

녹차의 squalene synthase 저해효과

최성원¹ · 허남윤¹ · 이한승² · 백무열³ · 안순철⁴ · 이정규*

부산대학교 의과대학 가정의학과, ¹오산대학 호텔조리계열, ²신라대학교 바이오식품소재학과,
³경희대학교 식품공학과, ⁴부산대학교 의과대학 미생물학교실

Received February 13, 2008 / Accepted February 20, 2008

Inhibitory Effects of Green Tea against Squalene Synthase. Choi, Sung-Won¹, Nam-Yoon Hur¹, Han-Seung Lee², Moo-Yeol Baik³, Soon-Cheol Ahn⁴ and Jeong-Gyu Lee*. *Department of Family Medicine, Pusan National University School of Medicine, Busan 602-739, Korea, ¹Department of Food and Culinary Art, Osan College, Osan 447-749, Korea, ²Department of Bio-Food Materials, College of Medical and Life Sciences, Silla University Busan 617-736, Korea, ³Department of Food Science and Biotechnology, Kyung Hee University, Yongin 446-701, Korea, ⁴Department of Microbiology and Immunology, Pusan National University School of Medicine, Busan 602-739, Korea* - Various biological resources from plants, animals, mushrooms, microorganisms, and foods were tested for the inhibitory activity against squalene synthase (SQS). Among 32 samples, more than one fourths (9 samples) exhibited significant SQS inhibitory activity. Interestingly, SQS inhibitory activity was detected in the samples such as green tea, fermented soybean paste, and plum juice. The SQS inhibitory activity of green tea was not only high but also stable. Its SQS inhibitors were supposed to be catechin derivatives, which have been known to be main bioactive components in green tea. The galloyl catechins showed higher SQS inhibitory activity compared to the nongalloyl catechins. Especially, (-)-epigallocatechin gallate appeared to be strongest inhibitor against squalene synthase (IC₅₀=90 μM).

Key words : Squalene synthase, inhibitors, green tea, catechin derivatives

서 론

천연물(Natural products)은 큰 의미에서 자연계로부터 얻어지는 동물, 식물, 광물 및 미생물과 그 대사산물을 의미한다. 과학이 발달함에 따라 화학 및 약리학적 지식은 천연물에서 활성성분을 분리하여 그 작용기전을 밝히는 방향으로 진전하였으며 오늘날에 이르러서는 화학구조, 활성 기작의 규명으로 원료 자체를 식품에 이용하거나 유효 활성성분을 성분의약품으로 사용하고, 그 구조를 변형시켜 보다 약효가 뛰어나고 안전성이 높은 약물을 합성하는 방향으로 발전하고 있다. 특히 식품에 이용되는 천연물 중에 함유된 생리활성의 기능을 과학적으로 밝히고자하는 많은 연구가 수행되고 있으며 그 중 녹차는 전세계적으로 널리 소비되어지는 가장 대중적인 기호음료이다. 녹차의 섭취는 심혈관질환의 발생위험을 낮추어 주는 것으로 역학조사결과가 보고되고 있으며[14,15,29] 녹차의 주요생리활성물질은 폴리페놀의 일종인 catechin으로 알려져 있는데 녹차 폴리페놀 함량의 약 70% 이상을 차지하고 있다. 몇 가지 주요한 녹차의 catechin은 (+)-catechin, (-)-epicatechin, (-)-epigallocatechin, (-)-epicatechin gallate, (-)-epigallocatechin gallate 등이다. 지금까지 알려진 녹차 catechin의 생리활성기능에는 체내에서 유해한 유리기를 제거하고 항산화효소의 활성을 증가시켜 항산

화활성을 나타내고 항암성, 항돌연변이성, 항바이러스성, 항염성, 항알레르기성 및 항혈전성을 가진다고 보고되어 있다[22,32]. 또한 녹차에 들어있는 polyphenol은 혈중 콜레스테롤을 저하시키고 고혈압이나 동맥경화를 억제하며 과산화지질의 생성을 억제하여 노화를 예방하고 혈청 중의 지질농도를 저하시키며 중성지질의 생성을 억제하여 비만을 방지하고 모세혈관의 저항력을 증진시킨다고 보고되고 있다[31]. 녹차의 혈중콜레스테롤 저하효과는 녹차에 다량 함유되어 있는 (-)-epicatechin gallate, (-)-epigallocatechin gallate에 의한 것으로 알려지고 있으며 콜레스테롤 흡수 억제 및 담즙산 형태로의 배설을 촉진함으로써 혈중콜레스테롤을 개선하는 것으로 추정되고 있다[29].

