

## Acetaminophen으로 유도한 쥐의 간 독성에 대한 미나리(*Oenanthe javanica*) 추출액의 간 보호 작용

박종철 · 김종연\* · 이윤주\* · 이지선\*\* · 김보금\*\* · 이승호\*\* · 남두현\*\*, #

순천대학교 한약자원학과, \*영남대학교 의과대학, \*\*영남대학교 약학대학

(Received June 20, 2008; Revised July 9, 2008)

### Protective Effect of *Oenanthe javanica* Extract on Acetaminophen-induced Hepatotoxicity in Rats

Jong Cheol Park, Jong Yeon Kim\*, Youn Ju Lee\*, Ji Seon Lee\*\*, Bo Geum Kim\*\*, Seung Ho Lee\*\* and Doo Hyun Nam\*\*, #

Department of Oriental Medicine Resources, Sunchon National University, Suncheon 540-742, Korea

\*College of Medicine, Yeungnam University, Daegu 705-717, Korea

\*\*College of Pharmacy, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

**Abstract** — The hepatoprotection by the methanol extract of *Oenanthe javanica* DC (water dropwort) (OJME) was investigated in Sprague Dawley rats with inducing liver damage by acetaminophen. After OJME administration for 1 week, the increase of hepatic lipid peroxide level by acetaminophen-induced hepatotoxicity was significantly reduced. In case of phase I microsomal enzyme systems including cytochrome P-450, aminopyrine N-demethylase and aniline hydroxylase, any significant differences between in control and in OJME-pretreated group was observed after acetaminophen treatment. However, the pretreatment of OJME maintained the hepatic glutathione level and the activity of liver cytosolic glutathione S-transferase, which was significantly decreased by the acetaminophen intoxication. Among the glutathione-generating system, glutathione reductase was more responsible for its biosynthesis rather than  $\gamma$ -glutamylcystein synthetase. OJME itself showed the strong inhibition activity on DPPH radical generation. In conclusion, OJME administration maintains the liver glutathione pool and hepatic glutathione S-transferase activity, in addition with its high anti-oxidative capability, to show hepatoprotective effect from acetaminophen intoxication.

**Keywords** □ water dropwort, *Oenanthe javanica*, acetaminophen, hepatoprotection, glutathione pool

알코올 섭취는 급성 또는 만성적인 신체적, 정신적 및 사회적 문제를 야기한다. 특히, 지속적인 알코올 섭취는 알코올성 지방간염, 알코올성 간 섬유증 및 알코올성 간 경변 등의 증상을 초래한다.<sup>1)</sup>

알코올성 간 질환과 이에 관련된 대사 장애에 대한 이해가 증가함에 따라, cytochrome P-450 의ethanol 대사 과정에서 발생하는 산화적 스트레스에 대응하기 위해 간의 glutathione 양에 영향을 줄 수 있는 새로운 치료법들이 제시되고 있다.<sup>2)</sup> 그 중 하나가 metadoxine(pyridoxol 및 L-2-pyrrolidone-5-carboxylate의

혼합체)으로, glutathione reductase 활성을 증가시켜 glutathione 고갈을 방지해 준다.<sup>3,4)</sup>

한국에서는 과음 후 숙취 해소를 위해 미나리 국을 먹어온 전통이 있어서, 이의 간 보호 작용에 대한 연구가 진행되어 왔다. 미나리의 잎과 줄기로부터 isorhamnetin sulfate, hyperin 및 persicarin이라는 3 종류의 flavonoid가 분리되었으며,<sup>5)</sup> 이 중 persicarin이 bromobenzene으로 유도한 쥐의 간 지질 과산화에 대한 보호 활성이 가장 큰 것으로 보고되었고,<sup>6)</sup> 또한 ethanol을 투여한 쥐에서 persicarin이 알코올 대사에 관여하는 효소의 활성을 증진시키는 것으로 알려졌다.<sup>7)</sup>

본 연구에서는 간 독성을 유발하는 대표적 약물인 acetaminophen을 이용하여, 미나리 추출액(OJME)을 전 처리한 쥐를 대상으로 약물 대사 과정에서의 간 보호 효과를 평가해 보았다.

