생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
31(3) : 351 ~ 356 (2000)

Bergenin 및 Acetylbergenin의 Galactosamine 유발 간독성에 대한 치료효과

임화경, 김학성*, 최종원[1]
충북대학교 약학대학, [1]경성대학교 약학대학

Therapeutic Effects of Bergenin and Acetylbergenin on Galactosamine-induced Hepatotoxicity in Rats

Hwa-Kyung Lim, Hack-Seang Kim* and Jong Won Choi[1]
College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 361-763,
[1]College of Pharmacy, Kyungsung University, Pusan 608-736, Korea

Abstract – The hepatoprotective effects of bergenin and its derivative, acetylbergenin, were evaluated against D-galactosamine-induced liver damage in rats. Bergenin is a *C*-glucoside of 4-*O*-methyl gallic acid that has been isolated from the cortex of *Mallotus japonicus* (Euphorbiaceae). Acetylbergenin was synthesized from acetylation of bergenin to increase lipophilic and physiological activities. Bergenin (50, 100 and 200 mg/kg) and acetylbergenin (25, 50 and 100 mg/kg) were administered orally once daily for successive 5 days after the injection of galactosamine (400 mg/kg, i.p.), respectively. The substantially elevated serum enzyme activities of alanine/aspartate aminotransferase, sorbitol dehydrogenase and γ-glutamyltransferase due to galactosamine treatment were dose-dependently restored towards normalization by post-treatment with bergenin and acetylbergenin. Bergenin and acetylbergenin also significantly prevented the elevation of hepatic malondialdehyde formation and depletion of reduced glutathione content induced by galactosamine in a dose-dependent manner. In addition, the decreased activities of glutathione S-transferase and glutathione reductase were restored towards normalization. These results suggest that effects of bergenin and acetylbergenin may be related to complex mechanisms that involve prevention of lipid peroxidation and preservation of hepatic glutathione. The results of this study clearly indicate that bergenin and acetylbergenin have potent hepatotherapeutic action against galactosamine-induced hepatotoxicity in rats, and lipophilic acetylbergenin is more active in the antihepatotoxic effects against galactosamine than much less lipophilic bergenin.

Key words – bergenin, acetylbergenin; *Mallotus japonicus*; hepatoprotective effects; D-galactosamine

예덕나무피(Malloti Cortex)는 대극과(Euphorbiaceae)에 속하는 예덕나무(*Mallotus japonicus* Mueller Agroviensis)의 수피(樹皮)를 건조한 것이다, 예덕나무는 일명 야오동(野梧桐) 또는 적아백(赤芽柏) 등으로도 부르며 일본, 대만, 중국의 남부 및 한국의 남부지방에서 자생하고 있다. 예덕나무피 엑스는 현재 정장제로 사용되고 있으며,[1,2] 항위궤양작용 및 항염증작용[3]이 있는 것으로 알려져 있다. 독성이 없을 뿐만 아니라 일반약리작용 및 태자에 대한 영향[4]도 없는 것으로 보고된 바 있다. 성분으로는 bergenin, malloperenol, rutin 등 20여종이 있으며,[2] bergenin은 예덕나무피 엑스의 유효성분으로 항위궤양작용[5] 외에 항염작용,[6] 항고지혈작용[7] 등이 있고, 급성, 아급성 및 만성 독성 시험에서도 독성[8]이 거의 없는 것으로 알려져 있다. 저자 등은 간기능 개선에 효과적인 생약물질을 탐색하던 중 예덕나무피 엑스가 사염화탄소

