Korean Journal of Life Science
Vol. 12. No. 1. 106~112, 2002

췌장 콜레스테롤 에스터레이즈 저해제로서의 계피 추출물이 혈중 콜레스테롤 농도에 미치는 영향

김희숙* · 최종원[1] · 허영미[2] · 류성호[2] · 서판길[2]

경성대학교 식품공학과, [1]경성대학교 약학대학, [2]포항공과대학교 생명과학과

Plasma Cholesterol-Lowering Effects of *Cinnamomi cortex* Extract as an Inhibitor of Pancreatic Cholesterol Esterase

Hee Sook Kim*, Jong Won Choi[1], Young Mi Huh[2], Sung Ho Ryu[2] and Pann-Ghill Suh[2]

Department of Food Science and Technology, Kyungsung University,
[1]College of Pharmacy, Kyungsung University, Pusan 608-736, Korea
[2]Department of Life Science, POSTECH, Pohang 790-784, Korea

Abstract

Ethanol extract of *Cinnamomi cortex* 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 *Cinnamomi cortex* was studied as a candidator of plasma cholesterol-lowering material using high cholesterol-fed rats. In high cholesterol-fed rats, the diet with chloroform fraction of 150 mg/kg lowered not only plasma neutral lipids contents 25.1% but also plasma total cholesterol level 49.6% than only high cholesterol diet. Plasma HDL-cholesterol level in *Cinnamomi cortex* chloroform fraction-fed rats was recovered as those level of normal rats. LD_{50} of *Cinnamomi* chloroform extract was calculated as 1,300 mg/kg.

Key words – *Cinnamomi cortex*, pancreatic cholesterol esterase, pCEase, acyl CoA: cholesterol acyltransferase, Atherogenic Index

서 론

콜레스테롤은 세포를 구성하는 필수성분으로 세포의 성장, 분화 및 발육에 중요한 역할을 담당하고 있으나 식이 콜레스테롤의 과다섭취 및 혈청 콜레스테롤 농도 증가 등이 동맥경화, 협심증 등의 심각한 심혈관질환에 직접적으로 영향을 미친다고 알려져 왔다[12,21]. 콜레스테롤 흡수과정에 대한 지금까지의 연구결과에 의하면 섭취된 콜레스테롤 성분중 콜레스테릴 에스테르는 췌장에서 장내로 분배되는 효소중의 하나인 췌장 콜레스테릴 에스터레이즈(pCEase 또는 pCEH, pancrease 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[19]. pCEase는 담즙산-의존성 효소로서 식이성 cholesteryl ester 및 다른 acyl 화된 지질들이 가수분해되는 장소인 소장으로 분비된다.

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : +82-51-620-4713, Fax : +82-51-622-4986
E-mail : hskim@star.kyungsung.ac.kr

그러나 많은 연구결과들은 pCEase의 역할이 간단히 식이성 지질을 가수분해하는 것을 넘어서 소장의 흡수융모로 pCEase가 흡수된 후 흡수된 유리콜레스테롤과 지방산이 다시 에스테르화(reesterification)하는데도 관여하며, 가수분해된 유리콜레스테롤이 소장벽으로 흡수된 후에는 대부분의 유리콜레스테롤은 다시 지방산과 에스테르를 형성하게 되는데 이 과정에서 콜레스테롤의 에스테르화는 pCEase와 acyl-CoA : Cholesterol acyltransferase(ACAT)가 관여하게 된다[10]. Gallo 등[4]은 췌장의 소화액으로부터 pCEase를 제거하고 ACAT를 정상으로 유지시키면 혈류로의 콜레스테롤 흡수가 거의 80% 저해된다고 하였으며, 이는 ACAT만으로는 외재성 콜레스테롤의 흡수를 유지하지 못하며 pCEase가 가장 필수적인 역할을 한다고 주장하였다. 최근 개발된 WAY-121,751과 WAY-121,898은 pCEase를 효과적으로 저해하여 콜레스테롤을 급여한 동물들의 고 콜레스테롤혈증 유발을 억제하고 간의 콜레스테롤 에스터레이즈(hCEase)까지도 저해한다고 하였으며[16] 전 등[6]은 빈랑자의 에탄올 추출물 및 용매분획들은 *in vitro*에서 콜레스테롤 에스터레이즈 활성을 저해하였을 뿐 아니라 고콜레스테롤식이와 함께 흰쥐에게 섭취시켰을 때 소장에서의 콜레스테롤 흡수를 저해하였고 혈중 콜레스테롤 농도를 감소시켰다고 보고하였다. 이와 같이 pCEase의 약리학적 저해는 cholesterol 흡수의 저해를 가져오고 그로 인한 plasma cholesterol 농도의 감소를 초래하므로 콜레스테롤의 섭취가 증가하는 현대인에게 있어서 콜레스테롤 에스터레이즈 활성을 저해하는 약물 또는 기능성 식품의 개발은 고콜레스테롤혈증을 예방하는데 크게 기여하리라 사료된다.

