和漢薬用植物の抗トリプシン作用とその抗炎症作用

古沢良雄, 黒沢雄一郎, 中馬一操

(帝国臓器製薬株式会社化学研究部)

昭和 47 年 10 月 6 日 受 理

Studies on Trypsin Inhibitor in Oriental Drug Plants and its Anti-inflammatory Effect

By Yoshio FURUSAWA, Yuichiro KUROSAWA and Issu CHUMAN

Department of Chemistry, Research Laboratories, Teikoku Hormone
Mfg. Co., Ltd., Kawasaki, Kanagawa

In order to find a trypsin inhibitor, 63 kinds of oriental drug plants were examined by the casein-Folin method. Strong inhibiting activities were found in Keihi, Botan, Oobaku, Kyoonin, Kanzoo, Takusya, Hisinomi (rind), Dobukuryoo, Maoo, Kuko (stem), Karokon, and Hakuhenzu (bean), and four of these were chosen for further studies. The inhibitor of Keihi was thought to be a catechol tannin from various color reactions. Glycyrrhetic acid, a hydrolytic product of glycyrrhizin which is an ingredient of Kanzoo, showed an inhibiting action for trypsin and chymotrypsin, but not for plant and bacterial proteinases. The inhibitor of Hisinomi was identified as pyrogallol tannin by IR analysis. Partially purified inhibitor preparation of Hakuhenzu was stable in 0.1N HCl, but was not stable in 0.1N NaOH. The preparation showed an anti-inflammatory effect under subcutaneous administration, significantly inhibiting the rat hind paw edema induced by carrageenin.

(Received October 6, 1972)

近年, 生理活性ペプチドの一種であるキニンについての関心が高まってきた理由の一つとして, 種々の炎症, ショック, アレルギー, リウマチ性疾患, ある種の神経性浮腫などの病態が, キニン類の生成に起因するのではないかと考えられ, それぞれに特異性のある抗キニン剤が要求されるという考え方が強まってきたことによる。

キニン類は α_2 -グロブリンにトリプシン, カリクレイン, 蛇毒などのキニン生成酵素が作用するときに生成され, ブラデキニン (キニン 9, カリジン I), カリジン (キニン 10, カリジン II), メチオニルリジールブラデキニン (キニン 11) の 3 種が知られている。炎症の原因については, 必ずしも充分解明されていない。しかし, 炎症巣の化学的特徴として, 種々の酵素活性の変化, 酸性化, 高浸透圧, K イオンの上昇などがあげられており, ブラデキニンは多くの炎症巣に認められている^(1,2)。従って, 著者らはこのキニン類の生成に関与するトリプシンや, カリクレインなどに拮抗する物質を探索すること

は, 上記疾病の治療および予防に意義があるものと考え, 本研究を行なった。事実, 耳下腺や肺組織から得られているペプチド⁽³⁾の Trasylol (市販名)⁽⁴⁾は, カリクレインのみならずトリプシンなどによるキニンの生成を阻害することから, 臨床に広く使用されている。また, 馬鈴薯中に血漿カリクレインを特異的に阻害する物質の存在が報告され, 動物実験で抗炎症作用のあることも報告されている⁽⁵⁾。合成品ではフェニールブタゾン⁽⁶⁾, コーチゾール⁽⁷⁾などの抗炎症剤が, またインドール酢酸⁽⁸⁾, hexyl-N^a-benzoyl-D-lysinate, hexyl- ϵ -aminocaproate⁽⁹⁾などが, 蛋白分解酵素阻害剤として報告されている。

著者らは以上の報告に注目し, 民間薬として古くから用いられている市販の和漢薬用植物 63 種について, その抗トリプシン作用を検討した。その結果, 12 種に比較的高い抗トリプシン作用のあることを認めた。今回, そのうち桂皮, 甘草, ヒシの実, 白扁豆の 4 種について,