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 053-810-2825 (팩스) 053-810-4654  
(E-mail) dhnam@ynu.ac.kr

## 실험 방법

### 미나리 추출액의 제조 및 분석

미나리는 경북 청도군 평양리에서 재배한 것(상품명; 청도 한재 미나리)을 현지에서 채취해서 사용하였으며, 지상부를 세척 후 1주일 음건하고, 600 g의 건조 미나리를 6 l methanol로 3시간 동안 환류하면서 추출하여 미나리 메탄올 추출액(*Oenanthe javanica* methanol extract; OJME)을 얻었다. 이를 진공건조하여 약 50~55 g의 잔류물을 얻었으며, 1% Tween 80 수용액에 용해하여 실험에 사용하였다.

이 추출액의 주 성분으로 알려진 persicarin의 함량을 조사하기 위해 고속 액체 크로마토그래피(high performance liquid chromatography; HPLC)를 실시하였다. 이 분석에서는 Shimadzu LC-6AD dual pump, SCL-10vp controller, SIL-AF auto injector, SPD-M 10Avp diode array detector(Shimadzu Co., Japan)를 사용하였으며, 30% 메탄올 수용액을 유출용매로 하여 Aquasil C18(5 μ, 250 × 4.6 mm) column을 통해 1 ml/min의 유속으로 유출하고, 유출액은 250 nm에서의 흡광도를 측정하여 검출하였다.

### 실험동물 및 처치

실험에 사용된 Sprague Dawley 쥐는 실험 1주일 전에 체중이 150~200 g인 것을 대한바이오링크(주)(충북 음성군)에서 구입하였으며, 수퍼피드(주)(강원도 원주시)의 rat pellet으로 식이하였다. 동물 사육실의 온도는 20±2°C, 습도는 60±5%로 유지하였으며, 12시간 간격으로 150~300 Lux의 조명을 실시하였다.

실험군은 각각 5마리씩으로 나누어, 체중 kg 당 100, 200 또는 250 mg의 OJME를 7일간 경구투여하고, 마지막 날 1% Tween 80을 포함한 acetaminophen(800 mg/kg 체중) 용액을 복강내 주사하였다. 한편 대조군에서는 1% Tween 80 용액만 주사하였다. Acetaminophen 투여 후 하루 금식시켰다가 이산화탄소로 질식시키고 복부정중선을 따라 절개한 후 복부대동맥에서 혈액을 채취하여 실혈사시켰다.

쥐의 간을 생리식염수로 관류하여 혈액을 제거한 후 적출하여 여지로 혈액 및 기타 부착물질을 제거하고, 이를 평량한 다음 4배 량의 0.1 M 인산 완충액(pH 7.4)을 가하여 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거하고, 상등액을 다시 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 이 상등액을 105,000×g에서 1시간 초원심분리하여 cytosol 분획과 microsome 분획으로 나누었으며, cytosol 분획은 glutathione S-transferase, glutathione reductase 및 γ-glutamylcysteine synthetase 활성 측정용 효소원으로, microsome 분획은 cytochrome P-450, aminopyrine N-demethylase 및 aniline hydroxylase 활성 측정

용 효소원으로 사용하였다. 이상의 모든 조작은 4°C 이하에서 행하였다.