본 실험에서는 166종의 한방재료를 에탄올로 추출하여 pCEase 활성 저해제를 screening하던 중 이미 보고한 빈랑자[6], 마황[1], 초두구[9] 등과 함께 계수나무과(*Cinnamomum cassia* Blume) 또는 그 밖의 동속식물(녹나무과 *Lauraceae*)의 수피인 계피(*Cinnamomi cortex*)의 추출물에 췌장 cholesterol esterase를 저해하는 물질이 존재함을 발견하였다. 따라서 계피의 용매추출물들이 생체내에서 고지혈증 또는 동맥경화증의 억제에 기여할 수 있는지 검토하기 위하여 식이성 고콜레스테롤 혈증을 유발한 흰쥐에서 계피의 추출물 섭취시 혈중 cholesterol 함량, 인지질함량, 중성지질함량 및 HMG-CoA reductase활성을 측정하였으며 *in vitro*에서의 pCEase 활성저해를 측정하였다.

재료 및 방법

재료

중국산 계피(*Cinnamomi cortex*)를 부산에 소재하는 자유시장내 한약재료상에서 구입하여 공시재료로 하였다.

소 췌장으로부터 pCEase의 정제

신선한 소 췌장으로부터 pCEase의 정제는 Lee의 방법[13]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×*g*에서 원심분리한 후 아세트산으로 pH를 5로 조절하고 침전물을 제거한 후 상층액에 $(NH_4)_2SO_4$를 가하여 60%포화되게 하였다. 침전된 단백질을 완충용액(20 mM HEPES/NaOH, pH 7.0, 3M KCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA 및 0.1 mM DTT)에 녹인 다음 TSKgel phenyl-5PW 컬럼 (21.5×150 mm, Toso, Japan) 및 TSKgel heparin-5PW 컬럼(7.5×75 mm, Toso, Japan)으로 정제하여 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 단백질 band를 확인하고 농축한 다음 아래의 효소활성실험에 사용하였다.

효소활성 및 저해제 활성 측정법

pCEase 효소활성 및 저해효과의 측정은 조 등[1]의 방법에 따랐다. 즉, 100 μl 반응혼합물은 방사선동위원소로 표식된 cholesteryl [^{14}C-1] oleate 20,000 cpm, 10 μM cholesteryl oleate, 10 μM phosphadidyl choline, 100 mM sodium cholate, 50 mM Tris/HCl, pH 8.0과 200 ng의 효소를 함유하였다. 저해효과를 실험하는 경우 반응시험관에 미리 저해제를 넣어 질소가스로 건조시키고 완충용액을 넣어 초음파 파쇄기로 균질화시켜 반응시켰다. 37℃에서 10분동안 반응시킨 후 1.625 ml의 methanol/chloroform/heptane (1.41 : 1.25 : 1.00) 혼합액과 0.525 ml의 50 mM sodium carbonate/50 mM sodium borate용액(pH 10.0)으로 반응을 멈추고 실온에서 원심분리한 다음 수용액층 0.75 ml가 포함하는 [^{14}C-1] oleate의 방사능양을 베타선방사능측정장치(TRI-CARB 2100TR, Pachard Instrument, Netherland)로 측정하였다.

