

무(*Raphanuse sativa* var. *nigra* L.) 물 추출물로 부터 장기능 및 변비질환 개선을 위한 활성 분획의 제조

백순옥 · 김현경* · 이유희 · 김영숙 · 류명현

KT&G 중앙연구원

(2004년 7월 7일 접수, 2004년 9월 8일 수리)

본 연구는 장기능 개선 및 변비 질환의 예방 및 치료에 효과적인 천연 식품인 무(*Raphanuse sativa* var. *nigra* L.)로부터 추출, 정제된 조성물, 보다 상세하게는 무의 물 추출물에서 정제 분획된 분자량 3-10 kDa가 주성분으로 장기능 및 변비 질환의 개선 효과를 가지는 조성물에 관한 것이다. 무의 물 추출물을 Balb/C mice를 이용한 활성탄 식이의 장 이동 효과와 SD rats를 이용한 loperamide-induced constipation method에 의한 항변비 효과를 검색하였다. 또한 항변비 효과 검색을 종료한 후, 희생한 흰쥐의 대장관 내 점액질 분비 효과를 조사하였다. 특히, 대장에 많이 존재하는 MUC2 분비 효과를 알아보고자 하였다. 무의 물 추출물은 식수만 투여한 대조군에 비해 용량에 비례해서 활성탄 식이의 장 이동 효과가 현저하게 증가되었고, 다양한 용매 분획에서는 무의 물 분획이 가장 큰 장 이동 효과를 나타내어, 물 분획이 장 이동을 촉진시키는 활성 물질이 가장 많이 함유된 분획으로 확인할 수 있었다. 또한 물 분획을 분자량 크기로 3 kDa 이하, 3-10 kDa, 10-300 kDa, 300 kDa 이상의 4가지 세 분획으로 나누어 활성탄 식이의 장 이동 효과를 조사한 결과, 이들 세 분획중에서 3-10 kDa의 분자량을 가진 분획이 주요 구성 물질로 장 이동 촉진 효과를 보였다. Loperamide를 이용해 3-10 kDa의 변비해소 작용을 알아본 결과에서도 무 물분획(3-10 kDa) 투여로 변비 유발기간 내내 변량이 증가되었으며, 변비 유발군에 비해, 사료 섭취량의 증가는 변비 유발 물질인 loperamide를 계속 섭취함에도 불구하고 변비가 해소되고 있음을 확인할 수 있었다. 무 물분획(3-10 kDa)의 대장관내 점액질의 분비에 미치는 영향을 조사한 결과에서도, 대장관 내 변의 개수가 정상군과 거의 같은 수준의 변 개수가 관찰되어 배변촉진 효과가 확인 되었고, 항체(Biogenex AM358)를 사용하여 면역조직 화학법으로 MUC2 관찰시, 변비 유발군에서는 MUC2로 염색된 세포가 현저하게 감소되나, 무 물분획(3-10 kDa) 투여시 뚜렷하게 MUC2 염색이 증가되었다.

Key words: 장기능개선, 배변개선, 대장, 무 물추출물, 3-10KD 분획물, 활성탄식이, 항변비 유발 모델, 로페라미드, MUC2

서 론

본 연구는 장기능 개선 및 변비 질환의 예방 및 치료에 효과적인 천연 식품인 무(*Raphanuse sativa* var. *nigra* L.)로부터 추출, 정제된 조성물에 관한 것으로서, 보다 상세하게는 무의 물 추출물에서 정제 분획된 분자량 3-10 kDa가 주성분으로 장기능 및 변비 질환의 개선 효과를 가지는 조성물에 관한 것이다. 무의 기능성 식품소재 및 각종 응용제품에 대한 탐색 연구^{1,2}로서 무에 대한 여러 가지 생리활성증 장기능 개선 효과를 갖는 가능성을 검토하고자 하였다.

