総合消化酵素製剤中の酵素の溶出性と安定性(2)*¹

井上良則, 大石輝雄, 品川龍太郎

東洋工業株式会社付属病院薬局*²Dissolution and Stability of Enzymes Contained in Multiple Digestive Enzyme Capsules (2)*¹

YOSHINORI INOUE, TERUO OOISI, and RYUTARO SINAGAWA

Pharmacy Section, Attached Hospital of Toyo Kogyo Co., Ltd.*²

(Received February 23, 1978)

Digestive activity, dissolution and stability of enzyme ingredients were compared among 4 commercial products (SV, EX, BE and FE) of multiple digestive enzyme Capsules. 1) Amylase: Gastric-soluble pellets of FE showed a strong and stable digestive activity in broad pH range, but enteric-soluble pellets had a weak activity. Gastric- and enteric-soluble pellets of 3 other products showed an equal digestive activity, but alkaline amylase activity of SV and EX became inactive in acidic solution. 2) Protease: Gastric-soluble pellets of BE and enteric-soluble pellets of FE had weaker digestive activity, and all other products had an equally strong digestive activity and stability. 3) Lipase: Gastric-soluble pellets of FE showed a strong and stable activity in broad acidic area, and digestive activity of enteric-soluble pellets was rated in the order of $EX > SV = BE > FE$. Stability of lipase of 4 products lowered in proportion to increase in pH value of alkaline solution, but the strong lipase activity of the 4 products persisted for a long time in a weak acidic solution. 4) Cellulose: Cellulose, contained in only gastric-soluble pellets of 4 products, showed an equal digestive activity and stability, except for strong digestive activity of BE and excellent stability of FE. 5) Dissolution of enzymes contained in enteric coated pellets: FE showed excellent dissolution and BE had less dissolution of some pellets. Dissolution of enzymes from some enteric coated pellets of EX was noted in acidic solution. The above findings indicated that BE and EX contain heterogeneous pellets.

前報¹⁾では当院採用の消化酵素カプセル剤(3種)中の酵素の溶出性と安定性について比較検討し、各製剤にそれぞれの特徴があることを報告したが、今回は、新たに消化酵素製剤を採用するに当たって試供された総合消化酵素カプセル剤4種の消化力、溶出性、及び安定性について比較検討したので報告する。

実験方法

1. 試料

*¹ 本報を「酵素製剤の力価比較(第8報)」とする。昭和52年度中国四国薬学会で発表。

*² 広島県安芸郡府中町青崎南2丁目15; 2-15, Aosaki Minami 2-chome, Fuchu-cho, Aki-gun, Hiroshima 735 Japan