계피로부터 저해제 추출

계피로부터 pCEase활성을 저해하는 물질을 분획하기

위하여 잘게 부순 계피 1 kg을 500 g씩 2 L의 환저 플라스크에 넣고 95% 에탄올 1,000 ml를 가하여 환류냉각장치를 설치한 후 플라스크내의 용액을 끓이면서 2시간 동안 환류냉각시키고 여액을 거른 다음 잔사를 다시 에탄올로 2회 반복하여 가열추출하고 여액을 합하여 회전 증발기로 감압 농축하였다. 감압 농축된 에탄올 추출물을 10% 메탄올로 현탁하고 클로로포름, 에틸아세테이트 및 n-부탄올로 단계별 추출하고 농축하여 클로로포름분획, 에틸아세테이트분획, 부탄올분회 및 물분획을 얻었으며 각 용매분획들이 pCEase 활성에 미치는 저해효과를 측정하였다.

동물실험을 이용한 pCEase의 저해활성 측정

실험동물로는 대한실험동물센터(충북 음성군 소재)로부터 분양받은 Sprague-Dawley계 rat(체중 210 g 내외)를 일정한 조건(온도 : 24±2℃, 습도 : 55~56%, 명암 : 12 시간 dark/light cycle)에서 적응시킨 후 본 실험에 사용하였다. 또한 고지혈증 유발은 1%의 cholesterol과 0.5% sodium cholate를 함유한 사료(Table 1)로 4주간 사육한 후 마지막 주 1주일간 계피 클로로포름분획을 50 mg/kg, 100 mg/kg 및 150 mg/kg을 needle zone을 사용하여 구강으로 투여하였다. 투여실험이 끝난 rat는 CO_2로 마취시킨 후 복부대동맥으로부터 혈액을 채취한 뒤 원심분리하여 혈청을 얻었다. 또한 간장은 생리식염수로 관류하여 혈액을 제거한 간을 적출하여 조직 1 g당 4 배량의 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5)를 가하여 균질액을 만들고 10,000×g에서 20분 원심분리하였다. 상등액을 105,000×g에서 1시간동안 초원심분리하여 cytosolic fraction과 microsomal fraction으로 나누어 HMG-CoA reductase 활성 측정에 사용하였다. 또한 계피 클로로포름분획의 독성검사를 위하여 30마리의 mouse들 각각에 kg 당 250~2,250 mg의 클로로포름분획을 복강으로 투여한 후 24시간 내에 죽은 개체수를 세어 LD_{50}을 계산하였다.

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 bitartarate	0.2
DL-methionine	0.3
Cholesterol	1.0
Na-cholate	0.25

혈청중 지질함량의 측정

혈청중의 총 cholesterol 함량의 측정은 Richmond 등의 효소법[18]에 의하여 조제된 kit (AM 202-K, Asan)를, 인지질 함량은 Goodwin의 방법[5]에 준하여 조제된 kit (Iatron Chem. Co.)를 사용하여 측정하였고 중성지질의 함량은 McGowan 등의 방법[15]에 준하여 조제된 kit (AM 157S-K, Asan)를 사용하여 측정하였다. 모든 지질의 함량은 검량선에 준하여 mg/dl로 표시하였다.

혈청중 HDL-C, LDL-C 및 VLDL-C 함량의 측정

혈청중 HDL-C (high density lipoprotein-cholesterol)의 함량은 Noma 등의 효소법 [17]에 의하여 조제된 kit (AM 203-K, Asan)를 사용하여 측정하였고 LDL-C (low density lipoprotein-cholesterol)의 함량과 VLDL-C (very low density lipoprotein-cholesterol)의 함량은 Fridewald 등의 방법[3]에 따라 다음의 식에 의하여 산출하였다.

LDL-C=[총cholesterol 양 - (HDL-C + neutral lipid 양/5)]
VLDL-C=[총cholesterol 양 - (HDL-C + LDL-C)]

3-Hydroxy-3-methylglutaryl(HMG) CoA reductase 활성의 측정

HMG-CoA reductase 활성의 측정은 Kleinsek 등의 방법[18]에 준하였다. 즉, 300 mM KCl, 6 mM EDTA 및 15 mM dithiothretol을 함유한 240 mM potassium phosphate buffer에 2 mM NADPH 100 μl, 1 mM HMG-CoA 100 μl 및 100 μl 효소액을 첨가하여 37℃, 240 nm에서 흡광도의 변화를 읽고 분자흡광계수 6.22 mM/cm/L를 이용하여 활성도를 산정하였다. 효소활성의 단위는 1분당 1 mg protein이 분해하는 NADPH의 양을 pmol로 표시하였다.