*교신저자 : Fax : 043-268-2732

및 galactosamine으로 유발된 간독성에 보호효과가 있음을 확인하였다.[9] 또한 예덕나무피 엑스의 유효성분인 bergenin은 사염화탄소 및 galactosamine으로 유발된 일차 배양한 흰쥐의 간세포 독성에 간세포 보호효과가 있다고 보고한 바 있다.[10,11] 한편, 일반적으로 지질용해도가 큰 약물은 세포막을 통해 쉽게 흡수되어 생리적 활성을 증가시키는 것으로 알려져 있다. Acetylbergenin은 지질용해도와 생리적 활성을 증가시키기 위해 예덕나무피 엑스로부터 추출된 bergenin을 아세틸화하여 합성한 것이다. Acetylbergenin이 일차 배양한 흰쥐의 간세포에 사염화탄소 및 galactosamine으로 유발된 간독성에도 간보호 효과가 있음을 밝혔다.[12] 본 연구에서는 in vivo를 통한 간독성에 미치는 bergenin 및 acetylbergenin의 영향을 알아보기 위하여, 흰쥐에 galactosamine으로 독성을 유발시킨 후 bergenin 및 acetylbergenin을 투여하여 치료효과 측면에서 간독성 회복효과 및 그 기전을 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물- 실험동물은 체중이 150±20 g의 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐를 삼육실험동물에서 공급받아 사용하였다. 각 군당 8마리로 하여 온도 20±2°C, 습도 50~60%, 명암주기 12시간으로 유지되는 동물실에서 사육하였다. 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하여 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

시료의 추출 및 제조- 예덕나무는 충북 속리산에서 채집하여 충북대 이경순 교수로부터 감정 후 예덕나무피를 음건하고 세절하였다. 건조한 예덕나무피 조말 1 kg에 증류수 10 L를 가하고 2시간씩 2회, 3회째에는 5 L를 가하고 2시간 90~100°C 수욕상에서 가온 추출하고 여과한 다음 여액을 수욕상(60°C)에서 감압농축건조(<10 mmHg)하여 예덕나무피 엑스 160 g (16%)을 얻었다.[13] 예덕나무피 엑스(130 g)를 메탄올에 용해하여 불용성 부분을 여과 제거하고 여액을 감압농축한 후 silica gel column chromatography [chloroform:methanol(4:1, v/v)]로 정제한 후 이를 재결정하여 순수한 bergenin (19.5 g; 15%)을 얻었다.[14] Bergenin 10 g을 acetic anhydride 500 ml와 dry pyridine 100 ml에 용해하여 수욕상에서 6시간 반응시키고 여과한 다음 여액을 수욕상에서 감압농축 건조한 후 benzene으로 재결정하여 acetylbergenin 12 g을 얻었다.[15] Bergenin 및 acetylbergenin은 10% CMC에 유화시켜 경구로 투여하였다.

투여방법- 예덕나무피 엑스의 후투여는 실험시작(0시간)과 72시간 후에 galactosamine 400 mg/kg을 복강투여하고 최초 galactosamine 투여 7일 후부터 bergenin (50, 100 및 200 mg/kg/day) 및 acetylbergenin (25, 50 및 100 mg/kg/day)을 5일간 경구투여하였다. Bergenin 및 acetylbergenin을 최종투여 24시간 후에 처치하였다. 실험동물은 처치 전 8시간 동안 사료를 제거하고 물만 섭취케 하였다. 흰쥐를 CO_2 gas로 마취시킨 후 복부 대동맥에서 채혈한 후 간을 적출하였다.

혈청 중 ALT, AST, SDH 및 γ-GT 활성의 측정- 채혈한 혈액을 4°C에서 방치한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 아산제약 kit을 사용하여 혈청중의 alanine/aspartate aminotransferase (AST/ALT)의 활성은 Reitman-Frankel의 방법[16]으로, γ-glutamyltransferase (γ-GT)의 활성은 Szasz의 방법[17]에 의하여 측정하였다. Sorbitol dehydrogenase (SDH)의 활성은 Gerlach의 방법[18]에 따른 kit시약(Sigma, USA)으로 측정하였다.