콜레스테롤은 동물세포의 필수적인 막 성분, 성 호르몬인 androgens과 estrogens의 전구체, 담즙산(bile acids), 초저밀도지단백(very-low-density lipoprotein, VLDL)의 생성에 이용된다[7,20,27]. 생체가 필요로 하는 콜레스테롤은 음식물의 섭취에 의한 외인성 콜레스테롤과 생체내 합성에 의한 내인성 콜레스테롤에 의하여 공급되는 것으로 알려져 있다. 이러한 콜레스테롤의 축적이나 이용을 위해서는 합성 또는 흡수한 조직으로부터 필요로 하는 조직까지 운반되어야 하는데, 트리글리세라이드(triglyceride)와 함께 혈장에서 지단백(lipoprotein) 형태로 존재하면서 이동되고 대사된다[13]. 이와 같이 건강한 체내에서는 수요와 공급의 균형이 유지되고 있는 반면, 병적인 원인에 의한 경우 체내의 콜레스테롤량이 현저하게 변동된다. 따라서 콜레스테롤 생합성을 저해함

*Corresponding author

Tel : +82-51-240-7834, Fax : +82-51-242-8671
E-mail : ELTIDINE@hanmail.net

로써 LDL-수용체의 합성 속도를 증가시켜 혈장 콜레스테롤 수준을 낮추는 방법이 효과적인 것으로 여겨지고 있다.

지금까지의 심혈관 질환의 치료제는 혈장 콜레스테롤을 낮추는 제제, 동맥경화 증상을 경감·완화시키는 제제, 심혈관 질환의 진전을 차단 또는 역전시키는 제제의 3가지로 구분할 수 있다. 이들 중에서 혈장 콜레스테롤을 낮추는 제제가 가장 광범위하게 사용되고 있으며 주로 콜레스테롤 생합성 경로의 HMG-CoA reductase를 저해함으로써 혈중 LDL-cholesterol 이나 총 콜레스테롤의 수준을 낮추는 작용을 하는 것으로 알려져 있다[11,12,17,19,23,28,30]. 한편, 콜레스테롤 합성에 관여하는 중요한 효소인 squalene synthase의 저해제를 탐색하는 연구가 최근에 새로이 시작되어 Merck사의 자라고스산(zaragozic acid) [4] 및 Glaxo사의 스쿠알레스타틴(squalestatin) [3,9,26] 등의 신물질이 미생물로부터 분리되어 보고되었다.

Squalene synthase (SQS)는 acetyl-CoA에서 시작하여 콜레스테롤이 합성되는 콜레스테롤 생합성 과정 중에서 farnesyl pyrophosphate (FPP)가 squalene으로 전환되는 단계를 촉매하는 효소이다[21,24]. SQS 저해제는 HMG-CoA reductase 저해제와는 달리 콜레스테롤 생합성 경로상 하류(downstream)에 해당하는 효소를 저해하는 것이기 때문에 HMG-CoA reductase에 의해 파생되는 많은 생체내 isoprenoid 물질들의 전구체 비생성 현상이 나타나지 않아, HMG-CoA 저해제에 의한 여러 가지 부작용[16]을 막을 수 있을 것으로 기대된다. 포유동물의 이소프레노이드 합성 경로는 스테롤을 형성할 뿐 만 아니라 돌리콜(dolichol), 유비퀴논(ubiquinone), 헴 A의 파네실 그룹(farnesyl groups of heme A), 프레닐화된 단백질의 파네실과 제라닐제라닐 그룹(farnesyl & geranylgeranyl groups of prenylated proteins), 이소펜테닐 아데닌의 이소펜테닐 곁사슬(isopentenyl side chain of isopentenyl adenine) 등도 형성한다. SQS 저해제는 HMG-CoA 환원효소 저해제와는 달리 이러한 다른 이소프레노이드 합성에는 영향을 주지 않으면서 콜레스테롤 합성을 저해할 수 있을 것으로 예상되기 때문에 현재 치료제로 개발되어 있는 HMG-CoA 환원효소 저해제에 비해 부작용이 적을 것으로 기대된다[21,24]. 본 연구에서는 32종의 천연물로부터 동물조직에 존재하는 squalene synthase에 대한 저해활성을 나타내는 저해물질을 탐색한 결과, 녹차 추출물에서 비교적 저해 활성이 높고 재현성이 있게 저해효과를 나타내는 것을 확인하였으며 녹차로부터 squalene synthase 저해효과를 나타내는 활성물질을 분리하여 저해물질의 특성에 대하여 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

시약 및 사용기기

녹차 분말은 태평양기술연구원에서부터 공급받은 제품을

사용하였으며, 두부는 (주)풀무원 제품을 사용하였다. 한약재와 식품소재는 경동시장과 기타 재래시장 등에서 구입하여 사용하였으며 (+)-catechin ((+)-C), (-)-epicatechin ((-)-EC), (-)-epicatechin gallate ((-)-ECg), (-)-epigallocatechin ((-)-EGC), (-)-epigallocatechin gallate ((-)-EGCg) 등은 Sigma-Aldrich (ST Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 동위원소 측정을 위한 liquid scintillation counter (LSC)는 Beckman사의 LS 6500을 사용하였다.

