

医薬品の働きを知る ーヒトの消化と消化薬の働きー

1. ヒトの消化について

1-1 代謝と酵素

生物は生体外から必要な物質を取り入れ、不要となった物質を排出している。その中では大きく二つの反応が行われており、それは、取り入れた物質を材料として新たな物質、つまり体を構成する化学的に複雑な物質を合成（同化）と取り入れた物質や合成した物質を分解（異化）の反応に分けられる。この反応を代謝とよび、代謝を触媒するものは全て酵素で行われている。代謝の過程では、化学反応の変化に伴ってエネルギーの出入りが起きている。これをエネルギー代謝と呼び、この代謝でエネルギー放出と吸収反応の仲立ちを行う重要な役割を果たしているのがATP（アデノシン三リン酸）である。ATPはATPを生成する際にエネルギーを蓄積することができ、ATPをADPに分解する際にエネルギーを放出する。生体内において、グルコースは酸素を必要としない解糖系（EMP経路）を経て分子のピルビン酸になり、2分子のピルビン酸は、クエン酸回路（TCAサイクル）を経て6分子の二酸化炭素に分解される。この一連の生成物の一つは、電子伝達系にてATP生成に用いられ、グルコース1分子より、38分子のATPを生成することになる。その後、生成されたATPはエネルギーとして利用されることになる。この一連の代謝を触媒しているのは全て酵素である。

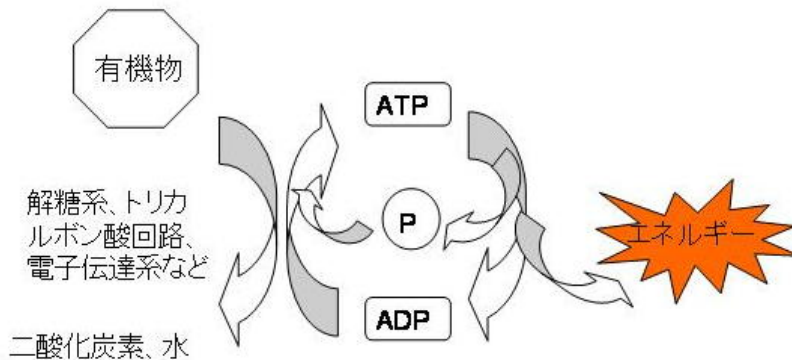


図1 生体内でのエネルギー変換とATP

1-2 ヒトの消化について

ヒトは他の動物と同じように、他の生物を食べて生きている。なぜなら、自分で栄養を作ることができない従属栄養生物だからである。他の生物は大きすぎてそのまま体の中に取り入れることができない。

食べ物は、主に炭水化物（デンプンなど）、タンパク質、脂肪でできている。これらの栄養は、炭水化物と脂肪は、ATPを生成するために主に利用され、タンパク質は筋肉や体の成分（皮膚、髪、骨など）の材料となっている。しかし、食べたそのまま利用できるのではなく、タンパク質は20種類のアミノ酸に分解されるし、デンプンなどの多糖は、グルコースなどに分解されて吸収される。このように食べ物に含まれる栄養素を小さい分子に分解する作用を消化と呼んでいる。消化によって、炭

水化物はグルコース、タンパク質はアミノ酸、脂肪は脂肪酸とグリセリンにまで分解され、吸収される。

消化を行うのは口から肛門までのひとつながりとなった管で、消化管と呼んでいる。消化管は、口、食道、胃、十二指腸、小腸、大腸、直腸、肛門などに分けられる。

食べ物が消化管に入ると、消化器官から消化液が分泌される。消化器官ごとに異なる消化液（表1）が分泌され、それぞれの消化液の中には特定の消化酵素が含まれている。消化酵素は、タンパク質、脂肪、炭水化物を分解する働きをもっている。最終的に、消化器官は、消化器官を通り抜けるたびに、炭水化物、タンパク質や脂肪を次々に消化する。