근래의 식생활은 생활 수준의 급속한 향상으로 인해 고지방과 고단백질이 함유된 육류와 인스턴트 식품 등의 고칼로리를 가지는 식품의 섭취가 증가된 반면에 야채나 섬유질을 함유하는 식품의 섭취가 감소됨으로서 성인병과 비만 환자가 날로 증가되고 있는 추세에 있음은 잘 알려진 사실이다.³⁾

변비는 예로부터 만병의 근원으로 일컬어지고 있으며, 식욕이 없고 늘 복부가 팽만한 상태에 있을 뿐 아니라 배설되지 못

한 변의 독소가 장으로 흡수되어 혈액에 흡수됨으로서 피부노화를 촉진시키고 두통이나 여드름, 피부 발진 등이 나타나며, 변비가 심하면 배변시 치열의 파손과 치핵의 탈출 등 치질의 원인이 되고, 심하면 대장암까지 발생된다.^{6,7)} 이와 같이 변비는 문화수준이 높은 나라에서 많이 발생하게 되는데, 특히 직장 여성이나 사무직 종사자들이 변비로 인해 많은 고통을 받고 있다. 변비(constipation)는 1주일에 2회 이하 변을 보며 대변량이 35 g 이하인 경우를 말하는 것으로 운동 부족이나 스트레스가 누적되면 장관운동이 저하되고, 변의 이동 능력이 떨어지기 때문이다.⁷⁾ 변비증(constipation)은 결장 안에 대변이 보통 시간 이상 머물러 있는 경우를 말하는 것으로서, 대변은 음식을 섭취하고 보통 12 내지 72시간 후에 배설되는데, 섭취하는 음식의 형태는 배변시간에 영향을 준다.⁸⁾ 즉, 섬유질이 많은 음식은 장에서 액체를 흡수하여 부피를 증가하고 배설물을 만들며 배설을 할 수 있게 자극을 주는 데 반하여 섬유질이 적은 것은 이와 반대의 현상을 일으킨다. 변비 자체는 병이 아닌 증상이라고 할 수 있으나, 변비로 인한 장내 이상 발효로 생긴 유독가스(황화수소, 니트로소아민, 암모니아, 페놀) 등으로 인한 두통, 시력장애, 알레르기의 원인이 되고, 복통, 정신질환(우울증), 피부질환(여드름 등), 구취, 대장질환(치질, 대장암 등), 동맥경화, 고혈압, 뇌졸중, 면역결핍 등 다양하고 심각한 2차 질

*연락처

Phone: 82-42-866-5382; Fax: 82-42-866-5396

E-mail: kimhk4@hotmail.com

환의 원인이 되므로 적극적인 예방과 치료가 필요하다.⁹⁾ 변비를 개선시키고 장기능을 원활히 하는 요법으로 식이섬유, 수분 섭취, 운동 등이 모든 변비에 대한 치료 요법의 기본으로 시도되고 있으며, 이차적으로 사용되는 변비치료 약물로서 하제는 그 효과가 일시적이고 종류에 따라서 여러 가지 부작용을 유발한다. 특히, 자극성 하제의 경우 장기 연용시 그 효력이 점차 감소되고, 더우기 장기 복용시 장근 신경총이 파괴되어 “하제형 대장”이 되어 대장 기능을 상실할 수도 있다.^{10,11)}

보통 한방약이나 생약성분은 부작용이 없다고 인식되고 있으나, 현재 사용하고 있는 한방 하제는 대부분 센나, 대황 등의 안트라퀴논 유도체 성분이 함유된 약재를 사용하고 있는데, 이는 자극성 하제에 속하여 매일 복용하거나 특히 임신중에는 복용 금기이다.

변비를 해소하기 위한 기능성 식품소재 중 가장 일반적인 것이 식이섬유이고 이외에도 다시마, 야콘, 삼백초, 결명자차, 둥근자차, 알로에, 해조류등을 포함하는 다양한 식품이 판매되고 있으나, 과학적으로 그 효과가 충분히 입증되었는가에 의문시되고 있다. 상기의 문제를 해결하기 위하여 다양한 방법들이 연구되어 오고 있으며,^{12,13)} 그 결과 다양한 의약품 또는 식품 등이 개발되어 오고 있다. 이와 같이, 천연 식물을 이용하여 장기능 및 변비를 해결하고자 하는 많은 연구가 진행되어 왔으며,^{14,15)} 본 연구자도 이에 착안하여 장기능 및 변비 개선용 생약을 연구하여 무 및 차를 필수적으로 함유하는 수종의 생약 조성물을 개발한 바 있다. 더 나아가 이 조성물중 주요 배합제인 무로부터 추출, 정제된 조성물로서 분자량이 3-10 kDa이 주요 활성 분획 구성 물질로 장기능 개선 및 변비 질환의 개선에 효과가 있는지 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약. 무의 종류로는 우리나라 가을-초겨울에 가장 많이 생산되는 청운무(홍농종묘)를 재래시장에서 구입하여 사용하였다. 추출 용매로 사용한 정제수는 3차 증류수를 사용하였으며, 기타 유기용매로는, ethyl ether, *n*-butanol 등은 E.P급 일반 시약을 사용하였다.