시료의 준비 및 탐색

시료의 준비는 용매추출법과 열수추출법을 병행하였다. 용매추출에서는 10배 용량의 80% 수용성 methanol을 이용하여 상온에서 3시간 동안 3회 추출하고 원심분리한 뒤 상등액을 회수하여 감압농축하였다. 또한 열수추출법은 증류수를 이용하여 80°C에서 위와 같은 방법으로 추출하였다. 추출액은 동결건조기에서 건조하고 methanol에 녹인 후 여기에 물을 첨가하여 추출물의 최종농도는 100 µg/10 µl가 되게 하였다. 이때 methanol 농도가 높으면 enzyme assay에 영향을 주고 낮으면 잘 녹지 않아 20% methanol 용액이 되도록 조제하였다. 천연물을 처리하여 얻은 시료를 squalene synthase 효소활성 측정을 위한 반응액에 첨가한 것과 시료를 넣지 않은 반응액의 cpm값 차이를 측정하여 효소활성의 저해정도를 판단하였다.

유기용매 추출성 및 crude catechin의 분리

녹차 열수추출물을 10 ml 씩 취하여 동량의 hexane, chloroform, ethyl acetate, 1-butanol을 가하여 1시간 간격으로 3회에 걸쳐 반복 추출한 후 유기용매 층을 분리, 감압농축하고 저해활성을 측정하여 SQS 저해물질의 용매 이행성을 검토하였다. 녹차 추출물로부터 crude catechin을 분리하기 위하여, 녹차 열수추출물 100 ml에 chloroform 100 ml를 첨가하여 caffein 및 지질, 색소 등을 제거한 뒤 수층을 얻었다. 여기서 얻은 수층에 동량의 ethyl acetate를 가하여 3회 추출하였고 진탕추출 시 처음에는 매우 천천히 진탕하여 emulsion이 생기지 않도록 한 다음 강하게 진탕하였으며, 적당량의 NaCl을 가하여 층의 분리를 원활하게 하였다. Ethyl acetate 층은 sodium sulfate로 탈수시키고 여과한 다음 감압농축하여 crude catechins 분획을 얻었다(Fig. 1).

돼지 간 microsome의 분리[2,18]

돼지 간 100 g을 잘게 썰어서 충분히 다지고 200 ml의 균질화 완충액(0.1 M potassium phosphate, pH 7.4 / 0.3 M sucrose / 5 mM DTT / 10 mM MgCl₂ / 50 mM KCl)을 첨가한 다음 균질화하였다. 4,000× g에서 15분간 원심분리한 다음 상등액을 취하고 다시 15,000× g에서 30분간 원심분리를 하였다. 다시 상등액을 취해 105,000× g에서 1시간 초원

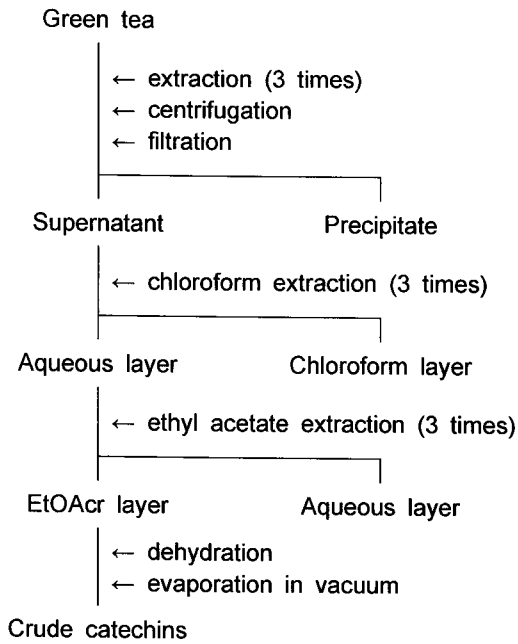


Fig. 1. Preparation procedure of crude catechins from green tea.

심분리하여 microsomal 분획을 얻었다. 세척을 위해 50 ml의 균질화 완충액을 첨가하여 침전물을 균질화시키고 105,000×g에서 30분간 초원심분리하여 침전된 microsomal 분획을 균질화 완충액에 현탁시켜 squalene synthase 활성 측정을 위한 효소원으로 사용하였다.