간효소활성의 측정- 생리식염수를 관류한 후 적출한 간은 인산완충액으로 homogenate를 만들었다. 이 homogenate를 1차 원심분리(600×g, 10분)하여 핵 및 미마쇄분을 제거한 상등액을 2차 원심분리(10,000×g, 20분)하여 mitochondrial fraction을 제거한 후 상등액은 다시 105,000×g로 1시간 원심분리하여 그 상등액(cytosolic fraction)을 효소원으로 사용하였다. Cytosolic fraction 중 glutathione S-transferase (GST) 활성 측정은 Habig 등의 방법,[19] glutathione reductase (GR) 활성은 Mize-Langdon의 방법[20]에 준하여 측정하였다. 간조직 중 glutathione (GSH)과 지질과산화물(MDA) 함량 측정은 각각 Ellman법[21]과 Ohkawa법[22]에 준하여 측정하였다.

단백질 함량 측정- 단백질 정량은 bovine serum albumin (Sigma Fr. IV)을 표준품으로 하여 Lowry 등[23]의 Phenol 시약법에 따라서 측정하였다.

통계처리- 실험결과는 평균치 ± 표준편차로 표시하였고 통계적 유의성은 Duncan's new multiple range test를 이용하였다. P값이 5% 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

본 실험은 동물실험모델을 이용하여 간독성 유발물

Table I. Effects of bergenin (B) and acetylbergenin (AB) on alanine/aspartate aminotransferase (ALT/AST), sorbitol dehydrogenase (SDH) and γ-glutamyltransferase (γ-GT) in galactosamine (GalN)-intoxicated rats

Group	ALT[1)]	AST[2)]	SDH[3)]	γ-GT[4)]
Normal	39.7 ± 5.57[a]	56.9 ± 5.67[a]	17.5 ± 3.70[a]	28.9 ± 5.63[a]
CCl_4 control	75.6 ± 8.53[b]	108.6 ± 10.5[b]	48.8 ± 5.74[b]	85.7 ± 9.58[b]
B50 mg/kg+CCl_4	54.8 ± 2.72[c] (57.9%)	85.6 ± 3.57[c] (44.5%)	31.6 ± 2.92[c,d] (55.0%)	50.4 ± 4.13[c] (62.2%)
B100 mg/kg+CCl_4	50.7 ± 4.91[c] (69.4%)	77.5 ± 6.41[d] (60.2%)	34.6 ± 5.66[c] (45.4%)	58.6 ± 3.82[d] (47.7%)
B200 mg/kg+CCl_4	51.7 ± 5.57[c] (66.6%)	74.7 ± 5.59[d] (65.6%)	28.6 ± 2.68[d] (64.5%)	49.7 ± 2.68[c] (63.4%)
Normal	38.0 ± 1.40[a]	56.6 ± 2.43[a]	18.3 ± 0.91[a]	27.6 ± 1.67[a]
CCl_4 control	76.7 ± 3.41[b]	122.1 ± 6.04[b]	53.4 ± 3.52[b]	93.6 ± 7.34[b]
AB25 mg/kg+CCl_4	55.3 ± 3.46[c] (55.3%)	85.8 ± 2.95[c] (55.4%)	34.6 ± 3.82[c] (53.6%)	54.2 ± 3.61[c] (39.4%)
AB50 mg/kg+CCl_4	51.1 ± 4.05[d] (66.2%)	83.4 ± 2.98[c] (59.1%)	34.5 ± 2.78[c] (58.9%)	53.6 ± 6.31[c] (60.6%)
AB100 mg/kg+CCl_4	50.4 ± 2.65[d] (68.0%)	82.7 ± 2.83[c] (61.2%)	32.1 ± 2.69[c] (60.7%)	51.8 ± 3.48[c] (63.3%)

The data are expressed as a Mean ± S.D. (n=8). The values in the parenthesis are % of protection that is calculated as 100 × (values of GalN control - values of sample)/(values of GalN control - values of normal). The values having the same superscript (a,b,c,d) are not significantly different each other by Duncan's new multiple range test ($p<0.05$).
Units: [1),2)]KA unit/ml, [3)]U/ml, [4)]mU/ml.

