 혈중 콜레스테롤 및 중성지방의 함량을 감소시켰으므로 초두구의 추출물은 고지혈증 또는 동맥경화증의 억제에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

체장에서 분비되는 cholesterol esterase(CEase)와 소장의 acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase (ACAT)는 흡수된 콜레스테롤을 다시 ester화하는데 관여한다. 한방재료 중 진위, 진토 및 수렴지사작용 등을 가지는 초두구(*Alpiniae Katusumadaii* semen)의 에탄올 추출물이 *in vitro*에서 cholesterol esterase활성에 대하여 강한 저해작용을 보였으며 에탄올추출물의 용매분획 중 클로로포름분획이 다른 분획들, 즉 에틸 아세테이트분획, 부탄올분획 및 물 분획보다 강하였다. 초두구의 클로로포름분획이 고 콜레스테롤식을 섭취시킨 rat에서 혈중 콜레스테롤치를 저하시키는 효과가

있는지 측정된 실험에서 chloroform분획을 100 mg/kg 및 150 mg/kg 섭취시켰을 경우 각각 총cholesterol 함량이 11.8% 및 20.8% 감소하였으며 HDL-cholesterol 함량 및 동맥경화지수는 정상군에 가깝게 회복된 것으로 나타났다. 또한 초두구 chloroform분획의 독성검사 결과 mouse에서 LD₅₀은 1,625 mg/kg으로 산출되었다.

문 헌

- Keys, A. Coronary heart disease in seven countries, *Circulation* 41(suppl 1): 1-19 (1970)
- Grover S.A., Coupal, L. and Hu, X.P. Identifying adults at increased risk of coronary disease. *J. Amer. Med. Assoc.* 274: 801-806 (1995)
- Connelly, P.W., MacLean D.R., Horlich, L., O'connor, B., Petrasovits, A. and Littel, J.A. Plasma lipids and lipoproteins and the prevalence of risk for coronary heart disease in Canadian adults. *CMAJ.* 146: 1977-1987 (1992)
- Anonymous. Report of the national cholesterol education program expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. *Arch. Intern. Med.* 148: 36-39 (1988)
- Frick, M.H., Elo, O., Haapa K., Heinonen, O.P., Heinsalmi, P., Helo, P., Huttunen, J.K., Kaitaniemi, P., Koskinen, P. and Manninen, V. Helsinki Heart Study: Primary-prevention trial with gerfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia. Safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *N. Engl. J. Med.* 317: 1237-1245 (1987)
- Shamir, R., Johnson, W.J., Zolfaghari R., Lee, H.S. and Fisher, E.A. Role of bile salt-dependent cholesterol ester hydrolase in the uptake of micellar cholesterol by intestinal cells. *Biochemistry* 34: 6351-6358 (1995)
- Huang, Y. and Hui, D.Y. Metabolic fate of pancreas-derived cholesterol esterase in intestine: an *in vitro* study using Caco-2 cells. *J. Lipid Res.* 31: 2029-2037 (1990)
- Gallo, L.L., Newbill, T., Hyun, J., Vahouny, G.V. and Treadwell, C.R. Role of pancreatic cholesterol esterase in the uptake and esterification of cholesterol by isolated intestinal cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 156: 277-281 (1977)
- Gallo, L.L., Wadsworth, J.A. and Vahouny, G.V. Normal cholesterol absorption in rats deficient in intestinal acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase activity. *J. Lipid Res.* 28: 381-387 (1987)
- Krause, B.R., Anderson, M., Bisgaier, E.L., Bocan, T., Bousley, R., DeHeat, P., Essenburg, A., Hamelehle, K., Homan, R., Kieft, K., McNally, W., Stanfield, R. and Newton, 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 Res.* 34: 279-294 (1993)
- Ogawa, K., Terada, T., Muranaka, Y., Hamakawa, T.,

- Ohta, S., Okamoto, M. and Fujii, S. Studies on hypo-lipidemic agents. IV. Syntheses and biological activities of trans- and cis-2-(4-alkylcyclohexyl)-2-oxoethyl arenesulfonates. *Chem. Pharm. Bull.* 35: 3276-3283 (1987)
12. Harris, W.S., Dujovne, C.A., Windsor, S.L., Gerrond, L.L., Newton, F.A. and Gelfand, R.A. Inhibiting cholesterol absorption with CP-88,818 : Studies in norman and hyperlipidemic subjects. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 30: 55-60 (1997)
13. Chi, H.J. and Lee, S.I. *Alpiniae katsumadaii* Semen, In Korean Herbal Pharmacopoeia, Korean Medical Index Co., Seoul, Korea, p. 373 (1989)
14. Lee, T.G., Lee, Y.H., Kim, J.H., Kim, H.S., Suh, P.G. and Ryu, S.H. Immunological identification of cholesterol ester hydrolase in the steroidogenic tissues, adrenal glands and testis. *Biochim. Biophys. Acta* 1346: 103-108 (1997)
15. Richmond, W. Use of cholesterol oxidase for assay of total and free cholesterol in serum by continuous flow analysis. *Clin. Chem.* 22: 1579-1588 (1976)
16. Goodwin, J.F. Quantification of serum inorganic phosphorous, phosphatase, and urinary phosphate without preliminary treatment. *Clin. Chem.* 66: 776-780 (1970)
17. McGowan, M.W., Artiss, J.D. and Strandbergh, D.R. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin. Chem.* 29: 538-542 (1983)
18. Noma, A., Nakayama, K.N., Kota, M. and Okabe, H. Simultaneous determination of serum cholesterol in high and low density lipoprotein with use of heparin, Ca²⁺ and an anion exchange resin. *Clin. Chem.* 24: 1504-1580 (1978)
19. Friedwald, W.T., Levy, R.I. and Fredrickson, D.S. Estimation of concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18: 499-502 (1972)
20. Endo, A. Compactin(ML-236B) and related compounds as potential cholesterol-lowering agents that inhibit HMG-CoA reductase. *J. Med. Chem.* 28: 401-405 (1985)
21. Stern, R.H. and Abel, R.B. Rate of low-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein B changes on initiation and discontinuation of atorvastatin treatment. *J. Clin. Pharmacol.* 37: 291-296 (1997)
22. Sigurbjornsson, S., Kjartansdottir, T., Johannsson, M., Kristinnsson, J. and Sigurdsson, G. A pharmacokinetic evaluation of pravastatin in middle-aged and elderly volunteers. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 23: 13-18 (1998)
23. Kajinami, K., Yagi, K., Higashikata, T., Inazu, A., Kozumi, J. and Mabuchi, H. Low-density lipoprotein receptor genotype-dependent response to cholesterol lowering by combined pravastatin and cholestyramine in familial hypercholesterolemia. *Am. J. Cardiol.* 82: 113-117 (1998)
24. Maciejko, J.J., Brazg, R., Shah, A., Patil, S. and Rubenfire, M. Psyllium for the reduction of cholestyramine-associated gastrointestinal symptoms in the treatment of primary hypercholesterolemia. *Arch. Fam. Med.* 2: 955-960 (1994)
25. Krause, B.R., Sliskovic, D.R., Anderson, M. and Homan, R. Lipid-lowering effects of WAY-121,898, an inhibitor of pancreatic cholesteryl ester hydrolase. *Lipids* 33: 489-498 (1998)

(1999년 6월 21일 접수)