

総合消化酵素剤の検討^{*1}

——酵素活性とその失活——

福地 坦, 吉田 稔, 新谷洋通, 池田博昭, 関 庸子, 川北ゆりえ

広島大学医学部附属病院薬剤部^{*2}Multiple Digestive Enzymes^{*1}

—Activity and Inactivation of Digestive Enzymes—

Hiroshi Fukuchi, Minoru Yoshida, Hiromichi Shintani,

Hiroaki Ikeda, Yoko Seki and Yurie Kawakita

Department of Pharmaceutical Services, Hiroshima University Hospital^{*2}

The activity of α -amylase, glucoamylase, protease, lipase and cellulase contained in such commercial multiple digestive enzyme preparations as Aczym, Excelase, Politose and Toughmac-E capsule was determined. These digestive enzymes were immersed in citric acid solution with a pH of 2.0 for 5 minutes and the loss rate of enzyme activity due to acidic environment was determined. Each digestive enzyme had characteristic activity against each substrate. However, all the four preparations showed a 100% loss in glucoamylase activity, while the loss rate of α -amylase, protease, lipase and cellulase ranged from 30 to 76%. Therefore, multiple digestive enzyme preparations should be coated with materials suitable for each enzyme contained in view of changing pH in digestive tract.

総合消化酵素剤の活性比較試験は、多くの人によって報告^{1,2,3,4,5)} されているが、含有酵素の種類が多岐にわたるために製剤間の品質を比較検討するには困難を伴う。消化酵素はその効果を発揮するための至適 pH を有しているが、体内ではまず胃内酸性 pH に、ついで腸内アルカリ性 pH にさらされる。従って、酵素の種類によっては服用直後の胃内酸性 pH によって、その活性が低下することも予想される。本実験は総合消化酵素剤が含有する各酵素の至適 pH における活性度を検討し、さらに各酵素活性が酸性 pH によってどの程度に低下するかを検討したものである。

実験の部

試料

市販の総合消化酵素カプセル剤 A, B, C, および D の 4 種を用いた。各製剤の組成は右欄のとおりである。各酵素剤 10 カプセルに含まれる内容物の重量を直示タ

びん (島津 L-DT) で秤量し、1 カプセル内容物の平均重量及び標準偏差を Table 1 に示した。

Table 1. Weight Variations of Capsule Content

Preparation	Weight of Capsule Content		
	Mean (mg)	S.D. (mg)	C.V. (%)
A	365	4.84	1.33
B	377	2.51	0.66
C	349	3.00	0.86
D	496	3.72	0.75

S.D.: Standard Deviation

C.V.: Coefficient of Variance

A : taka-diastase N 100 mg, cellulase AP 20 mg, lipase My 50 mg, pancreatin 100 mg. (S社 Lot No. MOO367N)

B : sanactase 50 mg, meicellase 50 mg, proctase 100 mg, olipase 2-S 20 mg, pancreatin 100 mg. (M社 Lot No. XECV 2)

C : hirodase 25 mg, mamidase 35 mg, lipase A 12mg, cellulase AP₃ 20 mg, concentrated-panc 75 mg. (T社, Lot No. 0293)

D : cellulocin AP 20 mg, diasmen 50 mg, diastase 40 mg, onotase 10 mg, molsin 20 mg, vonlase 45 mg, pancreatin 120 mg, polypase 30 mg, onoprose A 40 mg. (O社 Lot No. F-2044A)

^{*1} 日本薬学会中国四国支部第16年会 (徳島, 1977) にて発表。

^{*2} 広島市霞 1 丁目 2—3 ; 2—3, Kasumi 1-chome, Hiroshima-shi, 734 Japan

試料液の調製

カプセル 1 個中の平均量を正確に秤量し、メノウ乳鉢中で微粉化し冷水（精製水 5°）で全量 100 ml に溶解した。溶液をガーゼで濾過し、その濾液を予試験で求めた実験可能な濃度に希釈し、その 1.0 ml を酵素試料液とした。

上記の方法で秤量、微粉化したカプセル内容物を 0.1 M クエン酸溶液（pH 2.0）100 ml 中に 5 分間浸漬して酵素活性を低下させた。この溶液をガーゼで濾過し、濾液に 0.2 M リン酸二ナトリウム液の適量を加え、各基質と反応させる pH に調整して失活率測定用酵素液とした。

操作

酵素試料液を各基質に対する至適 pH で基質と 37°, 30 分間反応させ α -amylase, glucoamylase, protease, lipase, および cellulase 活性を測定した。活性度の測定は下記の方法に従った。