Squalene synthase에 대한 저해 활성 측정[2,8,10,18,25]

저해물질 시료 10 µl와 반응완충액(100 mM potassium phosphate, pH 7.4 / 5 mM MgCl₂ / 100 mM KCl / 10 mM DTT / 2 mM NADPH) 100 µl, microsomal 분획(1.92 mg protein/ml) 50 µl를 혼합하여 37°C에서 10분간 방치시킨 후 125 µM [³H]farnesyl pyrophosphate 10 µl의 기질을 첨가하여 37°C에서 다시 30분간 반응시켰다. 200 µl의 냉각한 ethanol을 첨가하여 반응을 정지시키고 n-hexane으로 3회 추출하여 얻은 hexane 층과 5 ml의 cocktail solution을 혼합하여 LSC를 이용하여 cpm을 측정함으로써 저해 정도를 측정하였다.

결과 및 고찰

천연물 추출물의 SQS 저해활성

지금까지의 콜레스테롤 생합성 저해물질은 미생물의 대사 산물이나 합성에 의하여 개발된 것으로 본 연구에서는 천연물을 대상으로 그 효능을 검색하고자 하였다. SQS 저해활성을 검색하기 위하여 동물, 식물, 버섯, 미생물, 식품소재와 같은 다양한 천연물을 수집하였다. 수집된 32 종의 천연물을 80% 수용성 methanol 또는 물로 추출하여 콜레스테롤 생합

성 억제 작용에 미치는 영향을 알아보기 위하여 SQS 저해활성을 측정하였다. 일반적으로 탐색 과정에서는 실험 시료의 어떤 특정 성분을 목적으로 할 것인지 정해져 있지 않기 때문에 여러 가지 화합물에 대한 추출능이 크고 추출조작이 용이한 물 혹은 메탄올을 자주 이용하고 있다. 예비실험을 통하여 물 또는 80% 수용성 methanol 등의 2가지 추출용매를 사용하여 비교해 본 결과(data not shown), 추출용매에 따른 수율의 차이는 크게 나타나지 않아 본 실험에서는 열수추출 방법을 이용하여 추출하였다. Table 1에서와 같이 천연물을 열수로 추출하여 얻은 추출물을 이용하여 SQS에 대한 저해활성을 조사한 결과, 크게 저해율 25% 이하, 저해율 25-50%, 저해율 50-75%, 저해율 75% 이상으로 분류할 수 있었다. 32 종의 시

Table 1. Inhibitory effects of hot water-extracts of natural products against squalene synthase

Natural products	Inhibitory activity
Green tea	
Fermented soybean paste	+++
Turmeric	
<i>Prunus mume</i>	
Garlic	
<i>Crataegus pinnatifida</i>	
Siberian ginseng	++
<i>Phelinus linteus</i>	
Reishi mushroom	
Kuzu vine	
Licorice	
Cinnamon	
<i>Amomum xanthioides</i>	
Ginger	
<i>Coriolus versicolor</i>	
Ginkgo leaf	+
<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	
Peony	
<i>Lentinus edodes</i>	
<i>Lavendula officinalis</i>	
Tofu	
Mulberry leaves	
Tabacco	
<i>Gentiana scabra</i> var. <i>buergeri</i>	
<i>Korean angelica</i>	
<i>Baikal skullcap</i>	
Chondroitin (from cow)	-
Chondroitin (from shark)	
Oyster extract	
Brewer's yeast	
Glutathion yeast	
Spirulina	

SQS inhibitory activities were measured with 100 ug/10 µl of each extract in 20% aqueous methanol.

-. <Inhibition 25%, +: Inhibition 25-50%, ++: Inhibition 50-75%, +++: >Inhibition 75%

료 중, 9종이 50% 이상의 저해효과를 나타냈으며 그 중, 녹차, 된장, 울금 추출물이 75% 이상의 높은 저해효과를 나타냈다. 특히 주목할 만한 것은 식품소재에 의한 높은 저해효과가 관찰되었으므로 식품소재를 이용하여 심혈관질환을 예방할 수 있다면 비용이나 안전성 측면에서 효과적이기 때문에 그 의의가 크다고 할 수 있다. 최종적으로 저해활성이 가장 높고 저해효과의 재현성을 나타내는 녹차를 선발하여 squalene synthase에 대한 저해기전을 조사하고 자 하였다.