### 분석 방법

지질 과산화물은 thiobarbituric acid 반응성 물질의 양을 측정하여,<sup>8)</sup> malondialdehyde 양으로 산정하였다. Cytochrome P-450의 활성은 이산화탄소 기포와 반응하여 생성된 cytochrome P-450 CO 복합체의 흡광도를 450~490 nm에서 측정하여, 반응 전 후의 흡광도 차이로부터 이의 흡광계수를 이용하여 산정하였다.<sup>9)</sup> Aminopyrine N-demethylase의 활성은 NADPH 존재하에서 aminopyrine의 demethyl화에 의해 생성되는 formaldehyde 량을 Nash 용액으로 측정하였다.<sup>10)</sup> Aniline hydroxide의 활성은 탄산나트륨으로 발색시킨 후 생성된 p-aminophenol 량을 640 nm에서 측정하였다.<sup>11)</sup> Glutathione S-transferase 활성은 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 반응하여 생긴 glutathione 2,4-dinitrobenzene 접합체의 량을 340 nm에서 측정하였다.<sup>12)</sup> γ-Glutamylcysteine synthetase에 의해 생성된 γ-glutamylcysteine의 량은 molybdic acid와 aminonaphthol sulfonic acid로 반응시켜 600 nm에서 분석하였다.<sup>13)</sup> Glutathione reductase의 활성은 산화 glutathione의 환원에 사용된 NADPH 량을 340 nm에서 측정하였다.<sup>14)</sup> 간 조직 내 glutathione 량은 sulfosalicylic acid로 발색시켜 560 nm의 흡광도에 의해 분석하였다.<sup>15)</sup> 자유기 소거활성은 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazone(DPPH)기에 대한 환원력으로 분석하였으며,<sup>16)</sup> 단백질 량은 bovine serum albumin을 표준물질로 Lowry 법<sup>17)</sup>으로 측정하였다. 모든 자료는 Duncan's multiple range test로 통계 처리하였다.

## 실험 결과

### 미나리 추출액 중의 persicarin 함량

미나리 성분 중 bromobenzene에 의한 간 독성에 대한 간 보호 효과를 보인 성분이 persicarin이기 때문에,<sup>6)</sup> 본 연구에 사용된 미나리 추출물(OJME) 내 persicarin 함량을 고속 액체 크로마토그래피(HPLC)로 분석한 결과, 메탄올 추출액에서는 0.23%, 이를 건조한 고형물 내에는 7.7% 함유되어 있었다(Fig. 1).

### 미나리 추출액의 간 보호 효과

Sprague Dawley 쥐에 미나리 추출액(OJME)을 100, 200 또는 250 mg/kg/일의 용량을 1주일간 투여한 후 acetaminophen 800 mg/kg을 복강내 투여하고 하루 뒤 간 독성 유발 정도를 조사하였다. Acetaminophen을 처리한 대조군의 간 지질 과산화물은 40.8±3.96 nmole/g으로 정상군에 비해 1.8배 증가하였으나, OJME를 200 mg/kg/day 투여한 군에서는 acetaminophen 투여에 의한 지질 과산화물 생성 증가가 70% 이상 저해되어 간 보