통계처리

실험동물은 한 group당 8마리씩으로 하였고, 본 실험에서 얻어진 결과는 평균치 ± 표준편차로 표시하였으며 통

계적 유의성 검증은 Duncan's multiple range test를 이용하였다.

결과 및 고찰

계피의 용매추출 및 저해활성

계피 1 kg을 에탄올로 추출하고 극성이 다른 용매로 분획하였을 때, 클로로포름분획 28.5 g (회수율 2.85%), 에틸아세테이트분획 0.48 g (회수율 0.05%), 부탄올분획 0.7 g (회수율 0.07%) 및 물분획 1.4 g (회수율 0.14%)을 얻었으며 각각 용매분획이 가지는 pCEase에 대한 저해활성은 Fig. 1 과 같았다. 각 분획 10 μg이 200 ng의 pCEase의 활성을 저해한 정도는 클로로포름 분획은 78%, 에틸아세테이트 분획은 27%, 부탄올 분획은 29%이었으며 물분획의 경우 거의 저해하지 않는 것으로 나타났다. 김 등[9]은 초두구의 클로로포름 분획 및 에틸아세테이트 분획이 같은 농도의 pCEase활성을 각각 91% 및 80% 저해한다고 하였으며 전 등[20]은 빈랑자의 경우 n-부탄올 분획 및 물 분획이 pCEase활성을 가장 강하게 저해하였다고 하였다. 또한 마황의 경우 에틸아세테이트 분획 및 부탄올 분획에 함유되어 있던 ephedrine이 pCEase 활성을 저해한다고 하였으므로[1] 초두구 및 계피에 함유된 저해제는 빈랑자 또는 마황의 것과는 화학구조가 다를 것으로 추정할 수 있다.

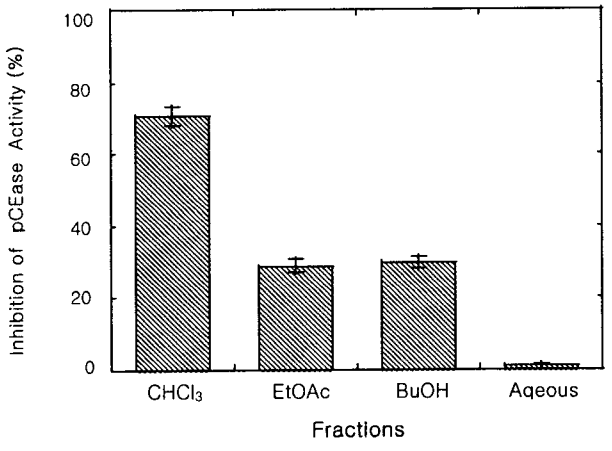

Fig. 1. The inhibitory effects of *Cinnamomi cortex* extract on cholesterol esterase activity.
10 μg of each extract was used in an assay.

혈청의 인지질, 중성지질 및 콜레스테롤 함량의 측정

계피 에탄올추출물의 용매분획 중 cholesterol esterase 활성을 가장 강하게 저해한 클로로포름분획을 동물실험에 사용하였다. 계피의 클로로포름분획이 고콜레스테롤식이를 섭취한 실험동물에서 혈중 지질의 함량에 미치는 영향을 실험하기 위하여 시료를 섭취시킨 후 혈청중의 인지질, 중성지질 및 콜레스테롤 함량을 측정한 결과는 Table 2 및 3과 같았다. 혈중 인지질의 함량은 계피 클로로포름분획 처리군에서 별다른 영향이 없었고, 중성지질의 경우, 정상군에서는 75.4±5.07 mg/dl이었으며 고콜레스테롤식이를 섭취한 실험군에서는 111.5±4.65 mg/dl로 많은 증가를 보였으나 계피 클로로포름분획 처리군에서는 투여량이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다. 고콜레스테롤식이를 섭취한 실험군에서는 총 콜레스테롤의 함량이 정상군에 비해 약 58.5% 증가하였고 계피 클로로포름분획을 150 mg/kg 투여시 고지혈증 유도군에 비하여 25.1%정도 감소하였으나 50 mg/kg 및 100 mg/kg 투여는 총 콜레스테롤 함량에 거의 영향을 주지 않았다. LDL-cholesterol + VLDL-cholesterol의 함량도 식이성 고지혈증 유도시 약 65.2% 증가하였으나 계피 클로로포름분획을 100 mg/kg, 150 mg/kg 투여시에 정상군 수준까지는 낮아지지 않았으나 고지혈증 유도군 대비 각각 34.3% 및 49.6%가 감소하였다. 또한 혈중 HDL-cholesterol의 함량도 33.4±1.82 mg/dl로 정상군 수준으로 회복되었으며 동맥경화지수도 고지혈증 유도로 정상군에 비하여 약 2.7배 증가되던 것이 계피 클로로포름분획을 처리함으로써 현저하게 감소되었다.