Table I. Trypsin-inhibitory Activities of Extracts from 63 Oriental Drug Plants

Plant extract	TI (%) ^{a)}	Plant extract	TI (%) ^{a)}
1. Syokuyoo (生姜: <i>Zingiber officinale</i> Rosc.)	0	33. Hisinomi (ヒシの実: <i>Trapa natans</i> L. var. <i>bispinosa</i> Makino)	67
2. Keihi (桂皮: <i>Cinnamomum Cassia</i> Bl.)	100	34. Kakko (麝香: <i>Agastache rugosa</i> O. Kuntze)	0
3. Tyorei (猪苓: <i>Polyporus umbellatus</i> Fr.)	0	35. Sanyaku (山藥: <i>Dioscorea japonica</i> Thunb.)	0
4. Byakujitu (白朮: <i>Atractylis lancea</i> Thunb. var. <i>ovata</i> Makino)	0	36. Syazensi (車前子: <i>Plantago asiatica</i> L.)	2
5. Kooboku (厚朴: <i>Magnolia hypoleuca</i> Sieb. et Zucc.)	12	37. Kujin (苦參: <i>Sophora angustifolia</i> Sieb. et Zucc.)	0
6. Botan (牡丹: <i>Paeonia Moutan</i> Sims)	71	38. Dokudami (ドクダミ: <i>Houttuynia cordata</i> Thunb.)	0
7. Obaku (黃柏: <i>Phellodendron amurense</i> Rupr.)	50	39. Kagosoo (夏枯草: <i>Prunella vulgaris</i> L.)	29
8. Toonin (桃仁: <i>Prunus persica</i> Sieb. et Zucc. var. <i>vulgaris</i> Maxim.)	0	40. Dobukuryoo (土茯苓: <i>Smilax China</i> L.)	95
9. Ryookyoo (良姜: <i>Alpinia officinarum</i> Hance)	0	41. Syooma (升麻: <i>Cimicifuga simplex</i> Wormsk. var. <i>ramosa</i> Maxim.)	14
10. Bukuryoo (茯苓: <i>Pachyma hoelen</i> Rumph.)	0	42. Gomisi (五味子: <i>Schizandra chinensis</i> Baill.)	48
11. Rengyoo (連翹: <i>Forsythia suspensa</i> Vahl.)	2	43. Onzi (遠志: <i>Polygala tenuifolia</i> Willd.)	0
12. Kyoonin (杏仁: <i>Prunus armeniaca</i> L. var. <i>Ansu</i> Maxim.)	88	44. Keigai (細芥: <i>Nepeta japonica</i> Makino)	47
13. Tinpi (陳皮: <i>Citrus Aurantium</i> L. subsp. <i>nobilis</i> Makino)	0	45. Mao (麻黃: <i>Ephedra sinica</i> stapf.)	92
14. Boofuu (防風: <i>Siler divaricatum</i> Benth. et Hook. fil.)	0	46. Kuko (枸杞: <i>Lycium chinensis</i> Mill.)	97
15. Ooren (黃連: <i>Coptis japonica</i> Makino)	6	47. Intinkoo (茵陳蒿: <i>Artemisia capillaris</i> Thunb.)	13
16. Taisoo (大棗: <i>Zizyphus vulgaris</i> Lam. var. <i>inermis</i> Bunge)	0	48. Kamiture (カミツレ: <i>Matricaria Chamomilla</i> L.)	0
17. Kanzoo (甘草: <i>Glycyrrhiza echinata</i> L.)	90	49. Hakkayoo (薄荷葉: <i>Mentha arvensis</i> L.)	4
18. Tooki (當歸: <i>Ligusticum acutlobum</i> Sieb. et Zucc.)	0	50. Yokuinin (薏苡仁: <i>Coix Lacryma Jobi</i> L. var. <i>frumentacea</i> Makino)	0
19. Takusya (沢瀉: <i>Alisma Plantago-aquatica</i> L. var. <i>orientale</i> Samuels.)	83	51. Yurikon (百合根: <i>Lilium japonicum</i> Thunb.)	0
20. Syukusya (縮砂: <i>Anomum Xanthioides</i> Wall.)	4	52. Karokon (荜撥根: <i>Trichosanthes japonica</i> Regel)	52
21. Uikyoo (茴香: <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.)	0	53. Gositu (牛膝: <i>Achyranthes bidentata</i> Bl. var. <i>japonica</i> Miq.)	0
22. Gosyuyu (吳茱萸: <i>Evodia rutaecarpa</i> Benth.)	39	54. Zenko (前胡: <i>Peucedanum decursivum</i> Maxim.)	4
23. Timo (知母: <i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge)	0	55. Mokutuu (木通: <i>Akebia quinata</i> Decne.)	39
24. Bakumondoo (麥門冬: <i>Ophiopogon japonicum</i> Ker.)	0	56. Saisin (細辛: <i>Asarum Sieboldi</i> Miq.)	17
25. Kikyoo (桔梗: <i>Platycodon glaucum</i> Nakai)	0	57. Engosaku (延胡索: <i>Corydalis decumbens</i> Pers.)	34
26. Hange (半夏: <i>Pinellia ternata</i> Breitenb.)	0	58. Tasisi (芫花子: <i>Cuscuta japonica</i> Choisi.)	5
27. Saiko (柴胡: <i>Bupleurum falcatum</i> L.)	0	59. Hakuhenzu (白扁豆: <i>Dolichos lablab</i> L.)	100
28. Syakuyaku (芍藥: <i>Paeonia albiflora</i> Pall.)	30	60. Zokudan (續斷: <i>Lamium album</i> L. var. <i>barbatum</i> Franch.)	0
29. Kakkon (葛根: <i>Pueraria hirsuta</i> Matsum.)	0	61. Oohi (椴皮: <i>Prunus yedoensis</i> Matsum.)	49
30. Senkyuu (川芎: <i>Cnidium officinale</i> Makino)	0	62. Dokkatu (独活: <i>Angelica polyclada</i> Franch.)	0
31. Oogon (黃耆: <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi)	0	63. Syokusyoo (蜀椒: <i>Xanthoxylum piperitum</i> D. C.)	0
32. Tenma (天麻: <i>Gastrodia elata</i> Blume)	0		