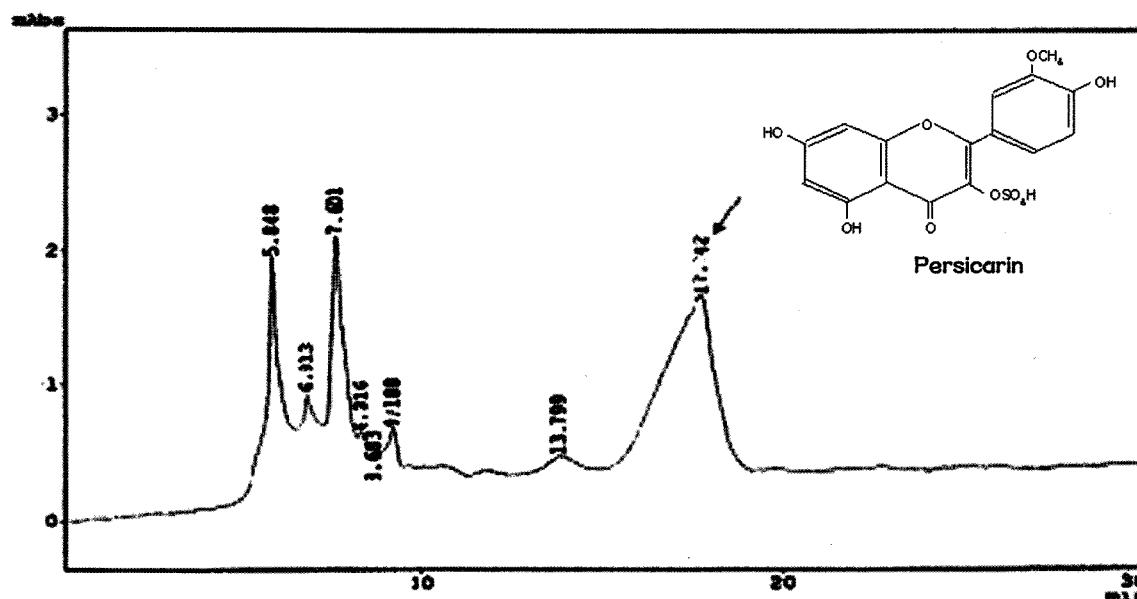


Fig. 1 – High performance liquid chromatographic pattern of OJME. The retention time of persicarin, a major constituent of OJME, was  $16.3 \pm 1.5$  min.

Table I – Effect of OJME administration on the production of hepatic lipid peroxides caused by acetaminophen-induced hepatotoxicity

Group	Dose (mg/kg)		Content of malondialdehyde (nmole/g of tissue)
	OJME	Acetaminophen	
Control	0	0	$22.6 \pm 1.03$
Acetaminophen	0	800	$40.8 \pm 3.96$
OJME + Acetaminophen	100 200 250	800	$33.6 \pm 2.86$ $28.7 \pm 3.21$ $27.9 \pm 2.43$

The Sprague Dawley rats ( $n=5$  for each experimental group) were pretreated with OJME for 1 week, and hepatotoxicity was induced by intraperitoneal injection of acetaminophen. One day after, rats were sacrificed and the content of lipid peroxides in liver tissue cells was determined. The values are presented as the amount of malondialdehyde in the manner of mean  $\pm$  S.D ( $p < 0.05$ ).

호 효과를 나타내었다(Table I).

OJME 투여가 acetaminophen 대사에 관여하는 제I상 microsome 효소계에 미치는 영향을 조사한 결과, acetaminophen 투여군에서 cytochrome P-450, aminopyrine N-demethylase 및 aniline hydroxylase의 활성이 현저히 증가하였다. OJME 투여 군에서도 마찬가지로 acetaminophen에 의한 microsome 효소계의 활성이 대조군과 비슷한 수준으로 증가하여, 간 보호에 있어서의 뚜렷한 기여를 관찰하지 못했다(Table II).

Cytosol의 glutathione S-transferase의 경우, acetaminophen 투여 시 그 활성이 대조군의 55% 수준으로 감소하였지만, OJME를 투여한 군에서는 acetaminophen으로 독성을 유발했을 때에도 정상 대조군의 약 80% 정도의 활성을 유지하였다(Table III). 또한 간 세포 내 glutathione 양을 측정하였을 때에도 이와 비슷한 양상을 보였는데, acetaminophen으로 간 독성을 유발한 쥐에

Table II – Effect of OJME administration on the activities of phase I enzyme systems in liver microsome when hepatotoxicity was induced by acetaminophen

Group	Dose (mg/kg)		Cytochrome P-450 (nmole/mg protein)	Aminopyrine N-demethylase (nmole/mg protein/min)	Aniline hydroxylase (nmole/mg protein/min)
	OJME	Acetaminophen			
Control	0	0	$0.52 \pm 0.05$	$0.62 \pm 0.09$	$3.98 \pm 0.12$
Acetaminophen	0	800	$0.92 \pm 0.09$	$1.38 \pm 0.27$	$7.26 \pm 0.46$
OJME + Acetaminophen	100 200 250	800	$1.06 \pm 0.12$ $0.90 \pm 0.09$ $0.97 \pm 0.10$	$1.42 \pm 0.32$ $1.33 \pm 0.29$ $1.36 \pm 0.37$	$7.63 \pm 0.54$ $7.41 \pm 0.38$ $6.89 \pm 0.33$

The Sprague Dawley rats ( $n=5$  for each experimental group) were pretreated with OJME for 1 week, and hepatotoxicity was induced by intraperitoneal injection of acetaminophen. One day after, rats were sacrificed and the activities of the phase I enzyme systems in liver microsomal fraction were determined. The values are expressed as mean  $\pm$  S.D ( $p < 0.05$ ).