Charcoal meal(Sigma Co., Ltd, USA), arabic gum(Sigma Co., Ltd, USA), loperamide(Sigma Co., Ltd, USA), cremophor(Aldrich Co., Ltd, USA) 등의 재료를 사용하였다.

무 추출물의 제조. 무(홍농종묘)를 세절하여 건조후 100 g을 10배량인 물 1000 ml를 가하여 100°C에서 2시간 추출하였으며, 이 추출물을 농축전에 여과지(Whatman No. 42)를 사용하여 여과하였으며, 얻어진 추출액을 감압농축기(Buchi R020 Germany)를 사용하여 감압 농축한 후 동결 건조한 열수 추출물, 또는 생무를 세절하거나 즙을 내어 상기와 같이 감압 농축한 후 동결 건조한 착즙 추출물을 각각 시료로 사용하였다.³⁾

무 추출물로부터 용매 분획의 제조. 무의 10 g을 10배량의 정제수 100 ml에 녹이고 동량의 에틸 에테르로 상온에서 진탕하여 에틸 에테르로 분획한 후 에틸 에테르 분획물을 제조하였고 남은 수층에 *n*-butanol 100 ml를 가하고 상온에서 진탕하여 분획하여 *n*-butanol 분획을 제조하였으며 남은 수층은 물 분획

으로 하였다. 각 용매 분획은 감압 농축하여 시료로 사용하였다.³⁾

무 물추출물 분획으로 부터 세 분획의 제조. 무의 열수 물추출물 분획 10 g을 정제수 100 ml에 녹인후 ultra filtration으로 분자량에 따라 3 kDa 이하, 3-10 kDa, 10-300 kDa, 300 kDa 이상의 분자량으로 4부분으로 세 분획 한 후, 동결 건조하여 시료로 사용하였다.

활성탄 식이(charcoal meal) 이동에 대한 효과. 실험동물은 평균 체중 24 내지 26 g의 Balb/C 웅성 마우스(대한바이오링크, 음성)를 사용하여 대조군과 시험군으로 나누어 각 군당 8마리로 구성하여 실험하였다. 즉, 시험군에는 무 추출물을 0.36, 0.72, 1.5 mg/ml 농도로 식수에 녹여 3일간 투여한 후, 4일째 18시에 절식을 실시하였다. 절식중에도 무 추출물은 계속 투여하였다. 대조군은 동일한 방법으로 처리하였으나 생약 조성물이 함유되지 않은 식수만을 투여하였다. 5일째 9시에 각 생약 조성물을 마리당 0.9, 1.8, 3.6 mg(0.2 ml)을 경구투여하고 60분 후 활성탄과 아라비아검을 각 5% 및 10%의 중량비로 혼합된 활성탄 식이 0.2 ml를 경구 투여한 후, 30분 뒤 희생시켜 위장관을 적출하였다. 활성탄 식이가 십이지장에서부터 회장(回腸)까지의 장관거리중 이동율(R_t)을 조사하였다.¹²⁾

무 세분획(3-10 kDa)의 변비 해소 작용. 동물모델로 웅성의 평균 체중 220-240 g 정도의 Sprague Dawley rats(대한바이오링크, 음성)를 1군당 8 내지 10 마리를 사용하여 대사 케이지에서 3일간 순화 적응시키고, 4일째부터 사료 3 g당 로페라마이드 1 mg을 함유하는 사료를 공급하여 변비를 유도하였다. 변비를 유발하는 로페라마이드 처리군에는 식수만을 공급하였으며, 투여군은 무 열수추출물 세분획(3-10 kDa)을 일정한 농도로 식수에 녹여 공급하였으며 실험 종료시까지 투여하였다. 변은 매일 채취하여 무게를 측정하였다.^{13,14)}

무 세분획(3-10 kDa)의 대장관내 점액질의 분비에 미치는 효과. 변비유발 모델의 변량 등의 관찰실험을 종료한 후 희생시킨 흰쥐를 맹장에서 직장까지를 적출하여 10% formaldehyde(phosphate buffered saline, pH 7.4)인삼염 완충 용액에 고정시켜 대장관 내에 존재하는 변 덩어리(feces pellet)의 숫자를 관찰 하였다. 또한 대장관내 점액질의 분비 유도 효과는 점액질 분비 세포 활성도를 광학 현미경으로 100배 내지 200배의 배율에서 관찰하였다.^{15,16)}

결과 및 고찰

무 물 추출물의 활성탄 식이(charcoal meal) 이동에 대한 효과. 무의 열수 물 추출물을 0.36, 0.72, 1.5 mg/ml 농도별로 활성탄 식이가 십이지장에서 회장까지의 장관거리중 이동율(R_t)을 조사한 결과는 다음과 같다(Table 1).