表1 主な消化液とそれに含まれる消化酵素

		デンプン		脂肪	タンパク質		
消化酵素		アミラーゼ	マルターゼ	リパーゼ	ペプシン	トリプシン	ペプチダーゼ
含まれる消化液	唾液	○					
	胃液				○		
	すい液	○	○	○		○	
	小腸液		○				○

- 1) **口** 食べ物は最初に口の中で歯によって咀嚼され、細かく碎かれる。唾液腺から唾液が大量に分泌され、舌によって食べ物と唾液を十分に混ぜ合わせている。唾液の中には、アミラーゼという消化酵素（表1）が含まれている。この作用によって、唾液中でデンプンは大まかに分解されて、麦芽糖（マルトース）になる。
- 2) **食道** 飲み込まれた食べ物（細くなったもの）は、食道に送られる。食道は柔らかな管で、ぜん動運動によって食べ物を胃まで送る。
- 3) **胃** 胃から胃液が分泌される。胃液にはペプシンという消化酵素であるプロテアーゼと塩酸が含まれている。ペプシンはタンパク質を分解する酵素で、肉などを表面から少しずつアミノ酸に分解する。塩酸は食べ物の組織を柔らかくするし、食べ物に含まれる菌類や細菌を殺す作用を持っている。食べ物は、胃の中で2,3時間留まり、溶ける。
- 4) **十二指腸** 胃と小腸を結ぶ約30cmの管である。ここでは、すい臓から分泌されるすい液と、肝臓から分泌され、胆のうに蓄積された胆汁が分泌される。すい液にはタンパク質を分解するトリプシン、デンプンを分解するアミラーゼ、マルトースを分解するマルターゼ、脂肪を分解するリパーゼなどの消化酵素が含まれている。胆汁には酵素は含まれていないが、脂肪を乳化し、リパーゼの分解を助ける役目をしている。
- 5) **小腸** 小腸では消化と吸収が行われる。十二指腸で混合された各消化酵素を含んでいるすい

液と分解途中の食べ物は、小腸でよくかき混ぜられ、さらに小さく分解され、消化が促進される。最終的な消化を行う消化酵素は小腸の微柔毛についており、マルターゼ、サッカラーゼ(ショ糖をグルコースとフルクトースへ)、ペプチダーゼなどがある。完全に消化されて生じたグルコースなどの糖、アミノ酸、脂肪酸は吸収される。

1-3 酵素について

細菌から高等動物まで、生物の生命活動は、個々の化学反応に分解できる。生体内でこれらの化学反応を触媒している物質が酵素である。食べ物を食べて消化し、その分解物を栄養素として吸収し、その体の各成分を形作ったり、エネルギーを生み出したりするのも、全て酵素が大きな役割を果たしている。このような酵素は約 2,400 種類以上知られており、消化に関わるアミラーゼやマルターゼ、プロテアーゼもその一つである。酵素はほとんどタンパク質からいる。純粋にタンパク質だけからできている酵素もあるが、ペプチド鎖に糖鎖が結合した糖タンパク質や金属や補酵素と呼ばれる低分子化合物が結合している酵素もある。ヒトの消化に関わる酵素のうち、本実験で使用するアミラーゼ、マルターゼ、およびプロテアーゼについて以下にまとめる。