^{a)} trypsin inhibition %.The values are expressed as percentage inhibition of 25 μ g of trypsin by 50 mg of the plant material. The tryptic activity was determined by the casein-Folin method.

若干の検討を行なったので報告する。

材料ならびに方法

試料 試料として用いた和漢薬用植物は、Table I に示した 63 種で、紀ノ国屋(東京)より購入した。

抽出液 粉碎された市販品はそのまま、白扁豆のような原形のものには粉碎して用いた。試料 1g を試験管(2×19cm)にとり、0.1M NaCl 10ml を加えて、80°C の水浴中で、ときどき攪拌して 1 時間抽出した。これを濾過し、濾液を集め、さらに濾紙上の残渣を温水で洗浄しながら先の濾液に合併し、全量を 10ml とした。抽出液は pH 8.0 に調整し、沈殿が生成した場合は濾別した。

酵素活性の測定 ミルクカゼイン(Hammarsten 法)を基質として、1/3 Folin 試薬を用いる Anson・萩原変法⁽¹⁰⁾に従って酵素活性を測定した。用いた基質の濃度は 0.3% であり、酵素液の濃度はトリプシン(Worthington Biochem. Corp.; 2 回再結晶品) 50 µg/ml、キモトリプシン(帝國臓器製薬; キモチーム) 40 µg/ml、Bacterial Alkali-Proteinase(長瀬産業; *Bacillus subtilis* var. *biotekus* より調製)、プロメライン(Miles Chem. Co.) 2mg/ml になるように、0.04M リン酸塩緩衝液(pH 8.0)で調製し、30°C で 10 分間反応を行なわせた。

阻害率の算出 酵素液と同量の抽出液との混液を冷室に 2 時間放置後、残存酵素活性を上記の方法で測定し、阻害率の算出を行なった。

結果および考察

和漢薬用物質(63 種)の抗トリプシン作用

Table I から、阻害率 50% 以上を示したものは、桂皮、牡丹、黄柏、杏仁、甘草、沢瀉、ヒシの実、土茯苓、麻黄、枸杞、括楼根、白扁豆の 12 種であった。

抗トリプシン作用物質の透析性

50% 以上の阻害率を示した 12 種について、セロファンチューブに対する透過性を検討した。すなわち、試料 5g 相当の抽出液(50ml)を内径 23.8mm の Visking チューブに入れ、500ml の蒸留水に対して、1 夜、冷室にて透析を行なった。透析外液は、50ml まで減圧濃縮した。一方、内液は量的にほとんど増減がなかったもので、そのまま抗トリプシン作用を測定した。その結果は Table II に示した。