식수만 투여한 대조군에 비해 용량에 비례해서 Water extract III(1.50 mg/ml + 3.6 mg/h) 추출물이 활성탄 식이의 장 이동 효과가 현저하게 증가되었다. 즉, 무의 열수 물 추출물이 현저한 배변 촉진 효과가 있음을 알 수 있었다.

각 용매 분획의 활성탄 식이 이동에 대한 효과. 무 추출물의 각 용매분획의 활성탄 식이 이동에 대한 효과는 무의 물 추출물의 활성탄 식이와 동일한 방법으로 장관 이동성을 측정하

Table 1. Effect of water extracts of radish on charcoal meal transit in Balb/C mice

Experimental groups (mg/ml ¹⁾ + mg/h ²⁾	Shifting distance ³⁾ (R)	Transit ⁴⁾ (%)
Control	0.50±0.05	100.0
Water extract I (0.36+0.9)	0.54±0.08	108.0
Water extract II (0.72+1.8)	0.57±0.11	114.0
Water extract III (1.50+3.6)	0.68±0.25**	136.0

¹⁾Concentration in tap water, ²⁾Oral injection volume (0.2 ml/head)
³⁾Mean S.D., ⁴⁾Increase ratio of the transit (%) vs. normal control
 ***p* < 0.01

Table 2. Effects of various solvent fraction of radish water extract on charcoal meal transit in Balb/c mice

Experimental groups ¹⁾	Increase of transit (%)	Yield (%) ²⁾
Ethyl ether (0.25 mg/h)	12.5	1.3
<i>n</i> -Butanol (2.5 mg/h)	8.8	12.5
Water (17.4 mg/h)	18.3	87.0

¹⁾Concentration in tap water, oral injection volume (0.2 ml/head)
²⁾Yield of water extraction from radish

Table 3. Effect of water extraction of radish on charcoal meal transit in Balb/c mice

Experimental groups ¹⁾	Increase of transit (%)
Water extract I (5.6 mg/ml + 14 mg/head)	30.9**
Water extract II (8.4 mg/ml + 21 mg/head)	48.4**

¹⁾Concentration in tap water, oral injection volume (0.2 ml/head)
 ***p* < 0.01

였으며 실험 당일 각시료를 cremophor EL 0.1 ml에 녹였으며 물 분획은 물에 녹여서 경구 투여하고 60분 후 활성탄과 아라비아검을 각 5% 및 10%의 중량비로 혼합된 활성탄 식이 0.2 ml를 경구 투여한 후, 30분 뒤 희생시켜 위장관을 적출하였다. 실험결과, 물 분획이 가장 큰 장이동 효과를 나타내었고 물 분획의 수율이 가장 컸다. 그러므로 무의 물 추출물 중에서 물에 가용성인 물질이 가장 많이 함유되어 있으며 장이동 효과를 갖는 활성 물질군임을 확인 할 수 있었다(Table 2).

활성탄 식이 이동에 미치는 물 추출물의 효과. Table 2에서 물 추출물이 장이동을 촉진시키는 활성물질이 가장 많이 함유된 분획으로 확인되어서 용량 의존적인 효과를 알아보기 위해 물 분획을 5.6, 8.4 mg/ml 농도별로 무의 물 추출물과 같은 방법으로 활성탄 식이 이동 시험을 실시한 결과, 물 분획은 용량 의존적으로 Water extract I(5.6 mg/ml + 14 mg/head)보다 Water extract II(8.4 mg/ml + 21 mg/head) 활성 분획이 뚜렷하게 활성탄

Table 4. Effect of 3-10 kDa fraction of radish water extract on charcoal meal transit in Balb/c mice

Experimental groups ¹⁾	Increase of transit (%)	Content rate (%) ²⁾
Water extract	10.5	-
Water extract (3 kDa 이하)	22.9	76.7
Water extract (3-10 kDa)	43.6	19.1
Water extract (10-300 kDa)	3.5	3.4
Water extract (300 kDa 이상)	NT	0.8

¹⁾Concentration in tap water, oral injection volume (3.2 mg/ml + 8.0 mg/head)
²⁾Content rate (%) of water fraction from radish, NT: not tested

식이의 장 이동을 증가시켰다(Table 3).