**Table III** – Effect of OJME administration on the activities of acetaminophen-detoxification system in liver cells

Group	Dose (mg/kg)		Glutathione content μmole/g of tissue	Glutathione S-transferase nmole/mg protein/min
	OJME	Acetamino-phen		
Control	0	0	6.28±0.54	260.7±17.3
Acetaminophen	0	800	3.27±0.36	143.6±12.4
	100	800	4.91±0.46	188.4±15.4
OJME+Acetaminophen	200	800	5.56±0.51	202.6±16.6
	250	800	5.89±0.48	219.7±14.3

The Sprague Dawley rats ( $n=5$  for each experimental group) were pretreated with OJME for 1 week, and hepatotoxicity was induced by intraperitoneal injection of acetaminophen. One day after, rats were sacrificed and the activities of liver cytosolic glutathione S-transferase and the content of glutathione pool in liver cells were determined. The values are expressed as mean±S.D ( $p<0.05$ ).

**Table IV** – Effect of OJME administration on the glutathione-generating system in liver cells

Group	Dose (mg/kg)		Glutathione reductase nmole/mg protein/min	$\gamma$ -Glutamylcysteine synthetase nmole/mg protein/min
	OJME	Acetamino-phen		
Control	0	0	23.4±9.2	14.2±2.8
Acetaminophen	0	800	12.7±2.6	17.2±3.6
	100	800	17.8±3.6	15.4±4.3
OJME+Acetaminophen	200	800	21.4±4.0	14.7±4.2
	250	800	21.9±2.8	15.0±3.5

The Sprague Dawley rats ( $n=5$  for each experimental group) were pretreated with OJME for 1 week, and hepatotoxicity was induced by intraperitoneal injection of acetaminophen. One day after, rats were sacrificed and the activity of liver glutathione-generating enzyme system was determined. The values are expressed as mean±S.D ( $p<0.05$ ).

**Table V** – Effect of OJME on the inhibition of DPPH radical generating system

OJME (μg/ml)	Inhibitory rate (%)	Compound	IC <sub>50</sub> ±S.E. (μg/ml)
5	28.13±1.19	isorhamnetin	5.60±0.16
10	78.13±1.61	uracil	49.06±9.36
25	93.13±0.71	adenosine	50.68±1.77
50	99.58±1.38	persicarin	12.77±0.70
		ascorbic acid <sup>a</sup>	3.77±2.22

<sup>a</sup>Ascorbic acid was used as positive control. The data was shown as mean±S.E. ( $n=5$ ).

서는 간 glutathione 량이 정상군의 절반 정도로 감소하였으나, OJME 투여군에서는 acetaminophen 투여에도 불구하고 약 90%의 glutathione 량을 보유하고 있었다.

간 세포에서 glutathione 생합성에 관여하는 glutathione reductase 및  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase의 활성을 조사한 결과, glutathione reductase의 경우 acetaminophen 투여로 인해 활성이 절반 정도 감소하였으나, OJME를 투여한 군에서는 acetaminophen 투여에도 불구하고 약 90%의 효소 활성을 나타내었다(Table IV). 그러나  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase의 경우 OJME 투여군에서 대조군에 비해 뚜렷한 활성 변화를 관찰할 수 없었다.