黄柏、沢瀉、甘草、白扁豆、枸杞(茎部)、括楼根の 6

Table II. Localization of Anti-tryptic Activity of Inhibitors after Dialysis

Origin	Outer solution	Inner solution
Keihi	100%	0%
Botan	53	18
Oobaku	0	50
Kyoonin	63	25
Kanzoo	0	90
Takusya	0	83
Hisinomi	67	0
Dobukuryoo	95	0
Mao	92	0
Kuko (stem)	0	97
Karokon	0	52
Hakuhenzu	0	100

The values are expressed as percentage inhibition of tryptic activity. Five grams of each drug plant was extracted with 50ml of 0.1M NaCl at 80°C for 1hr and filtered. The filtrates were dialyzed against 500ml of distilled water in an ice box overnight. Both of inner- and outer solutions, after being concentrated to 50ml *in vacuo*, were analyzed for the inhibitory activity by the method described in the text.

種は非透析性であり、その抗トリプシン作用物質は高分子であることが予想された。

抗トリプシン作用物質の検討

50% 以上の抗トリプシン作用を示した 12 種のうち、桂皮、甘草、ヒシの実、白扁豆の 4 種について、その抗トリプシン作用物質を検討し、以下の結果を得た。

1) 桂皮: Table II から、透析外液に強い抗トリプシン作用のあることを認めたので、Fig. 1 の方法によって精製を行なった。

抗トリプシン作用を有する精製物は、タンニン酸の一般反応に陽性であったことから、ピロガロールタンニンである局方タンニン酸(大日本製薬)と比較を行なった。

トリプシンに対する作用は 250 µg/ml の濃度で、桂皮精製物では 79%、局方タンニン酸では 84% の阻害を示した。また、呈色反応、融点、IR スペクトルからみても、両者に明らかな差異が認められた(Table III)。

呈色反応でブロム水、塩酸ホルマリンにより赤褐色の沈殿、塩化鉄により深緑色を呈する⁽¹¹⁾ことから、カテコールタンニンか、またはこれにきわめて近縁な物質であると思われるが、詳細は今後、さらに検討する予定である。

2) 甘草: 甘草の有効薬理成分⁽¹²⁾としてグリチル

リチン, リクイリチンが知られており, その含量⁽¹⁸⁾ はグリチルリチン 6~14%, リクイリチン 0.7~1% である。

これらの化合物は水溶性であるから, 本実験で用いた抽出液に存在することは容易に想像される。そこで, グリチルリチン (東京化成) のトリプシンに対する作用を検討し, 500 $\mu\text{g/ml}$ で 16%, 250 $\mu\text{g/ml}$ で 8% の阻害を示すことが認められた。

グリチルリチンは酸で加水分解され, グリチルレチン

Fig. 1. Isolation Procedure of Proteinase Inhibitor from Keihi.

酸と 2 分子のグルクロン酸になるが, このグリチルレチン酸 (丸善製薬) は天然にも存在することが知られている⁽¹⁸⁾ ので, 上記と同様に検討を行ない, グリチルリチンの 10 数倍の阻害作用を有することを認めた。2, 3 の蛋白分解酵素に対する阻害作用も併せて検討した結果は, Fig. 2 に示したように, トリプシン, キモトリプシンは阻害したが, 植物性および細菌起源の蛋白分解酵素には阻害作用を示さなかった。

しかし, 甘草抽出液の抗トリプシン活性がグリチルリチンやグリチルレチン酸に由来するのか, あるいは他の阻害物質が存在するのかは, まだなんともいえない。

Fig. 2. Inhibitory Effects of Glycyrrhetic Acid on Several Proteinases.

○—○ trypsin (25 $\mu\text{g/ml}$), Δ — Δ chymotrypsin (20 $\mu\text{g/ml}$), ●—● bacterial proteinase (25 $\mu\text{g/ml}$), □—□ bromelain (1000 $\mu\text{g/ml}$).