(a) デンプン分解酵素

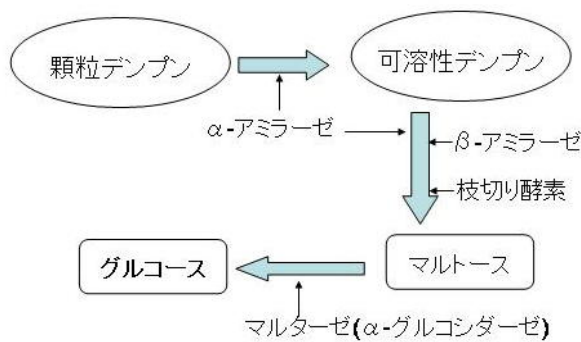


図2 アミラーゼ系酵素によるデンプンからのグルコースの生成

デンプンを分解するアミラーゼを大別すると、その作用様式によって大きく二つのグループに分けられる。基質(ここでいうデンプン)の分子鎖中の α -1,4-結合をほぼランダムに加水分解するエンド型と基質の非還元性末端から、1個、2個、3個というように規則正しくグルコース、マルトース、マルトトリオースのような糖を逐次生成していくエキソ型に分けられる。前者の代表が、 α -アミラーゼであり、グルコアミラーゼ、 β -アミラーゼ、オリゴ糖生成アミラーゼである。

酵素の活性を測定するには、その酵素の基質と一定条件で反応させ、生産物の生成する速度または基質の減少する速度を測定する。一般的には前者を測定するが、デンプンを基質とする場合には、デンプンの糊精化力の低下をヨウ素デンプン反応によって測定する場合もある。一般には、エンド型の α -アミラーゼによって生成された還元性末端量を測定したりする。

(b) タンパク質分解酵素

プロテアーゼは、ペプチド結合加水分解酵素の総称であり、広い意味でペプチダーゼである。アミノ酸がペプチド結合によって鎖状に連結したペプチド(一般に 100 残基未満、つまり分子量 10,000 以下)やタンパク質(一般に 100 残基以上、分子量 10,000 以上)のペプチド結合を加水分解する酵素で、様々な種類に分類されている。

分解の位置による分類として、エキソペプチダーゼとエンドペプチダーゼがある。前者は、ペプチ

ド鎖の配列末端から、およそ1ないし2アミノ酸残基ずつ切り取るタイプであり、後者はペプチド鎖の配列中央を切断するタイプである。また、基質による分類として、タンパク質を分解するものはプロテイナーゼ、より小さい分子量の小さな合成ペプチドを分解するものはペプチダーゼである。さらに、触媒する部位や機構の相違によって分類されており、活性部位にセリン残基が関与しているセリンプロテアーゼ（キモトリプシンなど）、活性部位にアスパラギン酸残基が関与している酸性プロテアーゼ（ペプシンなど）、さらに金属プロテアーゼ、活性部位にシステイン残基が関与しているチオールプロテアーゼ（パパインなど）に分けられる。これら多くの種類のプロテアーゼは、反応するためのpH範囲も異なり、分解できる基質も異なる。

2 ヒトの消化実験

2-1 目的

生体内の消化においては、表1に示しているように、各器官において、異なった性質を持ったタンパク質分解酵素、デンプン分解酵素および脂肪分解酵素を分泌している。ヒトは、暴飲暴食をすることによって、胃腸の病気などになった場合、これらの消化が不十分になり、胃もたれ、胃痛、消化不良などの症状を発生する。この症状を軽減および解消するために、一般にヒトは、現在これら酵素入りの胃腸薬を飲んでいる。

本実験では、異なったアミラーゼあるいはプロテアーゼと市販胃腸薬の消化特性を比較することによって、ヒトの消化特性について理解し、胃腸薬の作用について理解を深めてもらいたい。

2-2 用意するもの

アミラーゼ試験

α -アミラーゼ、ジアスターゼ、マルターゼ、グルコーステストワコー、胃腸薬2種、ねじ付試験管、試験管立て、ブロックヒーター、鍋、コンロ、分光光度計、ヨウ素-ヨウ素カリウム溶液、ジニトロサリチル酸溶液、ピペットマン、チップ、1.5ml 容サンプリングチューブ、キムワイプ、キムタオル

プロテアーゼ試験

ペプシン、トリプシン、胃腸薬2種、0.6%ミルクカゼイン溶液(pH 2.0, pH 9.0)、0.6%不溶性大豆タンパク質溶液(pH 2.0, 9.0)、ねじ付試験管、試験管立て、ブロックヒーター、試験管、ロート、No.131ろ紙、鍋、コンロ、分光光度計、ピペットマン、チップ、1.5ml 容サンプリングチューブ、キムワイプ、キムタオル