녹차 추출물의 유기용매 추출성 및 crude catechin의 분리

녹차 열수추출 시료를 n-hexane, chloroform, ethyl acetate, 1-butanol을 사용해 각각 3회 반복 추출하여 나온 유기용매 층의 squalene synthase 저해활성을 측정 한 결과, n-hexane, chloroform, ethyl acetate, 1-butanol 추출물의 저해활성은 각각 4.3, 12.3, 71.3, 77.7%를 나타냈으며 특히 ethyl acetate와 butanol 층에서 높은 저해활성을 보였다(Fig. 2). Ethyl acetate 보다는 1-butanol에서의 추출율이 더 높았지만 butanol 층의 경우, 추출물의 농축이 어렵고 또한 1-butanol 층으로 여러 가지 화합물이 함께 추출되는 단점이 있기 때문에 수율에서는 약간 차이가 있지만 비점이 낮아 농축 및 분리를 하는데 장점이 있는 ethyl acetate를 이용하여 추출하는

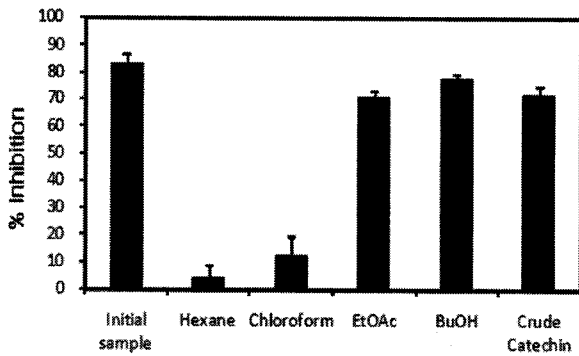


Fig. 2. Inhibitory effects of organic solvent extracts from green tea against squalene synthase. SQS inhibitory activities were measured with 100 ug/10 µl of each extract in 20% aqueous methanol.

것이 유리할 것으로 판단되었다. 녹차 추출물의 유기용매 추출에 따른 squalene synthase 저해물질의 특성이 crude catechin의 추출 및 분리 방법과 유사하여, Fig. 1의 방법에 따라 녹차 추출물로부터 crude catechin 분획을 얻었다. 녹차 추출물로부터 chloroform으로 추출하여 caffeine 성분을 제거한 후, ethyl acetate를 이용하여 crude catechins 분획을 얻어 squalene synthase 저해활성을 검토한 결과, 72.0%의 저해활성을 나타내어 녹차 추출물의 squalene synthase 저해활성은 crude catechins에 의한 것으로 추정되었다[32]. 녹차는 혈압 저하 및 혈소판응집 감소 뿐 만 아니라 항균, 항바이러스, 항암 작용, 위액분비촉진, 이뇨작용, 항염증 효과와 같은 다양한 약리학적 효과를 가지는 것으로 보고되고 있으며 그 중에서도 catechin에 대한 생리학적 연구가 다방면으로 이루어지고 있다[22,32]. 또한 녹차의 섭취가 지방 및 콜레스테롤의 흡수를 저하시키거나 혹은 내분비계에 영향을 미쳐 식이섭취를 감소시킴으로써 혈중 콜레스테롤 저하효과를 나타낸다고 보고되기도 하였다[29].

녹차 catechins에 의한 squalene synthase 저해활성

녹차의 주요한 생리활성 성분인 catechins 분획에서 SQS 저해활성을 나타냈으므로 catechin 표준품을 이용하여 SQS 저해활성을 조사하였다. (+)-Catechin, (-)-epicatechin, (-)-epicatechin gallate, (-)-epigallocatechin, (-)-epigallocatechin gallate 등 catechin 표준용액의 농도에 따른 squalene synthase 저해작용을 조사하였다. 그 결과, Table 2에 나타난 바와 같이 (-)-epigallocatechin gallate, (-)-epicatechin gallate, (-)-epigallocatechin, (-)-epicatechin, (+)-catechin의 순으로 저해활성이 강한 것으로 나타났다. (+)-Catechin과 (-)-epicatechin의 경우, 1,000 µM 농도에서 각각 35.3, 39.7%의 저해율을 나타냈으나 그 이하의 농도에서는 큰 저해효과를 보이지 않았다. (-)-Epigallocatechin을 각 농도별로 처리하여 squalene synthase 저해작용을 살펴본 결과, 500, 1,000 µM에서 각각 53.7, 65.3%의 저해율을 보였으며, (-)-epicatechin gallate과 (-)-epigallocatechin gallate의 경우, 100 µM에서 각각 42.3, 54.7%의 저해활성을 나타내어 비교적 낮은 농도에

Table 2. Inhibitory effects of catechin derivatives against squalene synthase

Concentration (µM)	SQS inhibition activity (%) [*]				
	(+)-C	(-)-EC	(-)-ECg	(-)-EGC	(-)-EGCg
10	4.7±2.08	4.7±2.52	17.7±2.08	8.3±0.58	17.3±1.53
50	12.3±3.51	11.7±3.06	30.0±2.65	15.7±0.58	36.0±2.65
100	14.3±2.08	14.0±3.46	42.3±3.06	27.3±2.52	54.7±5.13
500	23.0±4.00	26.3±1.15	66.0±3.61	53.7±4.73	75.0±2.65
1000	35.3±2.52	39.7±2.08	73.0±1.00	65.3±3.51	83.7±3.21

^{*}SQS inhibitory activities were expressed as inhibition percent (%).