表1に示したカプセル剤4種を試料とした。なお、表中の成分、分解作用、及び活性pH域はメーカー文献より転載した。

2. 溶出液

前報と同様にして調製した。

3. 消化力測定法

(イ) でんぶん消化力 McCreadyらのヨードでんぶん法³⁻⁵⁾の変法³⁻⁵⁾によるアミラーゼ活性値をでんぶん消化力とした。

(ロ) 蛋白消化力 カゼインフォリン法⁶⁾に準じた方法⁷⁾によるプロテアーゼ活性値を蛋白消化力とした。

(ハ) 脂肪消化力 山田らの方法⁸⁾に準じた変法⁹⁾によるリパーゼ活性値を脂肪消化力とした。

表 1. 試 料

品 名	成	分 (mg)	分解作用	活性pH域
SV (Lot No. SV2PG)	胃溶性部分(粉末)	サナクターゼ 50	A, P	2.5~7.0
		プロクターゼ 100	P	2.0~5.0
		ポリパーゼ 50	L	5.0~8.0
		日局バンクレアチン 150	A, P, L	7.0~9.0
		メイセラゼ 50	C	3.0~6.0
EX (Lot No. XECQ16)	胃溶性部分(粉末)	サナクターゼ 50	A, P	2.5~7.0
		プロクターゼ 100	P	2.0~5.0
		オリパーゼ・2S 20	L	3.5~8.5
		メイセラゼ 50	C	3.0~6.0
	腸溶性部分(顆粒)	豚臓性消化酵素TA 100	A, P, L	7.0~9.0
BE (Lot No. X001)	胃溶性部分(顆粒)	細菌性脂肪分解酵素 25	L	4.0~7.5
		アスペルギルス産性消化酵素 30	A, P	3.7~6.5
		繊維素分解酵素 15	C	4.0~5.5
	腸溶性部分(顆粒)	濃厚豚臓性消化酵素 125	A	7.0~9.0
			P	7.5~9.0
			L	6.0~8.0
FE (Lot No. 01901)	胃溶性部分(顆粒)	バイオアスターゼ・1000 50	A, P	3.9~9.0
		ニューラーゼ 30	P	3.0~4.0
		リパーゼAP・6 12	L	3.5~7.5
		セルラーゼAP・3 5	C	3.0~7.0
	腸溶性部分(顆粒)	豚臓性消化酵素TA 40	A, P, L	6.0~9.0

A: アミラーゼ作用 P: プロテアーゼ作用 L: リパーゼ作用 C: セルラーゼ作用

(㊦) 繊維素消化力 CMC-Na・ソモギー変法¹⁰⁾によるセルラーゼ活性値を繊維素消化力とした。

4. pH差異による消化力試験法

試料としたカプセル剤の内容物を、予め最終pH4.5となるように溶出液(各種pH)を用いて調整した液に、混和、軽く振とうしながら37°、10分加温後ろ過、ろ液を胃溶性部分の試料原液とし、さらに残査(SVは腸溶性部分が含有されていないために、新たにカプセル内容物を用いて残査とする)を、予め最終pH7.0になるように上記と同様に調整した液に、混和、軽く振とうしながら、37°、30分加温後ろ過、ろ液を腸溶性部分の試料原液とする。これらの試料原液を適宜水で希釈して試料液とし、各種pHでの消化力を測定、各消化力は4製剤中の最高値を100とした相対活性値(%)で表わし、消化力-pH曲線を作成した。

5. 溶出試験法

前報と同様に操作して、一定時間毎に得られる消化力測定値を、消化力-pH曲線作成の際に得られた最高値を100とした相対活性値(%)に換算して、溶出曲線を作成した。

実験結果と考察

1. pH 差異による消化力変化

各試料液の消化力等についてはメーカー文献に記載されているが、実験者により測定値は異なる場合が多い。従って、本実験条件下での各消化力、活性pH域、及び至適pHを知るために、pH差異による消化力試験を試みた。その結果を図1~4に示した。

(イ) でんぶん消化力変化(図1参照)

胃溶性部分: SV, EXともにサナクターゼ¹¹⁾が主体であり、酵素配合比から同等の活性値を示すことが予想されたが、EXがわずかに高い値を示した。これはEXの腸溶性部分が試料調整時に溶出したためと考えられる(図5参照)。また、FEはバイオアスターゼ^{4),12)}のアミラーゼ活性が主体とされているが、ニューラーゼにもアミラーゼ作用ありと報告⁴⁾されていることから、両者の相加活性がFEの消化力と考えられる。そのために広範囲の活性pH域と高い活性値を示している。

4者ともにpH4.0~6.0で強い消化力を示すが、至適pHは、SV, EX, FEが報文^{4),11),12)}と同様にpH5.0付近であ

るのに対し、BEはpH4.5付近であった。

腸溶性部分：4者ともに胰臓性消化酵素を含有しているため同一パターンを示し、pH6.0~8.0で高い活性値を示したが、FEのみは酵素量が少ないため胃溶性部分より低い値を示した。なお、EXとFEの酵素は同一と考

えられるので、配合量から推定して約60%の活性値差があると予想されたが、実際には約40%であり、前記のごとく試料調整時にEXの一部顆粒からアルカリ性アミラーゼが溶出したと思われる。