Table III. Some Properties of Keihi Extract as Compared to Those of Authentic Tannic Acid

Test	Keihi extract	Tannic acid (authentic)
Ferric chloride	Green ppt.	Blue-black ppt.
1% FeCl_3 + 1% $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	Green ppt.	Blue-black ppt.
Gelatin solution	White ppt.	White ppt.
Pyridine solution	Muddiness	White ppt.
Bromine, aqueous	Orange-red ppt.	No change
Lead acetate	No change	White ppt.
Formalin HCl	Orange-red ppt.	No change
Hide powder treatment	Adsorption	Adsorption
Melting point	180~5°C (brown)	185~190°C (dec.)
IR absorption spectrum (KBr disk)	3350, 2950, 1605, 1520, 1440, 1280, 1150, 1060, 800 cm^{-1}	3350, 2750, 1700, 1605, 1520, 1440, 1330, 1090, 1030, 960, 870, 760 cm^{-1}
Trypsin inhibition % ^{a)}	79%	84%

^{a)} sample concentration : 250 $\mu\text{g/ml}$.

3) ヒシの実 : 実験に用いたヒシの実は、果皮および果肉の混合物であるので、両者を分け、それぞれ抽出を行ない、抗トリプシン作用を検討した。果皮に阻害作用を認め、果肉には全くその作用を認めなかったため、果皮 60 g から Fig. 3 の方法によって精製し、約 1 g の抽出物を得た。この抽出物は水に易溶で、塩化第二鉄で青紫色の沈殿、ゼラチンに対し白沈を生成したことから、上記桂皮の場合と同様、タンニンを選択的に吸着する ALCA 公定法⁽¹⁴⁾による皮粉処理を行ない、残存する抗トリプシン作用を測定したが、全く阻害作用を認めなかった。従って阻害物質はタンニンであろうと考えられたので、抽出物と局方タンニン酸の IR スペクトルを比較した。

Fig. 4 に示したように、両者は完全に一致した。

4) 白扁豆 : 粉碎した白扁豆から Fig. 5 の方法により粗末 (HTI) を調製し、次の実験を行なった。しかし、HTI をポリアクリルアミド・ゲルで電気泳動し、アミドブラック 10 B で染色すると、多数の蛋白質のバンドが認められた。

1. 酸・アルカリに対する安定性 : HTI 3 mg を 10 ml

Fig. 3. Isolation Procedure of Proteinase Inhibitor from Hisinomi.

Fig. 4. Infrared Absorption Spectra (KBr) of Hisinomi Extract and Tannic Acid (authentic).

Ground Hakuhenzu

```

graph TD
    A[Ground Hakuhenzu] --> B[Extracted with distilled water]
    B --> C[Filtrate]
    C --> D[Removed of the precipitates at pH 3.5 and 10]
    D --> E[Filtrate]
    E --> F[Boiled for 15 min at pH 6.0]
    F --> G[Filtrate]
    G --> H[Added with the same volume of acetone]
    H --> I[Filtrate]
    I --> J[Added Hyflo super-cel and the same  
volume of acetone]
    J --> K[Precipitate]
    K --> L[Extracted twice with distilled water  
Dialyzed against distilled water  
Lyophilized]
    L --> M[Crude inhibitor (HTI)]
  
```

Fig. 5. Isolation of Crude Trypsin Inhibitor from Hakuhenzu Bean.

の 0.1 N HCl, または 0.1 N NaOH に溶解し, 70, 80, 100°C で, それぞれ 10, 30, 60 分間加熱した。処理後直ちに冷却し, これに 0.04 M リン酸塩緩衝液 (pH 8.0) を 15 ml 加え, pH 8.0 に補正し, 全量を 30 ml とした。抗トリプシン作用の測定は HTI 濃度 25 μ g/ml で行ない, その結果は Fig. 6 に示した。

HTI の阻害作用は, 酸性では高温でもきわめて安定であるが, アルカリ性で加熱すると容易に失活することが認められた。

2. ペプシンに対する安定性 : HTI 3 mg を 10 ml の 0.05 N HCl に溶解し, 100°C で 15 分間加熱した。40°C まで冷却し, 40°C の恒温槽に移し, 30 μ g のペプシン (Worthington Biochem. Corp.; 2 回再結晶) を加え, 30 分間反応させた。反応後 pH 8.0 とし, 全量を 30 ml とし, 抗トリプシン作用を上記と同様の方法で測定した。その結果は Fig. 7 に示したように, 抗トリプシン作用にほとんど変化がみられなかったことから, HTI は