물 추출물 세분획의 활성탄 식이 이동에 대한 효과 비교. Table 1, 2, 3의 결과에서 무의 수용성의 물질이 장 이동을 촉진시키는 활성 물질로 확인되어 ultra filtration을 사용하여 물 분획을 분자량 크기로 3 kDa 이하, 3-10 kDa, 10-300 kDa, 300 kDa 이상의 4가지 세분획으로 나누었다. 시료는 식수에 3.2 mg/ml 농도로 3일간 공급하고 활성탄 식이 이동 실험시 마리당 8.0 mg을 0.2 ml에 녹여서 경구투여하였다. 무의 열수 물 추출물을 분자량별 분획물의 Balb/C 웅성마우스를 이용하여 활성탄 식이가 십이지장에서부터 회장까지의 장관거리중 이동을(R_f)을 조사한 결과, 이들 세 분획중에서 3-10 kDa의 분획물이 무의 열수 물추출물로부터 43.6%로 가장 큰 장 이동 촉진 효과를 보여 무의 열수 물추출물의 분자량별 분획중 3-10 kDa가 주요 구성물질로 확인할 수 있었다(Table 4).

무 열수추출물 세분획(3-10 kDa)의 변비 해소 작용. Loperamide 투여군의 변량을 기준으로 하여 각 군의 변비유발 기간 동안의 증가된 변량으로 변비를 개선시키는 효과를 확인하였으며, 무의 물 세분획(3-10 kDa) 투여로 변비 유발기간 내 변량이 증가되었으며 변비 유발군에 비해 사료 섭취량의 증가는 변비 유발 물질인 loperamide를 계속 섭취함에도 불구하고 변비가 해소되고 있음을 나타내며 배변변량/사료 섭취량의 증가는 배변이 원활히 되고 있음을 나타내었고 물 세분획(3-10 kDa)은 우수한 변비 개선 효과를 갖는 활성물질로 간주된다(Table 5).

무 열수추출물 세분획(3-10 kDa)의 대장관내 점액질의 분비에 미치는 효과. 무의 물 세분획(3-10 kDa)의 변비 효과와 관련된 장기능 개선 효과를 알아보기 위해 대장관내 점액질분비에 대한 효과를 조사하였다. 소화기관의 점액질은 기계적인 손상과 화학적인 자극으로부터 상피조직인 장내 표면을 보호하는

Table 5. Effect of 3-10 kDa fraction of radish water extract on loperamide-induced constipation in Sprague Dawley rats

Items	Increase ratio vs. control (%)								
	Experimental period								
	D+1	D+2	D+3	D+4	D+5	D+6	D+7	D+8	D+9
Amount of the feces	69.2	67.7	34.4	25.9	20.7	8.8	32.3	42.9	41.7
Food intake	13.7	15.9	21.4	5.0	16.2	10.3	9.3	9.8	7.9
Feces/Food intake	49.1	44.5	10.6	29.8	19.3	-1.5	15.4	30.2	38.0
Water intake	-3	-9	-16.5	-29.2	-20.3	-26.5	-14.0	30.1	-12.8

Table 6. Effect of the fecal pellets in the colons of 3-10 kDa fraction by concentration in tap water in Sprague Dawley rats

Experimental groups	Normal	Loperamide	Fraction I (0.285 mg/ml)	Fraction II (0.57 mg/ml)
Fecal pellets in the colons	3.5±1.5	7.7±2.4	5.1±2.2	3.7±2.5