#### 미나리 추출액의 활성산소 소거 효과

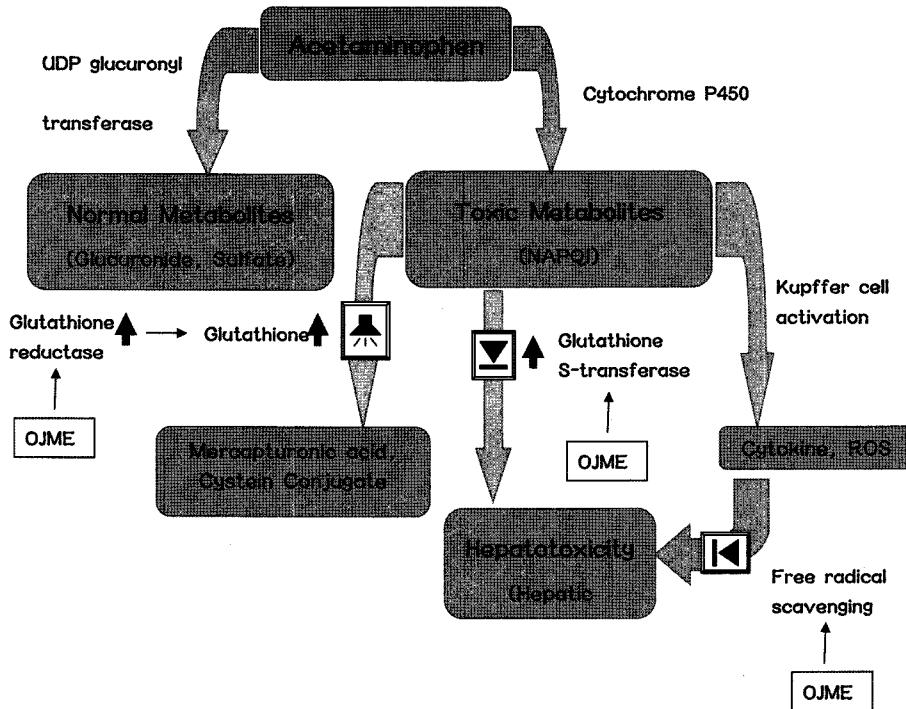
OJME의 자유기기에 대한 소거 활성을 측정한 결과, DPPH 자

유기 생성에 미치는 영향을 조사한 결과, 10 μg/ml의 OJME에서는 78%, 25 μg/ml 농도에서는 93%의 매우 강한 억제 활성을 보였다(Table V). 미나리 성분 중에서는 isorhamnetin이 DPPH 자유기 생성에 대한 가장 강한 항산화 활성을 나타내었다.

#### 고 찰

Acetaminophen은 상용하는 진통 해열제이지만, 과량 복용하거나 드물게는 치료 용량에서도 급성 간 손상을 유발하며,<sup>18)</sup> 정기적으로 음주하거나 절식한 사람들은 acetaminophen에 의한 간 독성에 훨씬 민감해진다.<sup>19)</sup> 일반적으로 치료 용량의 acetaminophen은 microsome의 UDP glucuronyl transferase와 cytosol의 sulfotransferase에 의해 무해한 대사체로 바뀌지만, 소량은 cytochrome P-450에 연계된 oxidase 계에 의해 반응성 N-acetyl-p-benzoquinone imine(NAPQI)로 전환되며, 이는 간 세포에 저장된 glutathione에 의해 무독화된다.<sup>20)</sup> 그러나 acetaminophen의 과량 복용은 상기의 glucuronidation 경로 및 sulfation 경로를 포화시키게 됨에 따라 많은 acetaminophen이 cytochrome P-450에 의해 산화되어진다. 이렇게 하여 생성된 NAPQI가 증가하게 되면 간 세포 내 glutathione이 고갈되게 되고, 따라서 이 반응성 NAPQI가 간 조직에 결합하여 간 독성을 유발한다.

본 연구에서는 Sprague Dawley 쥐에서 acetaminophen에 의해 유도된 간 손상에 대한 미나리 추출물(OJME)의 투여가 나타



**Fig. 2 –** The metabolic pathway of acetaminophen in liver tissue and hypothesis of hepatoprotection mechanism by OJME administration. Even though most acetaminophen is metabolized *via* glucuronidation and sulfation, a small amount is converted to the toxic metabolite by the action of cytochrome P450, and normally detoxified by hepatic glutathione pool. In this viewpoint, OJME administration prevents the depletion of hepatic glutathione pool by glutathione reductase as well as glutathione S-transferase. Furthermore, good anti-oxidative activity of OJME can support the scavenging capability of reactive oxygen radical in liver tissue, which can prevent liver tissue from hepatic necrosis.