α -amylase 活性：McCready 法^{6,7)}

試薬：1% 可溶性澱粉，0.1% 塩化カルシウム溶液，McIlvaine buffer (pH 4.0 または pH 7.0) 0.2% ヨード・ヨードカリ塩酸混液。

glucoamylase 活性：Somogyi-Nelson 法^{8,9)}

試薬：2% 可溶性澱粉，McIlvaine buffer (pH 5.0)，Somogyi 試薬，Nelson 試薬。

Protease 活性：Anson 変法^{10,11)}

試薬：1.5% カゼイン溶液（casein nach Ham mosten），McIlvaine buffer (pH 7.0)，0.44 M トリクロル酢酸液，0.55 M 炭酸ナトリウム液，10 倍希釈フオーリン試液。

lipase 活性：山田変法¹²⁾

試薬：オリーブ油乳剤（オリーブ油 25 ml を 2% PVA でホモゲナイズ），2% ポリビニル・アルコール試薬，McIlvaine buffer (pH 7.0)，アセトン・エタノール混液，フェノール・フタレイン試液。

cellulase 活性：Sumner 法^{13,14)}

試薬：1% カルボキシ・メチル・セルロース・ナトリウム液，McIlvaine buffer (pH 4.5)，Sumner 試薬。

酸性 pH による失活率

失活率測定用酵素試料液を用いて上記と同様の操作を行い次の方法に従って算出した。すなわち、酵素試料液を基質と 37°, 30 分間反応させた際の活性値を A 値とし、失活率測定用酵素試料液で得られた活性値を B 値とした。A の値を 100% として、それに対する B の値の%を求め A と B の差を失活率とした。（(1) 式参照）

$$\frac{A \text{ の活性値} - B \text{ の活性値}}{A \text{ の活性値}} \times 100 = \text{失活率} \dots (1) \text{式}$$

結果と考察

α -amylase 作用

α -amylase 作用の至適 pH は 4.0~5.0 付近であるが、総合消化酵素剤に含有されるパンクレアチンの amylase 作用至適 pH は 7.0 付近であることが知られているため、本実験では酵素と基質の可溶性澱粉を pH 4.0 および pH 7.0 で反応させた。各製剤の 1 カプセル量に換算して得られた澱粉消化量を Fig.1 に示した。

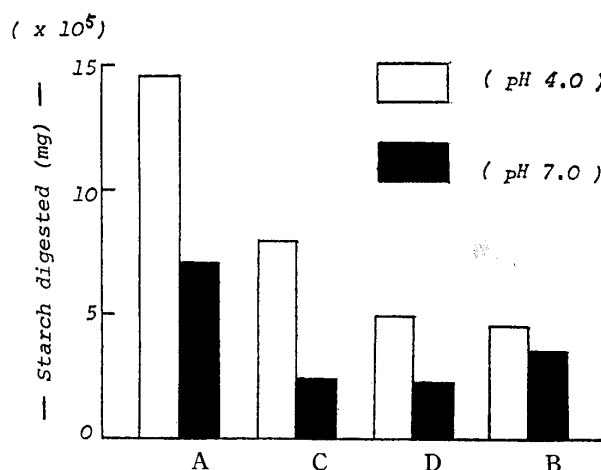


Fig.1. α -Amylase Activities of Digestive Enzymes

いずれの製剤も pH 4.0 は pH 7.0 に比して酵素活性が高い。最も高い A は 14.5×10^5 mg の澱粉消化量を示し、最も低い B に比して約 3 倍の活性値を示した。pH 7.0 でも A の活性が高く 7.1×10^5 mg の澱粉消化量を示し、D に比して約 3 倍の活性値を示した。

glucoamylase 作用

消化酵素と基質の可溶性澱粉を pH 5.0 で反応させた際の glucoamylase 活性を各製剤 1 カプセル相当量で得られた還元糖生成量で示した。（Fig.2）

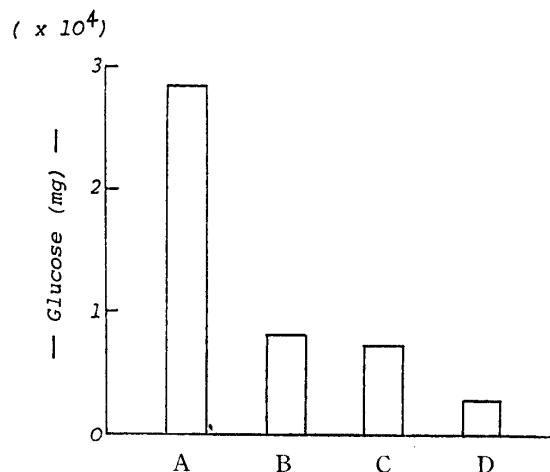


Fig.2. Glucoamylase Activities of Digestive Enzymes (pH 5.0)