図1. でんぷん消化力—pH曲線

図2. 蛋白消化力—pH曲線

(ロ) 蛋白消化力変化 (図2参照)

胃溶性部分: SV, EX ともにプロクターゼが主体であり, 強酸性域で強い作用を示し至適 pH 2.5 付近であった. BE, FE は pH 3.0~5.0 で活性値が高いと思われるが測定法の関係で明確ではない (基質にカゼインを用いた関係上, この間は測定不能のためプロテアーゼ作用に関する報文^{12,13}) を参考として予想される活性値で表示した). しかし, FE はプロテアーゼ作用を示すバイオジスターゼの活性 pH 域が pH 2.5~4.0¹², ニューラーゼの至適 pH 3.5¹³ と報告されていることから至適 pH 3.5 付近と推定される. また, SV, EX, FE 間に活性値の差は認められないが, BE は特定のプロテアーゼを含有していないため消化力は弱く, 胃内消化は微弱と思われる.

腸溶性部分: 消化力は胃溶性部分とは反対に BE が一番強く, EX, SV, FE の順位と思われるが, 4 者ともに

膵臓性消化酵素が主体であり, 前報と同様に至適 pH 8.0~9.0 であった.

(ハ) 脂肪消化力変化 (図3参照)

胃溶性部分: SV は報文¹⁴によると, ポリパーゼの至適 pH 8.0 であり, パンクレアスリパーゼの至適 pH 8.5 という報告^{9,15,16} と同様にアルカリ性域で作用が強く, EX はオリパーゼについての報告¹⁶ から至適 pH 7.0 付近と思われたが, オリパーゼ 2 S は前者よりアルカリ性側に至適 pH があると考えられる. BE も同様に, アルカリ性側に強いリパーゼ活性を有しているが, FE のみがリパーゼ AP についての報告¹⁶ と同様に酸性域での作用が強力であり広範囲の活性 pH 域を有していた.

腸溶性部分: SV, EX, FE の3者とも至適 pH 7.0~8.0 であったが, BE は至適 pH 6.5~7.0 付近であり, 前3者とは起源の異なったリパーゼと考えられる.

図3. 脂肪消化力—pH曲線

図4. 繊維素消化力—pH曲線

(ニ) 繊維素消化力変化 (図4参照)

前報と同様にセルラーゼは胃溶性部分のみに含有され, BE が特に強い消化力を示したが, 4 者ともに活性 pH 域は pH 3.0~6.0 であり, 至適 pH 4.0~4.5 であった.

2. 溶出試験による酵素の溶出性と安定性の検討

各種溶出液における酵素の溶出性 (腸溶性顆粒について), 及び安定性を検討するために, 先に得られた至適 pH を反応液 pH として溶出試験法により溶出曲線を作成し

た。その結果は図5～11に示した。なお、曲線上に溶出液最終pH値を記した。(IG)は溶出液pH4.5, 37°, 120分加温後の溶液を試料とした場合の溶出曲線である。

(イ) アミラーゼ(以下, Amと略す)についての検討

4者ともに反応液pH4.5(主として酸性Amの活性を測定), pH7.0(主としてアルカリ性Amの活性を測定)にて測定した結果を図5, 図6に示した。

SV, EXの酸性Amは強酸性域では不活化されるが, pH4.0付近ではかなり安定となり, 岡崎らの報告¹¹⁾と一致した。なお, EXはpH5.0において90分以後に腸溶性顆粒からアルカリ性Amの溶出が認められるため, 腸溶性部分として望まれる条件¹⁷⁾に不適合であるが, 非常に溶出しやすい顆粒と考えられる。また, 溶出液pH5.0の場合に, 反応液pH4.5の時よりpH7.0の時が高い活性値を示していることから, 前記のごとく[1-(イ)参照]一部顆粒から10分以後にAmが溶出し, 品質は不均一であると思われた。両者のアルカリ性Amは微酸性以上のpH域で