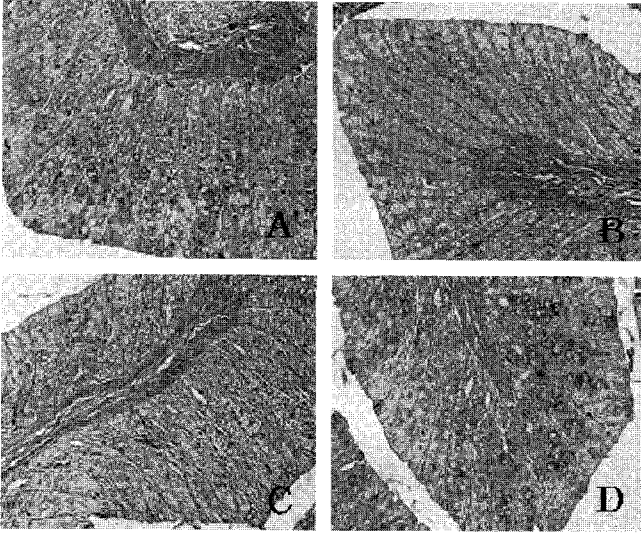


Fig. 1. Crypt epithelial cells secreted more mucin in 3-10 kDa administrated rat group than loperamide only group (magnification, x200). A: Normal group, B: Loperamide only group, C: 3-10 kDa treatment (0.285 mg/ml) group, D: 3-10 kDa treatment (0.57 mg/ml) group.

역할과 소화운동의 윤활제 역할을 한다. 장 점막(colonic mucosa)은 점액질(mucus)로 덮혀 있으며, 점액소(mucin)는 점액질의 물리적, 화학적 특성을 나타내는 가장 중요한 역할을 하는 것으로 알칼리성에서 점성질의 액이 된다. 변비증상이 있을 경우에는 장 점막에서 점액층의 기능이 감소되며, 로페라마이드를 일정기간 투여하면 대장관의 점액질의 두께가 얇아져서 대장 내용물의 이동에 지장을 초래하게 된다. 실험을 위한 처리는 무의 물 세분획을 0.285 mg/ml과 0.57 mg/ml의 농도로 식수에 녹여 공급하였다. 실험동물의 맹장에서 직장까지를 적출하여 10% 포르말린에 인산염 완충용액에 고정시켜 대장관 내에 존재하는 변 덩어리의 갯수를 육안으로 관찰한 실험결과 변비 유발군에서는 정상군에 비해 대장 내에 변이 정체되어 배변이 되지 않았으나 물 세분획(3-10 kDa)투여군은 용량 의존적으로 대장 내 변 갯수가 각각 38%, 52% 감소되어 0.57 mg/ml 투여군은 정상군과 거의 같은 수준의 변 갯수가 관찰되어 Table 5의 결과와 일치되는 배변 촉진효과가 확인 되었다(Table 6).

또한 물 세분획을 0.285 mg/ml과 0.57 mg/ml 농도로 식수에 녹여 공급한 실험군의 대장을 10% 포르말린에 인산염 완충용액에 고정시켜서 조직표본을 제작하여 alcian blue(pH 2.5) 염색을 실시하여 점액질 분비세포와 점액질층을 관찰한 결과, 대조군(변비 유발군)은 정상군에 비해 점액분비세포(alcian blue 염색시 파란색으로 염색)가 현저하게 감소하였으나, 물 세분획(3-10 kDa) 투여군은 점액분비세포가 정상군의 수준으로 관찰되었으며 용량 의존적 효과를 나타내었다(Fig. 1). Mucin(MUC)은 그 구조에 따라서 여러 아형이 있는데 아형에 따라서 조직 분

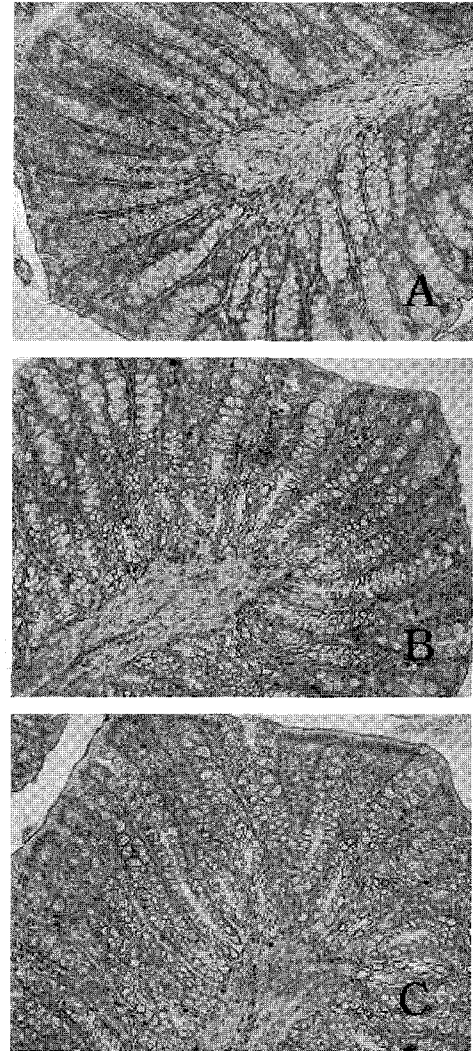


Fig. 2. Crypt epithelial cells secreted more mucin in 3-10 kDa administrated rat group than loperamide only group (magnification, x200). A: Normal group, B: Loperamide only group, C: 3-10 kDa treatment (0.57 mg/ml) group.