A の活性値が最も高く、還元糖生成量は $23.2 \times 10^3 \text{ mg}$ の値を示した。この値は最も活性の低い D に比して約 8 倍の活性値であった。B および C の還元糖生成量は A の $\frac{1}{2}$ 以下であった。

Protease 作用

Fig. 3 に消化酵素と基質のカゼインを pH 7.0 で反応させた際の protease 活性を、各製剤の 1 カプセル量に換算して得られた tyrosin 生成量で示した。

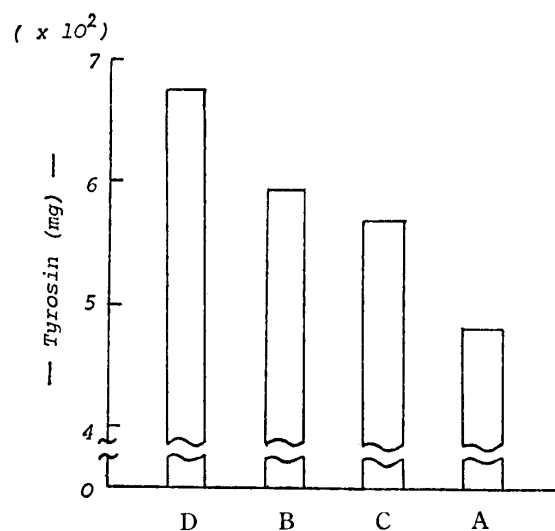


Fig. 3. Protease Activities of Digestive Enzymes (pH 7.0)

D が最も高い酵素活性を示し、活性値は tyrosin 生成量で 669.3 mg であった。この値は最も低い A の酵素活性値に比して約 1.4 倍の値であった。B および C は、ほぼ中程度の tyrosin 生成量を示した。

lipase 作用

Fig. 4 に消化酵素と基質のオリーブ油乳剤を pH 7.0 で反応させた際の lipase 活性を、各製剤の 1 カプセル量に換算して得られたパルミチン酸生成量で示した。

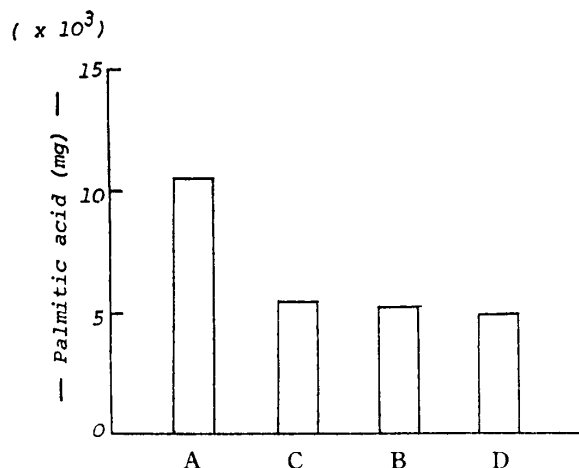


Fig. 4. Lipase Activities of Digestive Enzymes (pH 7.0)

A が最も高く $10.8 \times 10^3 \text{ mg}$ のパルミチン酸生成量を示した。他の三製剤はほぼ同程度のパルミチン酸生成量を示した。

cellulase 作用

Fig. 5 に消化酵素と基質の CMC-Na を pH 4.5 で反応させた際の cellulase 活性を、各製剤の 1 カプセル量に換算して得られた還元糖生成量で示した。

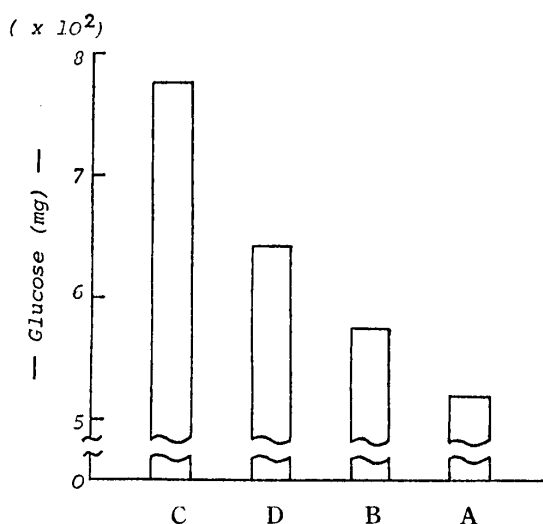


Fig. 5. Cellulase Activities of Digestive Enzymes (pH 4.5)

C が最も高い $7.7 \times 10^2 \text{ mg}$ の還元糖生成量を示し、D および B の順にその活性値は低い値を示した。C は最も低い A に比して約 1.5 倍の酵素活性値を示した。