질인 galactosamine으로 유발된 간독성에 bergenin 및 acetylbergenin의 간독성 회복효과를 검색할 목적으로 bergenin 및 acetylbergenin을 치료의 차원에서 용량별로 5일간 후투여한 후 혈중 및 간조직의 효소학적 변동을 측정하였다.

아미노당인 galactosamine은 galactose 대사장애를 통한 uridine triphosphate, uridine diphosphate 및 uridine monophosphate 등의 농도 감소로 RNA의 합성이 저해되어 지질의 축적을 유도하고,[24-26] 또한 세포막 성분 중 탄수화물의 조성과 세포내 Ca^{2+} 농도를 변화시켜 간조직의 손상을 유발한다.[27,28] Galactosamine의 급성중독시에는 간괴사, 만성중독의 경우에는 간경변과 세포성 종양이 일어나게 된다.[29-31]

ALT 및 AST는 간질환의 진단에 널리 사용되는 효소로 amino acid와 α-keto acid와의 사이에 amino기 전이반응을 촉매는 것으로 체내에 널리 분포되어 있다. 이들이 간손상의 지표로 널리 사용되는 것은 간염이나 간경화 등으로 간세포가 괴사를 입었을 때 세포 밖으로 유출되어 세포괴사의 정도에 따라 혈장내에서 활성이 증가하기 때문이다.[32] Bergenin 및 acetylbergenin이 galactosamine 중독 흰쥐에 있어서의 혈청 ALT 및 AST 활성에 미치는 영향을 관찰한 결과는 Table I에 나타난 바와 같다. ALT 및 AST 활성의 경우, galactosamine 대조군은 정상군에 비해 각각 2배 증가되었으며, bergenin 투여군에서는 증가된 ALT 및 AST 활성을 유의성있게 감소시켰으며, 100 mg/kg 용량에서 각각 50.7 및 77.5 KA unit/ml로 69.4% 및 60.2%의 회복효과를 나타내었다. 또한 acetylbergenin 투여군에서도 galactosamine으로 증가된 ALT 및 AST활성을 감소시켰으며, 50 mg/kg 용량에서 각각 51.5 및 83.4 KA unit/ml로 66.2% 및 59.1%의 회복효과를 나타내었다. 이러한 회복효과는 bergenin보다 지용성이 높은 acetylbergenin에서 현저하였다.

그 외 간기능의 지표가 되는 혈청 SDH 및 γ-GT의 활성변화를 관찰한 결과는 Table I에 나타난 바와 같다. SDH 및 γ-GT의 활성도 transaminase의 활성과 유사한 경향을 나타내었다. Bergenin을 투여한 군은 galactosamine 투여로 증가된 SDH 및 γ-GT의 활성을 감소시켜 200 mg/kg에서 64.5% 및 63.4%의 회복효과를 보였다. Acetylbergenin 투여군에서는 galactosamine 대조군에 비해 SDH 및 γ-GT의 활성이 감소하여 100 mg/kg 용량에서 최고의 활성을 보여 각각 60.7% 및 63.3%까지 회복효과를 나타내었다. 이러한 회복효과는 bergenin 투여군보다 acetylbergenin의 투여군에서 현저하였고, 이러한 결과는 앞의 transaminase 활성의 결과와 유사하였다.

SDH 및 γ-GT는 간세포의 변성이나 괴사를 반영하는 효소로서 잠재성 간장애의 분류 및 급성 간염 발병의 조기진단에 필수적인 요소로서 간조직 손상시 다량 혈중으로 유출되어 그 활성이 증가되는 것으로 알려져 있다.[33,34] 본 실험에서 bergenin 및 acetylbergenin의 후투여로 galactosamine에 의해 증가된 SDH 및 γ-GT의 활성이 억제되는 것은 이들이 galactosamine에 의한 간조직의 손상이나 간 세포막을 안정화시켜서 나타나는 결과가 아닌가 생각된다.