安定となるが, IG曲線よりSVは酸性域で失活することがわかった。

BE, FEともに酸性AmはpH4.5以上で安定であるが, FEのAmは岡崎らの報告¹²⁾しているビオジアスターゼとは若干異なり, pH4.0でかなりの活性低下が認められた。また, BE, FEのアルカリ性Amは前2者と同様のpH域で安定であったが, FEのAmは腸溶性顆粒からの溶出は速やかであるのに対して, BEの場合は30分後に大部分が溶出し, 以後徐々に溶出し90分後に溶出完了していることから, 溶出しがたい顆粒が一部混在していることが予想される。なお, IG曲線についてはEXの場合と異なり, 両者ともに酸性域でアルカリ性Amは溶出しにくいことを示している。

以上の結果から, BE, FEはpH4.5以上でかなり安定であり, 食後服用により効果は持続すると思われるが, SV, EXは消化器管内pH6.0以上でなければAm活性の持続は期待できないことがわかった。

図5. アミラーゼ溶出曲線(1)

——反応液 pH 4.5,反応液 pH 7.0

*1 曲線の数字は溶出液最終pHを示す。

*2 IG曲線は溶出液pH4.5, 37°, 120分加温後の溶液を試料とする。

(ロ) プロテアーゼ(以下, Prと略す)についての検討

SV, EXは反応液pH2.5(主として酸性Prの活性を測定), pH8.0(主としてアルカリ性Prの活性を測定)とし, BE, FEは反応液pH3.1, pH8.0として測定した結果を図7, 図8に示した。

SV, EXの酸性Prは同一の耐酸性Prであり, 広範囲の安定pH域を有している。また, アルカリ性Prも安定であった。従って, IG曲線からAmの場合と異なり胃内に120分滞留した場合でも活性の低下は顕著でないことがわかる。しかし, EXは溶出液pH4.5, 反応液pH8.0曲線がアルカリ性Prの活性値を示していること(酸性Pr

図 6. アミラーゼ溶出曲線 (2)

—反応液 pH 4.5,反応液 pH 7.0

は図2より、反応液 pH8.0では活性を示さないことがわかる) から、腸溶性顆粒からの Pr の溶出が明らかである。

BE, FE は前2者と同様に、酸性、アルカリ性 Pr ともに広範囲の安定 pH 域を有しているが、BE は酸性 Pr の活

性が低いので微酸性以上の pH 域においてのみ活性を示すことがわかる。

以上の結果から、4者ともに広範囲の安定 pH 域を有していて、BE 以外は胃・腸全域における Pr 作用が期待されるが、BE の胃内消化は微弱であることがわかった。

図 7. プロテアーゼ溶出曲線 (1)

—反応液 pH 2.5,反応液 pH 8.0

図 8. プロテアーゼ溶出曲線 (2)
 — 反応液 pH 3.1, 反応液 pH 8.0

(ハ) リパーゼ (以下, Li と略す) についての検討

SV, EX, BEは反応液 pH7.0 (酸・アルカリ性 Liの活性を測定), FEは反応液 pH6.0 (主として酸性 Liの活性を測定), pH7.0 (主としてアルカリ性 Liの活性を測定)

として測定した結果を図9, 図10に示した。

SV, EX ともに溶出液 pHがアルカリ性に傾く程不安定となるが, 弱酸性-中性域ではかなりの活性を持続している。また, IG曲線から胃内120分滞留における活

図 9. リパーゼ溶出曲線 (1)
 — 反応液 pH 6.0, 反応液 pH 7.0

図 10. リパーゼ溶出曲線 (2)