내는 간 보호 활성을 조사하였다. 간 독성의 지표로 간 조직 내 지질 과산화물의 량을 조사한 결과, acetaminophen을 투여했을 때 지질 과산화물이 현저히 증가하였으나, OJME 투여군에서는 acetaminophen에 의한 지질 과산화로부터의 보호 효과를 나타내었다.

간의 제P<sub>450</sub> microsome 효소인 cytochrome P-450, aminopyrine N-demethylase 및 aniline hydroxylase 효소 활성에서는 OJME 투여군에서도 대조군과 마찬가지로 acetaminophen 투여에 따라 증가하였으며, 이들간의 유의성있는 차이를 관찰할 수 없었다. 그러나, OJME 투여군에서는 acetaminophen의 독성에도 불구하고 간 세포의 glutathione 함량과 cytosol의 glutathione S-transferase 활성을 잘 유지하였다. 특히 OJME 투여에 의해 유지된 간 세포의 glutathione은 acetaminophen의 독성 대사체인 NAPQI와 결합하고, glutathione S-transferase의 작용에 의해 무독성 물질로 전환하는 것으로 보인다(Fig. 2). 즉, OJME 투여에 따른 glutathione S-transferase 활성 및 간의 glutathione 함량 유지는 NAPQI를 제거하여 간 세포 내 거대분자들과의 결합을 저해함으로써 간 세포의 사멸을 억제하는 것으로 보인다.

이러한 glutathione 함량 유지를 위한 합성에는  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase 보다 glutathione reductase가 주로 관여하는

것으로 관찰되었다. 즉 OJME 투여군에서는 acetaminophen 투여에도 불구하고 glutathione reductase 활성이 저해되지 않았다.

또한, cytochrome P-450에 의해 생성된 acetaminophen의 독성 대사체인 NAPQI는 간의 Kupffer 세포를 활성화시켜 여러 cytokine 및 활성 산소종(reactive oxygen species; ROS)을 생산함으로써 간 세포의 괴사에 중요한 역할을 한다(Fig. 2). 따라서 OJME의 자유기 생성 억제 활성을 조사한 결과, OJME는 DPPH 자유기 생성을 거의 완벽하게 억제할 수 있었으며, 구성 성분 중에는 isorhamnetin이 가장 높은 항산화능을 보였다.

이상의 결과를 종합하면, OJME 투여는 간 세포의 glutathione 함량을 유지시켜 주고, glutathione S-transferase 활성을 증진시킴과 동시에, 높은 항산화능을 지녀 acetaminophen에 의한 간 독성으로부터 간 세포 손상을 보호해 주는 것으로 추정된다.

## 결 론

본 연구에서는 Sprague Dawley 쥐를 대상으로 미나리 추출액(OJME)을 1주일 투여한 후, acetaminophen으로 간 독성을 유발하였을 때 OJME 투여에 간 보호에 미치는 영향을 조사하였다. 지질 과산화물의 경우 대조군에서는 acetaminophen 투여에 의

해 현저히 증가하였으나, OJME 투여군에서는 그다지 증가하지 않았다. Acetaminophen 투여 후 cytochrome P-450, aminopyrine N-demethylase 및 aniline hydroxylase 등 세포상 microsome 효소계는 대조군이나 OJME 투여군 모두 활성이 증가하여 간 보호 효과를 관찰할 수 없었다. 그러나 OJME 투여군에서는 간의 glutathione 함량과 cytosol의 glutathione S-transferase 활성을 잘 유지하여 acetaminophen 독성을 낮추었으며, 이러한 glutathione의 합성은 주로 glutathione reductase에 의해 일어나는 것으로 밝혀졌다. 또한 OJME는 DPPH 자유기 생성을 강하게 억제하는 강한 항산화능을 보였다. 이상의 결과로부터 취를 대상으로 한 OJME 투여는 간의 glutathione 함량 및 glutathione S-transferase 활성 유지와 자체의 항산화능에 의해 acetaminophen에 의해 유발된 간 손상으로부터 간 보호 활성을 나타내는 것을 알 수 있었다.