ペプシンに対して安定であることが認められた。

3. 2, 3 の蛋白分解酵素に対する阻害作用 : HTI の 2, 3 の蛋白分解酵素に対する阻害作用を市販の大豆トリプシンインヒビター (Sigma Chem. Co.; Type 1-S) と比較し, その結果を Fig. 8 に示した。HTI は動物起源のトリプシンやキモトリプシンに対しては強い阻害作用を示したが, 植物性のプロメラインや細菌起源の蛋白分解酵素には, 阻害作用を示

Fig. 6. Effect of Temperature on Stability of HTI in 0.1N HCl or NaOH.

After incubation for the indicated periods, the solution was adjusted to pH 8.0, and the remaining tryptic activity was determined by the casein-Folin method. Concentration of HTI: 25 μ g/ml, concentration of trypsin: 25 μ g/ml.

さなかった。

4. 抗炎症作用: ラット足腫浮腫におよぼす作用から, HTI の抗炎症作用の検定を行なった。起炎剤にカラゲニンを用い, その 0.5% 溶液 0.1ml を Wistar 系雄ラット (体重 170~200g, 1 群 5 匹) の後足趾内に投与し, 5 時間後の浮腫を Buttle ら⁽¹⁵⁾ の方法で測定した。検液の投与は, 起炎剤の投与 1 時間前に行なった。

Table IV から, HTI 50mg/kg の皮下投与でカラゲ

Fig. 7. Effect of Pepsin on HTI.

HTI (30mg) was dissolved in 10ml of 0.05N HCl and boiled for 15min. To the solution was added 30 μ g of pepsin, and the mixture was incubated at 40°C for 30min. The reaction was stopped by boiling. After the solution was adjusted to pH 8.0, the remaining tryptic activity was determined by the casein-Folin method.

○---○ untreated, ×---× treated with pepsin.

ニン浮腫を有意に抑制した。しかし, 経口投与では 8 倍量の 400mg/kg でも, 有意な効果は認められなかった。

5. 毒性試験: 体重 17~19g の dd 系マウスを用い, 皮下および腹腔内投与により, 1 群雌 5 匹, 雄 5 匹の計 10 匹で, 556mg/kg 投与時の急性毒性を観察したが, 皮下および腹腔内投与いずれの場合も, 死亡例はみられなかった。また, 一般症状の観察は 96 時間行なったが, 投与 10~30 分後に鎮静状態になり, その後, 嗜眠に入り翌日まで続き, 同時に立毛もみられたが, 96 時間後には全動物とも回復した。さ

らに, 局所および解剖所見にも, 特記すべきものは認められなかった。

要 約

市販和漢薬用植物 63 種について, カゼインを基質としたときの抗トリプシン作用を検討した。その結果, 50% 以上の阻害率を示したものは桂皮, 牡丹, 黄柏, 杏仁, 甘草, 沢瀉, ヒシの実 (果皮), 土茯苓, 麻黄, 枸杞 (茎部), 括楼根, 白扁豆の 12 種であった。このうち, 黄柏, 甘草, 沢瀉, 枸杞, 括楼根, 白扁豆の阻害物質は, 非透析性を示した。

Fig. 8. Inhibitory Effects of HTI and Soy Bean Trypsin Inhibitor (STI) on Several Proteinases.

○—○ HTI, ×—× STI.

Table IV. Anti-inflammatory Effect of HTI on Carrageenin Induced Edema of Rat Hind Paw

A)	Dose (mg/kg, sc)	Percent swelling of edema ^{a)}	Percent anti- inflammatory effect
Control		68.2	
HTI	50	32.1	52.9

B)	Dose (mg/kg, po)	Percent swelling of edema ^{a)}	Percent anti- inflammatory effect
Control		54.2	
HTI	400	46.2	15.3

^{a)} Percent swelling of edema = $(V_d/V_c - 1) \times 100$, V_d : volume of inflamed food, V_c : volume of non-inflamed food.