— 反応液 pH 6.0, 反応液 pH 7.0

性低下は微少であった。両者ともに至適pHはアルカリ性域であるが(図3参照), ポリパーゼは活性pH域¹⁴⁾では不安定であるためその作用は期待できない。しかし, EXのオリパーゼ2Sはアルカリ性域でもかなり安定であり(最高活性値が100%以上であることから, 胃溶性部分のオリパーゼ2S活性が相加されていることがわかる), 広範囲の安定pH域を有している。

BEの酸性Liは酸性域で非常に安定であるが, 酸性域での活性は低い(図3参照)という矛盾がある。また, アルカリ性Liは不安定であるが, 溶出液pH6.0曲線より微酸性域ではアルカリ性Liの適度の溶出により, 長時間Li活性を持続することがわかった。一方, FEの酸性Liは片岡のリパーゼAPについての報告¹⁶⁾と同様に耐酸性であり, 強酸性域でも安定なLiであった。また, このLiはアルカリ性でも安定であることがpH6.0曲線とIG曲線との差より予想され, オリパーゼと類似した酵素であるが, 活性はより強い優秀なLiであることがわかる。なお, アルカリ性Liは前3者と同様に不安定であった。

以上の結果から, 4者ともにpH6.0~7.0ではLi作用を長時間持続し, 特にEXは胃・腸両部分の相加作用により強い活性を示し, また, SV, BEはpH6.0~7.0以外での作用は期待できないが, EX, FEは胃・腸内全域におけるLi作用が期待できることがわかった。

(二) セルラーゼ(以下, Ceと略す)についての検討
4者ともに, 反応液pH4.5として測定した結果を図

11に示した。

SV, EXのメイセラーゼは岡崎らも報告¹⁸⁾しているように, pH2.0以上ではかなり安定であり, BE, FEも同様に安定であった。特にFEのセルラーゼAP3は, 杉浦らの報告¹⁹⁾しているAsp.属であり, メイセラーゼより安定である点は一致している。

以上の結果から, 4者ともにpH2.0~6.0の胃内全域でCe活性を持続し, 中性域でもかなり安定であることがわかった。

結 論

1. でんぷん消化の場合, 胃溶性部分はFEが消化力, 活性pH域, 及び安定pH域ともに優れていて他の3製剤間に差異がみられなかった。一方, 腸溶性部分は消化力, 安定性において, SV, EX, BEともに同程度であったが, 特に胃内でのアルカリ性アミラーゼの失活が認められなかったBEが優れていた。

また, FEは消化力の点で劣っていた。従って, でんぷん消化に関して順位をつけるなら, BE>FE>EX>SVと考えられる。

2. 蛋白消化の場合, 胃溶性部分は消化力, 安定性においてSV, EX, FE間に差異が認められなかったが, BEは特定のプロテアーゼを含有していないため, 消化力は微弱であった。一方, 腸溶性部分はFE以外は強い消化力を示し, 安定pH域も広範囲であった。従って, 蛋

図 11. セルラーゼ溶出曲線 (反応液 pH 4.5)

● SV, × BX
▲ EX, ■ FE
..... IG 曲線

白消化に関して順位をつけるなら, $EX > BE > SV = FE$ と考えられる。

3. 脂肪消化の場合, 胃溶性部分はFEが酸性域で強い消化力を示し, BEと同様に耐酸性酵素を含有していた。しかし, 酸性域におけるBEの消化力は弱いという欠点があった。また, SV, EXも酸性域での作用は期待できないと思われた。一方, 腸溶性部分は消化力について, $EX > SV = BE > FE$ の順であったが, 4製剤ともに安定pH域は狭く, 胃溶性部分がアルカリ性域でも作用を発揮するEX, FEが, わずかに活性pH域が広いことがわかった。従って, 脂肪消化に関して順位をつけるなら, $EX = FE > BE > SV$ と考えられる。

4. 繊維素消化の場合, 消化力はBEが強く, 安定性はFEが良好であったが, 繊維素消化に関して, 4製剤間に大きな差異は認められなかった。

5. 腸溶性顆粒からの溶出性に関しては, FEが優秀であり, BEは溶出が遅く, 溶出速度にバラツキが認められた。またEXは溶出は速やかであるが, 顆粒の耐酸性は不良であり, 改良の余地があると思われた。