(+)-C: (+)-catechin, (-)-EC: (-)-epicatechin, (-)-ECg: (-)-epicatechin gallate, (-)-EGC: (-)-epigallocatechin, (-)-EGCg: (-)-epigallocatechin gallate.

서도 squalene synthase에 대한 저해작용을 확인할 수 있었다. 또한 가장 강한 squalene synthase 저해활성을 나타내는 (-)-epigallocatechin gallate의 저해양상을 살펴보기 위하여 (-)-epigallocatechin gallate의 농도를 달리하여 저해활성을 측정 한 결과, squalene synthase에 대한 (-)-epigallocatechin gallate의 IC₅₀ 값은 90 μM로 나타났다. Squalen synthase는 4차 구조를 가지는 효소로서 효소의 IC₅₀ 값을 측정할 경우, 4차 구조일 때 S자 형태의 반응곡선을 보이므로 curve-fitting을 통하여 IC₅₀ 값을 구할 수 있었다(Fig. 3). 지금까지 알려진 squalene synthase 저해물질에는 기질인 FPP analogue와 phosphorous-containing inhibitor, carbocation intermediate analogue, natural product 등으로 크게 세 가지로 나누어지고 있으며 유기 합성에 의한 저해물질에 비해 미생물 배양액으로부터 분리된 저해물질들이 활성이 더 높은 것으로 알려져 있다[1]. FPP analogue인 phosphinylmethyphosphonates (PMP)와 그 유도체는 rat liver-squalene synthase에 대하여 12.2 μM의 IC₅₀ 값을 나타내었으나 polyanion의 세포막침투가 어려워 rat hepatocytes에서는 콜레스테롤생합성 저해효과를 나타내지 못하였다. Phosphinylformate는 rat-squalene synthase에 대하여 8.7 μM의 IC₅₀ 값을 나타내는 것으로 보고되었다[5,6]. Carbocation intermediate analogue인 aza analogue는 yeast-squalene synthase에 대하여 20~25 μM 범위의 IC₅₀ 값을 나타내었다[17]. 한편 Merck사의 zaragozic acid (IC₅₀=39 nM) [32-34] 및 Glaxo사의 squalestatin (IC₅₀=5.9~15.2 nM) [31] 등의 저해물질은 미생물로부터 분리된 것으로 rat liver와 fungal squalene synthase 등의 두 가지 효소에 대해 강한 저해활성을 보이는 것으로 알려졌다. (-)-Epigallocatechin gallate의 경우, 지금까지 알려진 squalene synthase 저해물질에 비해 저해효과는 낮았지만 비교적 낮은 농도에서 squalene synthase에 대하여 저해효과가 나타내는 것으로 확인되어 본 결과를 통해 고지혈증에 대한 예방효과의 가능성을 제시하고 있다.

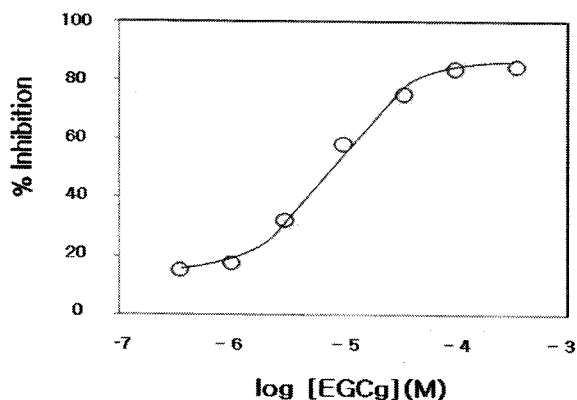


Fig. 3. Inhibitory effects of (-)-epigallocatechin gallate against squalene synthase. SQS inhibitory activities were measured with different concentrations of (-)-epigallocatechin gallate.