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

Group	Dose (mg/kg)	Phospholipids (mg/dℓ)	Neutral lipids (mg/dℓ)
Normal		103.3±4.79[a,1),2)]	75.4±5.07[a]
Control		107.6±5.13[a]	111.5±4.65[c]
Cinnamomi cortex	50	106.5±5.89[a]	109.4±3.97[c]
	100	105.7±4.24[a]	91.7±3.42[b]
	150	105.2±5.28[a]	90.5±2.92[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.

Table 3. The effects of chloroform fractions of *Cinnamomi cortex* on the cholesterol level and atherogenic index in rats fed high cholesterol diet

Group	Dose (mg/kg)	Cholesterol (mg/dℓ)			Atherogenic Index
		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,3)]
Control		110.6±3.40[c]	30.1±2.53[b]	68.9±13.5[d]	2.69±0.20[d]
	50	108.7±2.69[c]	29.4±2.43[b]	68.2±2.66[d]	2.72±0.22[d]
Cinnamomi	100	108.6±2.40[c]	29.9±2.16[b]	54.6±2.40[c]	2.32±0.20[c]
cortex	150	93.1±3.58[b]	33.4±1.82[a]	48.2±2.54[b]	1.73±0.07[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

식이와 함께 섭취시킨 계피 클로로포름분획이 혈중 콜레스테롤 함량을 저하시켰으므로 그 원인을 규명하기 위한 실험으로 콜레스테롤 생합성계의 율속효소인 HMG-CoA reductase 활성을 측정한 결과는 Table 4와 같았다. 고콜레스테롤식이를 섭취한 실험군의 HMG-CoA reductase활성이 정상군에 비하여 약 24.2% 정도 감소된 것으로 나타났다. 계피 클로로포름분획을 50 mg/kg, 100 mg/kg 및 150 mg/kg 처리한 군에서도 정상군에 비하여 유의적인 감소를 보이기는 하였지만 계피 클로로포름분획의 투여량을 증가시킬수록 HMG-CoA reductase 활성이 증가하는 것은 초두구의 경우와 비슷하였다. 이와 같은 결과는 계피 클로로포름분획에 의한 혈중 콜레스테롤의 저하가 콜레스테롤 생합성의 율속효소인 HMG-CoA reductase의 활성저해에 의한 것은 아니라고 추정할 수 있다. 또한 *in vitro*에서 pCEase 저해 활성을 가진 계피의 클로로포름분획이 고콜레스테롤식이를 섭취시킨 rat의 혈중 지질 및 총 cholesterol 함량을 감소시켰으므로 이러한 결과들로부터 우리는 소장에서의 pCEase 활성저해, 콜레스테롤의 re-esterification의 저해 또는 ACAT의 활성 저해 등에 의한 콜레스테롤 흡수 저하가 혈중 콜레스테롤 농도 저하의 원인이 될 수 있다는 가정을 할 수 있었다.