Table II. Effects of bergenin (B) and acetylbergenin (AB) on levels of malondialdehyde (MDA) and glutahione(GSH), and activities of glutathione S-transferase (GST) and glutathione reductase (GR) in galactosamine(GalN)-intoxicated rats

Group	MDA[1)]	GSH[2)]	GST[3)]	GR[4)]
Normal	20.4 ± 3.91^{a}	5.48 ± 0.33^{a}	245.4 ± 21.1^{a}	25.6 ± 2.81^{a}
GalN	51.2 ± 5.63^{b}	3.15 ± 0.31^{b}	170.2 ± 10.2^{b}	17.5 ± 1.77^{b}
B50 mg/kg+GalN	32.6 ± 3.13^{c} (60.4%)	3.98 ± 0.35^{c} (35.6%)	199.7 ± 19.4^{c} (39.2%)	20.7 ± 2.27^{c} (39.5%)
B100 mg/kg+GalN	30.4 ± 5.25^{c} (67.5%)	4.12 ± 0.40^{c} (41.6%)	193.9 ± 16.5^{c} (31.5%)	21.3 ± 2.23^{c} (46.9%)
B200 mg/kg+GalN	33.9 ± 3.66^{c} (56.2%)	4.21 ± 0.45^{c} (45.5%)	201.4 ± 17.9^{c} (41.5%)	20.9 ± 1.72^{c} (42.0%)
Normal	19.9 ± 1.51^{a}	5.50 ± 0.19^{a}	238.5 ± 12.19^{a}	26.7 ± 2.43^{a}
GalN	52.1 ± 2.21^{b}	3.64 ± 0.14^{b}	177.4 ± 12.21^{b}	18.5 ± 2.18^{b}
AB25 mg/kg+GalN	34.3 ± 3.38^{c} (55.3%)	4.37 ± 0.26^{c} (39.3%)	209.2 ± 16.24^{c} (53.1%)	20.4 ± 1.46^{c} (23.2%)
AB50 mg/kg+GalN	30.3 ± 4.30^{d} (67.7%)	4.22 ± 0.23^{c} (31.2%)	206.1 ± 15.75^{c} (47.0%)	20.1 ± 1.14^{c} (19.5%)
AB100 mg/kg+GalN	30.9 ± 1.65^{d} (65.8%)	4.23 ± 0.12^{c} (31.7%)	210.8 ± 20.16^{c} (54.7%)	21.9 ± 0.99^{c} (41.5%)

The data are expressed as a Mean ± S.D. (n=8). The values in the parenthesis are % of protection that is calculated as 100 × (values of GalN control - values of sample)/(values of GalN control - values of normal). The values having the same superscript (a,b,c,d) are not significantly different each other by Duncan's new multiple range test ($p<0.05$).
Units: [1)]nmole/g of tissue, [2)] μmole/g of tissue, [3)]GSH formed nmole/min/mg protein, [4)]CDNB nmole/min/mg protein

일반적으로 생체조직 세포막의 손상은 세포막 구성 성분인 불포화지방산의 과산화가 그 한가지 요인으로 지적되고 있는데, 지질과산화의 생체 외적인 요인뿐만 아니라 내적인 요인에 의하여 생성된 oxygen free radical들 때문에 야기되며, 세포의 성분이나 기질, 특히 불포화지방산이 다량 존재하는 생체막에 연쇄적인 과산화적 손상을 입힌다. 이에 근거하여 지질과산화물 함량을 측정한 결과 bergenin 및 acetylbergenin을 후투여한 군은 galactosamine 대조군에 비해 유의성있는 감소를 보였다. Bergenin 100 mg/kg 투여군 및 acetylbergenin 50 mg/kg 투여군에서 각각 30.4 및 30.3 nmole/g of tissue를 보여 67.5% 및 67.7%로 galactosamine에 의한 간독성에 유의성 있는 치료효과를 나타내었다(Table II).