요 약

콜레스테롤 생합성 과정에 있어서 속도조절 단계 효소의 하나인 squalene synthase에 대한 저해물질의 탐색을 목적으로, 30종의 다양한 천연물을 대상으로 squalene synthase에 대해 저해효과를 검토한 결과 녹차추출물에서 비교적 저해활성이 높고 재현성이 있게 저해효과를 나타내는 것으로 확인되었다. 녹차에 함유되어 있는 squalene synthase에 대한 저해물질의 용매추출성을 검토한 결과 ethyl acetate와 n-butanol 층에 저해물질이 많이 함유되어 있는 것으로 확인되었으며 저해물질은 녹차의 polyphenol 화합물인 catechin에 의한 것으로 추정되었다. Catechin 표준용액의 각 농도에 따른 squalene synthase 저해작용을 살펴 본 결과, (-)-epigallocatechin gallate, (-)-epicatechin gallate, (-)-epigallocatechin, (-)-epicatechin, (+)-catechin의 순으로 저해활성이 강한 것으로 나타났으며 가장 강한 저해활성을 나타내는 (-)-epigallocatechin gallate의 IC₅₀값은 90 μM이었다.

감사의 글

본 연구는 2007학년도 오산대학 교내연구비 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

References

1. Abe, I., J. C. Tomesch, S. Wattanasin and G. D. Prestwich. 1993. Inhibitors of squalene biosynthesis and metabolism. *Natural Product Reports* **11**, 279-293.
2. Agnew, W. S. 1985. Squalene synthetase. *Methods in Enzymology*, **110**, 359-375.
3. Baxter, A., B. J. Fitzgerald, J. L. Hutson, A. D. McCarthy, J. M. Motteram, B. C. Ross, M. Sapro. M. A. Snowden, N. S. Watson, R. J. William and C. Wright. 1992. Squalestatin I, a potent inhibitor of squalene synthase, which lower serum cholesterol *in vivo*. *J. Biol. Chem.* **267**, 11705-11708.
4. Bergstrom, J. D., M. M. Krutz, D. J. Rew, A. M. Amend, J. D. Karkas, R. D. Bostedor, V. S. Bansal, C. Dufresns, F. L. Van Middleworth, O. D. Hensens, J. M. Liesch, D. L. Zinc, K. E. Wilson, J. Onishi, J. A. Milligan, G. Bills, L. Kaplan, M. Nallin Omsted, R. G. Jenkins, L. Huang, M. S. Meinz, L. Quinn, R. U. Burg, Y. L. Kong, S. Mochales, M. Mojena, I. Martin, F. Pelaez, M. T. Diez and A. W. Albert. 1993. Zaragozic acids: A Family of metabolites that are picomolar competitive inhibitors of squalene synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 80-89.
5. Biller, S. A., C. Forster, E. M. Gordon, T. Harrity, W. A. Scott and P. Ciosek. 1988. Isoprenoid (phosphinylmethyl) phosphonates as inhibitors of squalene synthetase. *J. Med. Chem.* **31**, 1869-1871.
6. Biller, S. A., C. Forster, E. M. Gordon, T. Harrity, L. C. Rich, J. Marretta and P. Ciosek. 1991. Isoprenyl phosphi-