현재 사용되고 있는 고콜레스테롤혈증의 억제제 또는 치료제로는 compactin[2], lovastatin[14] 및 pravastatin[20] 등 콜레스테롤 생합성 저해제들이 환자들에게 사용되고 있으며, 콜레스테롤 흡수저해제로는 현재 cholestylamine이 사용되고 있으나 위장장애를 일으킨다는 보고와 함께 위장장애를 감소시킬 수 있는 약물을 함께 섭취시키기도 한다[7]. Krause 등[11]에 의하면 cholesterol esterase 저해제로 개발된 phenoxyphenyl carbamate인 WAY-121,898를 0.04% 식이성 콜레스테롤을 섭취시킨 rat에게 섭취시켰을

Table 4. The effects of chloroform fractions of *Cinnamomi cortex* on hepatic HMG-CoA reductase in rats fed high cholesterol diet

Group	Dose (mg/kg)	3-Hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase (Oxidized NADPH pmole/mg protein/min)
Normal		256.5±14.9[a,1),2)]
Control		194.5±14.2[c]
	50	195.6±15.2[c]
Cinnamomi	100	210.3±13.6[b,c]
cortex	150	221.3±12.9[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.

Table 5. Toxicity test (LD_{50}) of chloroform extract of *Cinnamomi cortex*

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

*The number of dead mice for 24 hr after intraperitoneally injection of *Cinnamomi cortex* chloroform extract.

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

계피 클로로포름추출물의 독성시험을 행한 결과는 Table 5와 같으며 250 mg/kg에서는 mouse 30마리 모두 이상이 없었으나 500 mg/kg에서 6마리가 죽었으며 1,000 mg/kg과 1,500 mg/kg 투여하였을 때는 각각 12마리 및 18마리가 죽었고 1,750 mg/kg 투여군에서는 30마리 모두 죽었으므로 LD_{50}은 1,300 mg/kg인 것으로 산출되었다. 독성이 없는 수준인 150 mg/kg의 계피 클로로포름분획이 고콜레스테롤혈증을 유발시킨 쥐의 혈중 콜레스테롤 및 중성지질의 함량을 감소시켰으므로 계피의 추출물은 고지혈증 또는 동맥경화증의 억제에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

췌장에서 분비되는 콜레스테롤 에스터레이즈(pCEase)와 소장의 acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase (ACAT)는 흡수된 콜레스테롤을 다시 ester화하는데 관여한다. 한방재료 중 순환촉진작용 및 건위작용 등을 가지는 계피(*Cinnamomi cortex*)의 에탄올 추출물이 *in vitro*에서 pCEase 활성에 대하여 강한 저해작용을 보였으며 에탄올 추출물의 용매분획 중 클로로포름분획이 다른 분획들, 즉 에틸 아세테이트분획, 부탄올분획 및 물 분획보다 저해활성이 강하였다. 계피의 클로로포름분획이 고콜레스테롤식이를 섭취시킨 rat에서 혈중 콜레스테롤치를 저하시키는 효과가 있는지 측정한 실험에서 클로로포름분획을 150 mg/kg 섭취시켰을 경우 고콜레스테롤식이만은 투여한 대조군에 비하여 총cholesterol 함량이 25.1% 감소하였으며, HDL-cholesterol 함량도 33.4±1.82 g/dl로 정상군 수준으로 회복되었고 동맥경화지수 역시 현저하게 감소된 것으로 나타났다. 콜레스테롤 생합성에 관여하는 효소인 HMG-CoA reductase 활성을 측정한 결과, 고콜레스테롤식이에 의해 감소되었던 활성이 계피 클로로포름분획의 투여량을 증가시킬수록 증가하였으나 150 mg/kg 투여군에서도 정상군에 비하여 유의적인 감소를 보였다. 또한 계피 클로로포름분획의 독성검사 결과, mouse에서 LD_{50}은 1,300 mg/kg으로 산출되었다.

참 고 문 헌

1. Cho, E.-J., B.-H. Ryu, B.-K. Song, T. G. Lee, P.-G. Suh, S.-H. Ryu and H.-S. Kim. 1999. Purification and characterization of the inhibitory principle against pancreatic cholesterol esterase from *Ephedra herba*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 816-821.
2. Endo, A. 1985. Compactin (ML-236B) and related compounds as potential cholesterol-lowering agents that inhibit HMG-CoA reductase. *J. Med. Chem.* **28**, 401-405.
3. Friedwald, W. T., R. I. Levy and D. S. Fredrickson. 1972. Estimation of concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* **18**, 499-502.
4. Gallo, L. L., J. A. Wadsworth and G. V. Vahouny. 1987. Normal cholesterol absorption in rats deficient in intestinal acyl coenzyme A: cholesterol acyltransferase activity. *J. Lipid Res.* **28**, 381-387.
5. Goodwin, J. F. 1970. Quantification of serum inorganic phosphorous, phosphatase, and urinary phosphate without preliminary treatment. *Clin. Chem.* **66**, 776-780.
6. Jeon, S.-M., H.-S. Kim, T. G. Lee, S.-H. Ryu, P.-G. Suh, S.-J. Byun, Y. B. Park and M.-S. Choi. 2000. Lower absorption of cholesteryl oleate in rats sup-