포가 다르며 대장에서 가장 많이 분비되는 mucin의 아형은 MUC2로서 MUC2에 대한 항체(Biogenex AM358)를 사용하여 면역 조직 화학법으로 MUC2를 관찰시 변비 유발군에서는 MUC2(연갈색)로 염색된 세포가 현저히 감소되나 물 세분획(3-10 kDa)투여시 뚜렷하게 MUC2의 염색이 증가되었다(Fig. 2). 또한 alcian blue 염색으로 점액질층을 관찰시 점액질 두께도 변비 유발군에서는 현저히 감소되었고 물 세분획(3-10 kDa)투여군에서는 점액질층이 거의 정상수준으로 증가되었다(Fig. 3). 이러한 결과는 변비 유발군에서의 mucin의 생성과 분비가 감소되나 물 세분획(3-10 kDa) 투여군에서는 장기능을 활성화시킴으로써 mucin의 생성과 분비를 증가시켜 장관내 윤활이 유

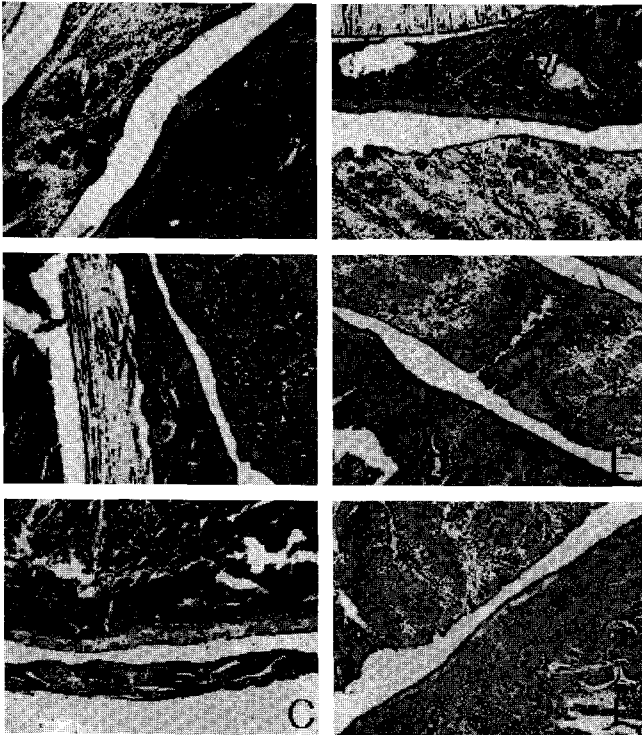


Fig. 3. The thickness of mucus layer at the colon of normal, loperamide and 3-10 kDa administrated rats (magnification, x200). A, D: Normal group B, E: Loperamide group C, F: 3-10 kDa treatment (0.57 mg/ml) group, Yellow bar: Observed point.

지되고 장관 운동을 증가시켜 배변을 용이하게 하여 변비 또는 스트레스등에 의해 저하된 장기능을 개선시킴을 확인할 수 있었다.

참고문헌

1. Yim, H. B., Lee, G. and Chae, H. J. (2004) Cytotoxicity of ethanol extract of *Raphanuse sativus* on human lung cancer cell lines. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 287-290.
2. Shimotoyodome, A., Meguro, S., Hase, T., Tokimitsu, I. and Sakata, T. (2001) Sulfated polysaccharides, but not cellulose, increase colonic mucus in rats with loperamide-induced constipation. *Digest. Dis. Sci.* **46**, 1482-1489.
3. Matsuoka, H., Toda, Y., Yoneyama, K. and Uda, Y. (1998) Formation of raphanusanius depends on extraction procedure

and solvent. *Phytochemistry* **47**, 957-977.