- nylformates: new inhibitors of squalene synthetase. *J. Med. Chem.* **34**, 1914-1916.
7. Brown, M. S. and J. L. Goldstein. 1980. Multivalent feedback regulation of HMG-CoA reductase, a control mechanism coordinating isoprenoid synthesis and cell growth. *J. Lipid Res.* **21**, 505-512.
 8. Cohen, L. H., A. M. Griffioen and R. J. A. Wanders. 1986. Regulation of squalene synthase in rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commu.* **138**, 335-341.
 9. Dawson, M. J., J. E. Farthing, P. S. Marshall, R. F. Middleton, M. J. O'Neill, A. Shuttleworth, C. Stylli, R. M. Tait, P. M. Taylor, H. G. Wildman, A. D. Buss, D. Langley and M. V. Hayes. 1992. The squalenestatsins, novel inhibitors of squalene synthase produced by a species of *Phoma*. I. Taxonomy, fermentation, isolation, physico-chemical properties and biological activity. *J. Antibiotics* **45**, 639-647.
 10. Dugan, R. E. and J. W. Porter. 1972. Hog liver squalene synthase : The partial purification of the particulate enzyme and kinetic analysis of the reaction. *Arch. Biochem. Biophys.* **152**, 28-35.
 11. Goldstein, J. L. and S. M. Brown. 1990. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* **33**, 425-433.
 12. Hasumi, K., C. Shinohara, T. Iwanaga and A. Endo. 1993. Laterin, A new inhibitors of acyl-CoA: cholesterol acyltransferase produced by *Gibberella lateritium* IFO 7188. *J. Antibiotics* **46**, 782-780.
 13. Heider, J. G. 1986. *Agent which inhibit cholesterol esterification in the intestine and their potential value in the treatment of hypercholesterolemia*. J. R. Prous Science Publishers. pp. 423-438.
 14. Hertog, M. G., D. Kromhort, C. Aravanis, H. Blackburn, R. Buzina, F. Fidanza, S. Giampaoli, A. Jansen, A. Monotti and S. Nedeljkovic. 1995. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart diseases and cancer in the seven countries study. *Arch. Int. Med.* **155**, 381-386.
 15. Jin, H. H., J. L. Yang, J. H. Chung and Y. Kim. 2004. Hypocholesterolemic effects of green tea in cholesterol-fed rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 47-51.
 16. Keller, R. K. and F. Vilsaint. 1993. Regulation of isoprenoid metabolism in rat liver: near constant chain lengths of dolichyl phosphate and ubiquinone are maintained during greatly altered rates of cholesterol synthesis. *Biochim. Biophys. Acta.* **1170**, 20-25.
 17. Feussner, G. 1994. HMG CoA reductase inhibitors. *Curr. Opin. Lipidol.* **5**, 59-68.
 18. Kuswik, R. G. and H. C. Rilling. 1987. Squalene synthetase. Solubilization and partial purification of squalene synthetase, copurification of presqualene pyrophosphate and squalene synthetase activities. *J. Biol. Chem.* **262**, 1505-1510.
 19. Naganuma, S., Sakai, K. Hasumi and A. Endo. 1992. Acaterin, a novel inhibitor of acyl-CoA: cholesterol acyltransferase produced by *Pseudomonas* sp. A92. *J. Antibiotics* **45**, 1216-1223.
 20. Padley, F. B. and J. Podmore. 1985. *The role of fats in human nutrition*. pp. 7-15, Ellis Horwood. Chichester.
 21. Papjak, G., D. S. Goodman, J. W. Cornforth, R. H. Cornforth and R. Ryhage. 1961. Studies on the biosynthesis of cholesterol: X V. Mechanism of squalene biosynthesis from farnesyl pyrophosphate and from mevalonate. *J. Biol. Chem.* **236**, 1934-1939.
 22. Park, C. O., S. H. Jin, and B. H. Ryu. 1996. Antioxidant activity of green tea extracts toward human low density lipoprotein. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 850-858.
 23. Park, J. K., K. Hasumi and A. Endo. 1993. Inhibitors of acyl-CoA: cholesterol acyltransferase by *Helminthosporol* and its related compounds. *J. Antibiotics* **46**, 1303-1310.
 24. Poulter, C. D. and H. C. Rilling. 1991. *Biosynthesis of isoprenoid compounds*. pp. 413-441, Wiley, New York.
 25. Shechter, I., I. Klinger and M. L. Rucher. 1992. Solubilization and characterization of a truncated form of rat hepatic squalene synthase. *J. Biol. Chem.* **267**, 8628-8635.
 26. Sidebottom, P. J., R. M. Highcock, S. J. Lane, P. A. Procopio and N. S. Watson. 1992. The squalenestatsins, novel inhibitors of squalene synthase produced by a species of *Phoma*. II. Structure elucidation. *J. Antibiotics* **45**, 648-658.
 27. Spector, A. A. and M. A. Yorek. 1985. Membrane lipid composition and cellular function. *J. Lipid Res.* **26**, 1015-1021.
 28. Stedronsky, E. R. 1994. Interaction of bile acids and cholesterol with non-systematic agents having hypocholesterolemic properties. *Biochimica. et Biophysica. Acta.* **1210**, 255-262.
 29. Tijburg, L. B., T. Mattern, J. D. Folts, U. M. Weigerber and M. B. Katen. 1997. Tea flavonoids and cardiovascular disease: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **37**, 771-785.
 30. Tomada, H., H. Nishida, R. Masuda, J. Cao, S. Okuda and S. Omura. 1991. Purpactins, new inhibitors of acyl-CoA: cholesterol acyltransferase produced by *Penicillium purpurogenum* I. Production, isolation and physico-chemical and biological properties. *J. Antibiotics* **44**, 136-145.
 31. Yamaguchi, Y., M. Hayashi, H. Yamazoe, M. Kunitomo. 1991. Preventive effects of green tea extract on lipid abnormalities in serum, liver and aorta of mice fed a atherogenic diet. *Nippon Yakurigaku Zasshi* **7**, 329-337.
 32. Yeo, S. G., C. W. Lee, Y. W. Lee, T. G. Lee, Y. H. Park and S. B. Kim. 1995. Antioxidant effect of tea extract from green tea, Oolong tea and black tea. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **24**, 299-304.