plemented with *Areca catechu L.* estract. *Ann. Nutr. Metab.* **44**, 170-176.
7. Kajinami, K., K. Yagi, T. Higashikata, A. Inazu, J. Koizumi and H. Mabuchi. 1998. Low-density lipoprotein recepter genotype-dependent response to cholesterol lowering by combined pravastatin and cholestyramine in familial hypercholesterolemia. *Am. J. Cardiol.* **82**, 113-117.
8. Kiensek, D. A., R. E. Dugan, T. A. Baker and J. W. Porter. 1981. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase from rat liver. *Methods in Enzymol.* **71** (Part C), 462-465.
9. Kim, H. S. J. Y. Kim, J. W. Choi, Y. M. Huh, P.-G. Suh and S. H. Ryu. 2000. Plasma cholesterol-lowering effects of *Alpiniae katsumadaii* extract as an inhibitor of pancreatic cholesterol esterase activity. *Korean J. Food Sci. Technol.* **32**, 200-205.
10. Krause, B. R., M. Anderson, E.L. Bisgaier, T. Bocan, R. Bousley, P. DeHeat, A. Essenburg, K. Hamelehle, R. Homan, K. Kieft, W. McNally, R. Stanfield and R. S. Newton. 1993. *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.
11. Krause, B. R., D. R. Sliskovic, M. Anderson and R. Homan. 1998. Lipid-lowering effects of WAY-121,898, an inhibitor of pancreatic cholesteryl ester hydrolase. *Lipids* **33**, 489-498.
12. Law, M. R. and N. J. Wald. 1994. An ecological study of serum cholesterol and ischaemic heart disease between 1950 and 1990. *Eur. J. Clin. Nutr.* **48**, 305-325.
13. Lee, T. G., Y. H. Lee, J. H. Kim, H. S. Kim, P. G. Suh and S. H. Ryu. 1997. Immunological identification of cholesterol ester hydrolase in the steroidogenic tissues, adrenal glands and testis. *Biochim. Biophys. Acta* **1346**, 103-108.
14. Lovastatin Study groups I through IV. 1993. Lovastatin 5-year safety and efficacy study. *Arch. Intern. Med.* **153**, 1079-1087.
15. McGowan, M. W., J. D. Artiss and D. R. Strandbergh. 1983. A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin. Chem.* **29**, 538-542.
16. Mckean M. L., T. J. Commons, M. S. Berens, P. L. Hsu, D. M. Ackerman, K. E. Steiner and S. J. Adelman. 1992. Effects of inhibitors of pancreatic cholesterol ester hydrolase (PCEH) on ^{14}C-cholesterol absorption in animal models (abstract). *FASEB J.* **6**. A1388.
17. Noma, A., K. N. Nakayama, M. Kota and H. Okabe. 1978. 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.
18. Richmond, W. 1976. Use of cholesterol oxidase for assay of total and free cholesterol in serum by continuous flow analysis. *Clin. Chem.* **22**, 1579-1588.
19. Shamir, R., J. W. Johnson, R. Zolfaghari, H. S. Lee and E. A. Fisher. 1995. Role of bile salt-dependent cholesteryl ester hydrolase in the uptake of micellar cholesterol by intestinal cells. *Biochemistry* **34**, 6351-6358.
20. Sigurbjornsson, S., T. Kjartansdottir, M. Johannsson, J. Kristinsson and G. Sigurdsson. 1998. A pharmacokinetic evaluation of pravastatin in middle-aged and elderly volunteers. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 23, 13-18.
21. Wald, N. J. and M. R. Law. 1995. Serum cholesterol and ischaemic heart disease. *Atherosclerosis* **118 (suppl)**, S1-S5.

(Received January 28, 2002; Accepted February 18, 2002)