4. Monde, K., Takasugi, M. and Shirata, A. (1995) Three sulphur-containing stress metabolites from Japanese radish. *Phytochemistry* **39**, 581-586.
5. Muller-Lissner, S. A. (1999) Classification, pharmacology, and side effects of common laxatives. *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.* **31**, 234-237.
6. Corazziari, E. (1999) Need of the drug for the treatment of chronic constipation. *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.* **31**, 232-233.
7. Corfield, A. P., Carroll, D., Myerscough, N. and Probert, C. S. J. (2001) Mucins in the gastrointestinal tract in health and disease. *Front Biosci.* **6**, 1321-1327.
8. Coupur, I. M. (1987) Opioid action on the intestine: the importance of the intestinal mucosa. *Life Sci.* **41**, 917-925.
9. Kirjavainen, P. V., Ouwehand, A. C., Isolauri, E. and Salminen, S. J. (1998) The ability of probiotic bacteria to bind to human intestinal mucus. *FEMS Microbiol. Lett.* **167**, 185-189.
10. Ouwehand, A. C. and Kirjavainen, P.V. (1999) Adhesion of probiotic microorganisms to intestinal mucus. *Int. Dairy J.* **9**, 623-630.
11. Montagne, L., Pluske, J. R. and Hampson, D. J. (2003) A review of interactions between dietary fiber and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Anim. Feed Sci. Tech.* **108**, 95-117.
12. Yu, L. L. (2000) Anti-diarrheal effect of water extract of *Evodia fructus* in mice. *J. Ethnopharmacol.* **73**, 39-45.
13. Kanauchi, O. (1998) Germinated barley foodstuff improves constipation induced by loperamide in rat. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**, 1788-1790.
14. Shimotoyodome, A., Meguro, S., Hase, T., Tokimitsu, I. and Sakata, T. (2000) Decreased colonic mucus in rat with loperamide-induced constipation. *Comp. Biochem. Physiol. Part A.* **126**, 203-211.
15. Loeschke, K., Schmid, T. and Farack, U. M. (1989) Inhibition by loperamide of mucus secretion in the rat colon *in vivo*. *Eur. J. pharmacol.* **170**, 41-46.
16. Foo, H. L., Gronning, L. M., Goodenough, L., Bones, A. M., Danielsen, B. E., Whiting, D. A. and Rossiter, J. T. (2000) Purification and characterisation of epithiospecific protein from *Brassica napus*: enzymic intramolecular sulphur addition within alkenyl thiohydroximates derived from alkenyl glucosinolate hydrolysis. *FEBS. Lett.* **468**, 243-246.

Preparation of Active Fraction from Radish Water Extracts for Improving the Intestinal Functions and Constipation Activities

Soon-Ok Baik, Hyun-Kyung Kim*, You-Hui Lee and Young-Sook Kim (*KT&G Central Research Institute, 302 Shinseong-dong, Yuseong-gu, Daejeon 305-805, Korea*)

Abstract: The aim of this study was to develop an activator, 3-10 kDa fraction from radish water extracts, that will improve the intestinal function and bowel movement in the colons. Radish water extracts were investigated for their intestinal function effects according to the charcoal meal transit method, employing Balb/C mice: also, their anti-constipation activities were compared utilizing the loperamide-induced constipation method, employing SD rats. The result suggested that the effects of the charcoal meal transit increased remarkably in radish water extract administrated rats in comparison to loperamide administrated rats. Furthermore, the effects of various solvent extracts of radish on charcoal meal transit in Balb/C mice increased remarkably in radish water fraction administrated rats than in different solvent fraction administrated rats. Radish extraction was tested and isolated into 4 groups: below 3 kDa, 3-10 kDa, 10-300 kDa, and over 300 kDa. 3-10 kDa was the most effective on the intestinal function and bowel movement in the colons; also, 3-10 kDa fraction of radish water extraction was found to be the most effective charcoal meal transit. The dry weight and moisture content of feces remarkably increased in the 3-10 kDa administrated rats group than in the loperamide only group. Experimental results revealed that 3-10 kDa fraction of radish water extract was the most effective on the intestinal function and bowel movement was the crypt epithelial cells that contained more MUC2 in the 3-10 kDa administrated group than the loperamide only group: in addition, the thickness of mucus layer stained with alcian blue was significantly thicker in 3-10 kDa administrated rats than in loperamide administrated rats. Crypt epithelial cells secreted more MUC2 in the 3-10 kDa administrated group than the loperamide only group and the stained cells clearly showed the MUC2 with antibody Biogenex AM358.

Key words: intestinal function, bowel movement, colon, radish water extracts, 3-10 kDa fraction, charcoal meal transit, loperamide-induced constipation, loperamide, MUC2

*Corresponding author