Bergenin 및 acetylbergenin이 galactosamine에 의하여 유도된 간독성이 경감되는 기전이 포합반응에 의한 것인가를 추구할 목적으로 간 조직중의 GSH 함량을 관찰한 결과는 Table II에 나타낸 바와 같다. 간조직 중 GSH 함량은 galactosamine 대조군은 3.15 및 3.64 μmole/g of tissue로 정상군에 비해 약 40 % 감소하였고, bergenin 50, 100, 200 mg/kg 투여군은 3.98, 4.12, 4.21 mole/g of tissue를, acetylbergenin 25, 50, 100 mg/kg투여군은 4.37, 4.22, 4.23 mole/g of tissue를 보여 galactosamine 유발 간독성에 유의성있는 치료효과를 나타내었다.

GST는 간의 세포질에 주로 존재하는 가용성 단백질로 생체내 이물질의 대사와 배설에 중요한 역할을 하는 효소이다.[19)] 여러 가지 해독반응에서 체내에서 일차적으로 산화된 대사물을 포합하는 과정에서 내인성 반응체인 GSH을 이용하여 체내의 독성물질을 전이 분해시키는 glutathione S-transferase (GST)의 역할을 생각할 수 있다.[35-38)] 따라서 galactosamine에 의하여 유도된 간독성이 경감되는 현상이 GST활성과는 어떠한 연관성이 있는지를 관찰한 결과에서는, galactosamine 대조군은 정상군에 비하여 약 1/2배 활성의 감소를 나타내었으며, bergenin 및 acetylbergenin의 투여로 정상군 수준에 가깝게 증가됨을 관찰할 수 있었다(Table II). 또 다른 해독과정에는 필연적으로 GSH가 요구되며 이 물질의 세포내 함량 유지에는 합성계 효소와 해독반응 후 생성되는 산화형 GSH에 GR이 관여하고 있다.[39)] 본 실험에서는 bergenin 및 acetylbergenin 후투여한 후 GR의 활성을 측정한 결과, bergenin 및 acetylbergenin 투여군은 galactosamine으로 저하된 GR의 활성을 유의성있게 증가시켰다.

한편, 본 연구에서는 galactosamine으로 유도되는 간독성에 대하여 acetylbergenin이 bergenin보다 상대적으로 높은 치료효과를 나타내었다. 이러한 결과는 지질용해도가 높은 acetylbergenin이 세포막의 인지질을 통해 쉽게 흡수되어 높은 활성을 나타낸다고 사료된다.

이러한 결과를 종합하여 볼 때 bergenin 및 acetylbergenin에 의한 간독성의 치료작용 기전은 GSH를 매개로 한 해독과정에 관여하는 GST 및 생체내에서

GSH의 함량 유지에 관여하는 GR의 활성 유도작용에 기인되어 나타나는 것으로 생각되며, 이에 의해 유발되는 지질과산화의 생성을 예방할 수 있을 것으로 추측된다. 또한 galactosamine 유발 간독성에 bergenin 보다는 그 유도체인 acetylbergenin이 더 높은 치료효과가 있음을 확인할 수 있었다.

결 론

간기능 보호작용이 있는 예덕나무피 엑스의 활성성분을 검색하기 위하여 흰쥐에 galactosamine으로 독성을 유발한 후, bergenin 및 그 유도체인 acetylbergenin을 후투여한 후 간대사효소의 활성의 회복을 검토하였다. Bergenin 및 acetylbergenin은 galactosamine 중독에 의해 상승된 transaminase (ALT/AST), SDH 및 γ-GT 활성을 정상치 가까이 유지시켜 효소활성에 대한 보호작용이 있음을 확인하였다. Galactosamine으로 인한 지질과산화물의 생성과 GSH의 함량 감소를 bergenin 및 acetylbergenin이 유의성있게 억제하였다. Galactosamine 중독으로 저하된 GST 및 GR의 활성을 증가시켜 bergenin 및 acetylbergenin을 정상치 가까이 유지시켰다. 또한 galactosamine으로 유도되는 간독성에 대하여 acetylbergenin이 bergenin보다 상대적으로 높은 치료효과를 나타내었다.