Carrageenin was injected (0.1 ml of 0.5% suspension of carrageenin in 0.9% saline) into the plantar side of the right hind paw of each animal. The volume of the rat paw was measured by the micropipette technique described by Buttle *et al.* before and 5 hr after carrageenin injection. A) subcutaneous administration (sc), B) per os administration (po).

(1) 桂皮の阻害物質は、皮粉処理により完全に吸着されることや、種々の呈色反応から、カテコールタンニンか、それに類似した物質であろうと推定した。

(2) 甘草の成分グリチルリチンおよび、その加水分解物であるグリチルレチン酸の抗トリプシン作用を検討した。グリチルレチン酸は、グリチルリチンの 10 数倍の抗トリプシン作用を示し、さらに抗キモトリプシン作用もみられたが、植物性および細菌起源の蛋白分解酵素に対する阻害作用は、認められなかった。

(3) ヒシの実の阻害物質は、局方タンニン酸と一致した。

(4) 白扁豆の阻害物質は温水で抽出され、アセトンで粗末として沈殿分離された。粗末はトリプシン、キモトリプシンに対して阻害作用を示したが、植物性のプロメラインや細菌起源の蛋白分解酵素に対しては阻害しなかった。また、粗末は酸やペプシンに安定であったが、アルカリでは不安定であった。さらに、カラゲニン浮腫に対し、皮下投与で有意な抑制を示した。しかし、経口投与では対照と有意な差はみられなかった。

本研究の概要は、1970 年 6 月の日本農芸化学会関東支部講演会で発表した。

終りに本研究の発表に際し、ご校閲を賜った東京教育大学理学部西沢一俊教授に謹謝する。

本研究の発表を許可くださった宮田鶴松研究開発部門長に深謝するとともに、終始、種々のご援助をくださった松島早苗、沢井政信両部長、犬塚達也室長に感謝する。また、本実験に協力された北目文郎、和洋女子大学小森知子、鎌田範子、高橋照の諸氏に感謝する。なお、抗炎症作用および急性毒性の実験をしていただいた樽谷正朗、鈴木稔両主任研究員に感謝する。

- (1) S. Goldfinger, K. L. Melmon, M. E. Webster, A. Sjoerdsma and J. E. Seegmiller: *Arth. and Rheum.*, **7**, 311 (1964).
- (2) H. Ederly and G. P. Lewis: *J. Physiol.* (Lond.), **169**, 568 (1964).
- (3) H. Kraut and N. Bhargava: *Z. Physiol. Chem.*, **338**, 231 (1964).
- (4) E. Werle, I. Trautschold, H. Haendle and H. Fritz: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **146**, 464 (1968).
- (5) 守屋 寛: 第 12 回日本薬学会関東支部大会講演要旨集, p. 42 (1967); H. Moriya, Y. Hojima, C. Moriwaki and T. Tajima: *Experientia*, **26**, 720 (1970).
- (6) F. C. Prats: *Rev. Real Acad. Farm. Barcelona*, No. 8, 56 (1963) [*C. A.*, **60**, 13504 c (1964)].
- (7) M. J. Cline and K. L. Melmon: *Science*, **153**, 1135 (1966).
- (8) J. D. Geratz: *Arch. Biochem. Biophys.*, **110**, 150 (1965) [*C. A.*, **62**, 15006 f (1965)].
- (9) M. Muramatsu, Y. Hayakumo and S. Fuji: *J. Biochem.*, **62**, 408 (1967).
- (10) 萩原文二: 酵素研究法 II, 朝倉書店, 1956, p. 237.
- (11) 船久保英一: 有機化合物確認法上巻, 養賢堂, 1953, p. 15.
- (12) 刈米達夫, 木村雄二郎: 最新和漢薬用植物, 広川書店, 1964, p. 234.
- (13) 日本薬局方 (第 7 改正) 第一部解説書, 広川書店, 1961, p. C-456.
- (14) American Leather Chemical Association: *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, **49**, 174 (1954).
- (15) G. A. H. Buttle, P. F. D'Arcy, E. M. Howard and D. N. Kellett: *Nature*, **179**, 629 (1957).