以上の結果のみから, 総合的な優劣を判定すれば, BE, FE, EX, SVの順であるが, 消化剤選択に当たっては, 本実験以外にも経時変化, 力価偏差試験等を試みる必要があると考える。

参考文献

- 1) 井上良則, 大石輝雄, 品川龍太郎: 病院薬学, 2, 12 (1976).
- 2) R.M. McCready, W. Z. Hassid; J. Am. Chem. Soc., 65, 1154 (1943).
- 3) 竹中英雄, 伊藤 元, 渡辺純男, 小島明男, 近松義博: 薬剂学, 28, 254 (1968).
- 4) 杉浦 衛, 伊藤万蔵, 岩田忠彦: 薬剂学, 30, 232 (1970).
- 5) 宇野豊三, 北沢式文, 田畑美津子: 薬剂学, 34, 38 (1974).
- 6) 赤堀四郎編: 酵素研究法, 第2巻, 242 (1956).
- 7) 井上良則, 大石輝雄, 角井修子, 尾崎 亮: JNHPA, 7, 13 (1974).
- 8) 山田浩一, 太田安夫, 町田晴夫: 日本農芸化学会誌, 36, 860 (1962).
- 9) 杉浦 衛, 長瀬啓三, 加藤精宏: 薬剂学, 26, 296 (1966).
- 10) 小沢 光, 石川 潔, 市川久次: 薬剂学, 27, 23 (1967).
- 11) 岡崎寛蔵, 小松 治子, 島田 稔: 薬剂学, 22, 95 (1962).
- 12) 岡崎寛蔵, 石川 潔, 奈良間美恵子: 薬剂学, 22, 177 (1962).
- 13) 杉浦 衛, 浅野 弘, 田中英郎: 薬剂学, 27, 31 (1967).
- 14) 片岡秀雄: 薬剂学, 28, 176 (1968).
- 15) 片岡秀雄: 薬剂学, 28, 173 (1968).

- 16) 片岡秀雄：薬剤学，30，71 (1970).
 17) 永瀬一郎，藤代とし，岡本尚子：病院薬学，2，262 (1977).
 18) 岡崎寛蔵，石川 潔，長谷川佳子：薬剤学，24，72 (1964).
 19) 杉浦 衛，田中英郎，加藤精宏，長瀬啓三，道家三秀：薬剤学，26，69 (1966).

■白血球減少症

■円形脱毛症・乾癬性脱毛症

■滲出性中耳カタル

■毒蛇咬傷・虫刺傷

●セファランチンの薬理作用 細網内皮系機能亢進作用、免疫体産生作用、抗アレルギー作用、副交感神経緊張緩解作用、毒素中和作用。

●剤型 注射剤 散剤 錠剤
 5mg・10mg 0.3%・1% 1mg

《健保適用》

Cepharanthin

セファランチン

化研生薬株式会社

本社 東京都中央区日本橋室町2-1 三井ビル
 東京営業所 東京都三鷹市下連雀3-37-10
 大阪営業所 大阪市東区瓦町2-55 三和ビル

73-D

食欲不振、消化不良に

肝・胆・消化機能改善剤

〈健保適用〉

ウルソサン[®]錠 50mg

ウルソ[®]顆粒

ウルソデスオキシコール酸

■適応症

食欲不振、消化不良、胆石症、胆のう炎、胆管炎、胆汁分泌不全、肝機能不全、ビタミンB₂吸収不全。

■使用上の注意

①次の患者には投与しないでください。

劇症肝炎、胆道閉塞のある患者。

②副作用

胃腸 ときに悪心・嘔吐、軟便、下痢など症状があらわれることがあります。

東京田辺製薬株式会社
 103 東京都中央区日本橋本町2-7-3

UR.内B/2.XIII