인용문헌

1. 생약연구회 (1994) 현대생약학, 185. 학녕사, 서울.
2. (1996) 日本藥局方解說書. D-4, P 1. 廣川書林, 일본.
3. 喜多知子 (1971) アカメガシワ(Mallotus japonicus Muell. Arg.) の藥理學的 硏究. 西國醫誌. 27: 61-75.
4. 關田潔 등 (1979) 日本新藥株式會社 資料 P1.
5. Okada, T., Suzuki, T., Hasobe, S. and Kisara, K. (1973) Bergenin 1. Antiulcerogenic activities of bergenin. *Nippon Yakurigaku Zasshi-Folia Pharmacologica Japonica* 69: 369-378.
6. Swarnalakshmi, T., Sethuraman M. G., Sulochana, N. and Arivudainambi, R. (1984) A noe on the anti-inflammatory activity of bergenin. *Curr. Sci.* 53: 917.
7. Jahromi, M. A. F., Chansouria, J. P. N. and Ray, A. B. (1992) Hypolipidaemic activity in rats of bergenin, the major constituent of Flueggea microcarpa. *Phytother. Res.* 6: 180-183.
8. 岡田勉 등 (1975) 基礎와 臨床 9(5). 96. 日本.
9. Lim, H. K., Kim, H. S., Choi, H. S. and Choi, J. W. (1999) Protective and therapeutic effects of Malloti Cortex extract on carbon tetrachloride- and galactosamine-induced hepatotoxicity in rats. *J. Appl. Pharmacol.* 7: 35-43.
10. Kim, H. S., Lim, H. K., Chung, M. W. and Kim, Y. C. (2000) Antihepatotoxic activity of bergenin, the major constituent of *Mallotus japonicus*, on carbon tetrachloride-intoxicated hepatocytes. *J. Ethnopharmacol.* 69: 79-83.
11. Lim, H. K., Kim, H. S., Chung, M. W. and Kim, Y. C. (2000) Protective effects of bergenin, the major constituent of *Mallotus japonicus*, on D-galactosamine-intoxicated rat hepatocytes. *J. Ethnopharmacol.* 70: 69-72.
12. Kim, H. S., Lim, H. K., Lee, K. S., Chung, M. W., Jang, C. G. and Oh, S. (2000) Protective effects of bergenin derivatives against intoxication of rat hepatocytes by carbon tetrachloride and D-galactosamine. *J. Ethnopharmacol.* submitted.
13. (1993) 일본약국방외의약품규격. 151. 약업시보사, 일본.
14. Hay, J. E. and Haynes, L. J. (1958) Bergenin, a *C*-glycopyranosyl derivative of 4-O-methylgallic acid. *J. Chem. Soc.* 2231-2238.
15. Ramaiah, P. A., Row, L. R., Reddy, D. S., Anjaneyulu, A. S. R., Ward, R. S. and Pelter, A. (1979) Isolation and characterization of bergenin derivatives from Macaranga peltata. *J. Chem. Soc.* 2313-2316.
16. Reitman, S. and Frankel, S. (1957) A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin. Pathol.* 28: 56-63.
17. Szasz, G. (1969) A kinetic photometric method for serum γ-glutamyltranspeptidase. *Clin. Chem.* 15: 124-136.
18. Gerlach, U. (1965) Sorbitol dehydrogenase. *In* Bergmyer, H.U. (ed.), Methods of Enzymatic Analysis, 761. Elsevier, New York.
19. Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B. (1974) Glutathione *S*-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249: 7130-7139.
20. Mize, C. E. and Langdon, R. G. (1962) Hepatic glutathione reductase: I. Purification and general kinetic properties. *J. Biol. Chem.* 237: 1589-1595.
21. Ellman, G. L. (1595) Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.* 82: 70-77.
22. Ohkawa, H., Ohishi, N and Yagi, K. (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351-358.
23. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L, and Ran-