### 감사의 말씀

본 연구는 산업자원부 지역산업기술개발사업(과제번호 100153953)으로 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- 1) Menon, K. V., Gores, G. J. and Shah, V. H. : Pathogenesis, diagnosis, and treatment of alcoholic liver disease. *Mayo Clin. Proc.* **76**, 1021 (2001).
- 2) Stickel, F., Hoehn, B., Schuppan, D. and Seitz, H. K. : Nutritional therapy in alcohol liver damage. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **18**, 357 (2003).
- 3) Calabrese, V., Bombaci, G., Calderone, A. and Rizza, V. : Effects of metadoxine on cellular free fatty acid levels in ethanol treated rats. *Int. J. Tissue React.* **15**, 235 (1993).
- 4) Calabrese, V., Calderone, A., Ragusa, N. and Rizza, V. : Effects of metadoxine on cellular status of glutathione and of enzymatic defence system following acute ethanol intoxication in rats. *Drugs Exp. Clin. Res.* **22**, 17 (1996).
- 5) Park, J. C., Young, H. S., Yu, Y. B. and Lee, J. H. : Isorhamnetin sulphate from the leaves and stems of *Oenanthe javanica* in Korea. *Planta Med.* **61**, 377 (1995).
- 6) Park, J. C., Yu, Y. B., Lee, J. H., Hattori, M., Lee, C. K. and Choi, J. W. : Protective effect of *Oenanthe javanica* on the hepatic lipid peroxidation in bromobenzene-treated rats and its bioactive component. *Planta Med.* **62**, 488 (1996).
- 7) Park, J. C. and Choi, J. W. : Effects of methanol extract of *Oenanthe javanica* on the hepatic alcohol-metabolizing enzyme system and its bioactive component. *Phytother. Res.* **11**, 260 (1997).
- 8) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. : Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351 (1979).
- 9) Omura, T. and Sato, R. : The carbon monooxide binding pigments of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.* **239**, 2370 (1964).
- 10) Nash, T. : The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hentisch reaction. *J. Biol. Chem.* **55**, 412 (1953).
- 11) Bidlack, W. R. and Lowery, G. L. : Multiple drug metabolism: *p*-nitro-anisole reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation. *Biochem. Pharmacol.* **31**, 311 (1982).
- 12) Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B. : The first step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* **249**, 7130 (1974).
- 13) Meister, A. and Richman, P. G. : Regulation of  $\gamma$ -glutamylcysteine synthesis by nonallosteric feedback inhibition by glutathione. *J. Biol. Chem.* **250**, 1422 (1975).
- 14) Mize, C. E. and Langdon, R. G. : Hepatic glutathione reductase. I. Purification and general kinetic properties. *J. Biol. Chem.* **237**, 1589 (1962).
- 15) Boyne, A. F. and Ellman, G. L. : A methodology for analysis of tissue sulphydryl components. *Anal. Biochem.* **46**, 639 (1972).
- 16) Hatano, T., Edamatsu, R., Hiramatsu, M., Mori, A., Fujita, Y., Yasuhara, T. and Okuda, T. : Effects of the interaction of tannins with co-existing substance. VI. Effects of tannins and related polyphenols and superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 2016 (1989).
- 17) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
- 18) McClain, C. J., Price, S., Barve, S., Devalarja, R. and Shedlofsky, S. : Acetaminophen hepatotoxicity: an update. *Curr. Gastroenterol. Rep.* **1**, 42 (1999).
- 19) Schioldt, F. V., Rochling, F. A., Casey, D. L. and Lee, W. M. : Acetaminophen toxicity in an urban county hospital. *New Engl. J. Med.* **337**, 1112 (1997).
- 20) McClain, C. J. : Clinical features of acetaminophen toxicity. *J. Clin. Gastroenterol.* **10**, 76 (1988).