失 活 率

消化酵素剤の各基質に対する失活率を (1) 式に従って求め、Table 2 に示した。

α -amylase 活性の失活率は B で約 76% であり、従って B は酸性側に浸漬されることにより至適 pH での活性値の約 20% しか保持し得ないことが判明した。他の三製剤の失活率はいずれも約 50% であった。glucoamylase 活性の失活率は、すべての製剤で 100% を示した。

protease 活性の失活率は、C が 45% を示し、至適 pH での活性値の約 50% の効力を保持していたが、他の三者はいずれも 60.9%~66.7% の失活率を示し、約 50% の効力しか保持しないことが判明した。

lipase 活性の失活率は、C が 38.7% で至適 pH での活性値の約 60% を保持していたが、他の三者はいずれも約 49%~57% の失活率を示し、約 50% の効力しか保持していないことが判明した。

cellulase 活性の失活率は、C が約 50% を示したが他の三製剤のそれは 30%~43% であった。

Table 2. Inactivation of Enzyme Activities

	A	B	C	D
<i>α</i> -Amylase	46.7%	76.0%	53.4%	48.1%
Glucoamylase	100 %	100 %	100 %	100 %
Protease	66.7%	60.9%	45.0%	66.5%
Lipase	48.8%	55.9%	38.7%	56.5%
Cellulase	30.3%	42.8%	49.4%	36.6%

結 語

一般に総合消化酵素剤は、含有される各酵素の基質に対する活性に高低がある。例えば、本実験でも示されたようにAは α -amylase, glucoamylase, および lipase 活性が、他の三者より高かったが cellulase 活性と protease 活性は、他の三者に比して低い値を示した。それぞれ特徴を備えた総合消化酵素剤のうちから総合的に優れた効力を示すものを選択するには困難を伴う。ここでは各基質に対する活性値を上位のものから、4点、3点、2点、1点と配点し、各基質についてフルマークを得た場合を20点とすると、A、Cは共に14点、D、Bはそれぞれ11点であった。しかしながらこの方法は、例えば lipase 活性でみられたように、差のない低活性値を示した三者に自動的に得点差を与えたという矛盾もあるので、製剤の絶対的評価にマッチしているものではない。各製剤を酸性 pH に5分間浸漬した後、各酵素の至適 pH でその活性値を測定し、酵素活性失活率を求めたが、いずれの製剤も予想以上に大きな失活率を示した。至適 pH での活性値の50%以上を保持し得たのは、cellulase 活性のみであり、他の基質に対してはCを除き大幅に活性を喪失していた。特に glucoamylase 活性が、いずれの製剤でも100%失なわれていたことに注目したい。もちろんクエン酸溶液 pH2 という条件での成績であるので食直後の胃液の pH とは異なり、この値を直に実際と

むすびつけることはできない。市販消化酵素製剤（カプセル剤）の多くは、胃溶性と腸溶性の2種の顆粒または顆粒と粉末の混合系からなっているが、ここで示したような酸性環境で大幅な失活を示す各酵素は、必ずしも腸溶性部分のみに内臓されているのではなく、そのほとんどの量が胃溶性部分に内臓されている。消化管内の pH 変化にマッチした総合消化酵素剤の製剤化が必要であらう。

文 献

- 1) 岡崎寛蔵, 北村允夫, 鈴木 進, 中郡英次: 薬剤学, 16, 12 (1956).
- 2) 岡崎寛蔵, 大島杜一, 長沢潤一, 白井トシ子, 小島波子: 薬剤学, 16, 21 (1956).
- 3) 岡崎寛蔵, 片岡秀雄: 薬剤学, 24, 68 (1964).
- 4) 杉浦 衛, 小木曾太郎: 薬剤学, 28, 247 (1968).
- 5) 永瀬一郎, 藤代とし, 岡本尚子: 病院薬学, 2, 256 (1977).
- 6) 赤堀四郎: 酵素研究法, 2, 108 (1956).
- 7) R. M. McCready and W. Z. Hassid: J. Am. Chem. Soc., 65, 1154 (1943).
- 8) M. Somogyi: J. Biol. Chem., 160, 61 (1945).
- 9) N. Nelson: J. Biol. Chem., 153, 375 (1944).
- 10) M. L. Anson: J. Gen. Physiol., 22, 79 (1939).
- 11) 江上不二夫: 標準生化学実験, 207 (1953).
- 12) 山田浩一, 町田晴夫: 農芸化学, 36, 858 (1962).
- 13) J. B. Sumner: J. Biol. Chem., 47, 5 (1921).
- 14) J. B. Sumner: J. Biol. Chem., 65, 393 (1925).