dall, R. J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
24. Zieve, L., Anderson, W. R. and Dozeman. R. (1988) Hepatic regenerative enzyme activity after diffuse injury with galactosamine: relationship to histologic alterations. *J. Lab. Clin. Med.* 112: 575-582.
25. Decker, K. and Keppler, D. (1973) Galactosamine-induced liver injury. *In* Popper, H. and Schaffer, F. (eds.), Progress in liver disease vol. 14, 183. Grune & Stratton, New York.
26. Wang, J. F. and Wendel, A. (1990) Studies on the hepatotoxicity of galactosamine/endotoxin or galactosamine/TNF in the perfused mouse liver. *Biochem. Pharmacol.* 39: 267-270.
27. Keppler, D., Lesch, R., Reutter, W. and Decker, K. (1968) Experimental hepatitis induced by D-galactosamine. *Exp. Mol. Pathol.* 9: 279-290.
28. El-Mofty, S. K., Scrutton, M. C., Serroni, A., Nicolini, C. and Farber, J. L. (1975) Early, reversible plasma membrane injury in galactosamine-induced liver cell death. *Am. J. Pathol.* 79: 579-595.
29. Lesch, R., Reutter, W., Keppler, D. and Decker, K. (1970) Liver restitution after acute galactosamine hepatitis: autoradiographic and biochemical studies in rats. *Expl. Mol. Pathol.* 12: 58-69.
30. Iller, E. C. and Miller, J. A. (1972) Hepatocarcinogenesis by chemicals. *In* Popper, H. and Schaffner, F. (eds.), Progress in liver disease. Vol. 5, 699. Grune & Stratton, New York.
31. Farber, J. L., Gill, G. and Konishi, Y. (1973) Prevention of galactosamine-induced liver cell necrosis by uridine. *Am. J. Pathol.* 72: 53-62.
32. Plaa, G. L. and Charbonneau, M. (1994) Detection and evaluation of chemically induced liver injury. *In* Hayes, A.W. (ed.), Principles and Methods of Toxicology, 839-870. Raven Press, New York.
33. Asada, M. and Galambos, R. J. (1963) Sorbitol dehydrogenase and hepatocellular injury: an experimental and clinical study. *Gastroenterology* 44: 578-587.
34. Whitfield, J. B., Pounder, R. E., Neale, G. and Moss, D. W. (1972) Serum -glutamyl traspeptidase activity in liver disease. *Gut* 13: 702-708.
35. Chance, B., Sies, H. and Boveris, A. (1979) Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.* 59: 527-605.
36. Matharoo, B., Faulder, G. C. and Strange, R. C. (1989) Alpha, mu and pi glutathione *S*-transferases: species (*Talpa europaea*) differences in their expression. *Comp. Biochem. Physio.* 94: 343-347.
37. Ploemen, J. H., van Ommen, B. and van Bladeren, P. J. (1990) Inhibition of rat and human glutathione *S*-transferase isoenzymes by ethacrynic acid and its glutathione conjugate. *Biochem. Pharmacol.* 40: 1631-1635.
38. Vos, R. M. and van Bladeren, P. J. (1990) Glutathione *S*-transferase in relation to their role in the biotransformation of xenobiotics. *Chem. Biol. Interact.* 75: 241-265.
39. Recknagel, R. O., Glende, E. A. Jr. and Britton, R. S. (1991) Free radical damage and lipid peroxidation. *In* Meeks, R. G., Harrison, S. D., Bull, R. J. (eds.), *Hepatotoxicology*, 401. CRC Press, Florida.

(2000년 9월 11일 접수)