2-3 実験方法

2-3-1 アミラーゼの特性と評価実験

表2 アミラーゼ実験に関するグループ分け

	α -アミラーゼ	ジアスターゼ	胃腸薬A	胃腸薬B
グループ1	○		○	
グループ2		○		○
グループ3	○			○
グループ4		○	○	

アミラーゼの実験においては、各グループは表2に示した酵素を用いて実験を行う。

- ① 各試験管に必要な反応溶液を入れ、37°Cでの反応を開始する。
- ② 反応開始して直後に、各1本は、反応時間0時間として、測定を行う。(方法は以下に示している)
- ③ その後、10分、20分、30分のサンプルも同様に両定量を行う。
- ④ 30分後については、グルコース定量およびマルターゼ処理後のグルコース定量も行う。

【ヨウ素呈色法】

- ① ネジ付き試験管に、50 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 6.8) 中に可溶性デンプンを0.05%となるように溶かした溶液を2 ml 入れ、30°Cに5分間保つ。
- ② これに適当に希釈した酵素液0.25 ml を加え反応を開始する。反応時間は各反応時間とする。
- ③ それにあらかじめ用意しているヨウ素-ヨウ化カリウム液を0.25 ml 添加し、よく混合させる。さらに、3 ml の水を添加し、620 nm の吸光度は、分光光度計を用いて測定する。
- ④ あらかじめ反応開始前の吸光度を測定しておき、それをブランクとする。
- ⑤ ブランクの値からの減少率、10%を任意に1単位とする。つまりブランクが1.00 で、反応後に0.90 になった場合、1単位 (Unit) とする

【還元糖測定法】

- ① ネジ付き試験管に、50 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 6.8) 中に可溶性デンプンを0.05%となるように溶かした溶液を2 ml 入れ、30°Cに5分間保つ。
- ② これに適当に希釈した酵素液0.25 ml を加え反応を開始する。反応時間は各反応時間とする。
- ③ この反応物0.2 ml にあらかじめ用意しておいたジニトロサリチル酸溶液0.4 ml を添加する。
- ④ 5分間煮沸した後、水冷後、水1.8 ml を添加し、525 nm の吸光度を測定する。この測定によって、還元末端はグルコース50~200 μ g 当量が定量できる。
- ⑤ 還元糖量 (μ g/ml) は、(OD_{test} - OD_{blank}) \times 1.285 + 0.0088 で計算すること。

【グルコースの定量】

アミラーゼによって生成されるグルコース量およびマルトース量は、グルコース GII-テストワコー (ムタロターゼ-GOD 法) を用いて行う。

- ① ネジ付き試験管に、50 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 6.8) 中に可溶性デンプンを0.05%と

なるように溶かした溶液を 2 ml 入れ、30°Cに 5 分間保つ。

- ② これに適当に希釈した酵素液 0.25 ml を加え反応を開始する。反応時間は 30 分間とする。
- ③ この反応物 0.02 ml に発色試薬 3.0 ml を添加し、37°C、5 分間反応させる。
- ④ 反応後、505 nm の吸光度を測定する。なお、ブランクは発色試薬 3.0 ml で行う。
- ⑤ グルコース濃度 (mg/dl) = $(E_s \div E_{std}) \times 200$ E_s はサンプルの A_{505} で、 E_{std} は標準の A_{505} である。
- ⑥ ②の反応の後、市販マルターゼで酵素反応を行い、生成されているマルトースをグルコースに分解させる。
- ⑦ マルターゼ処理した後に、③～⑤の処理を行い、グルコース量を測定する。マルターゼ処理によって増加したグルコース量を算出する。

2-3-2 プロテアーゼの特性と評価実験

表3 プロテアーゼ実験に関するグループ分け

	ペプシン	トリプシン	胃腸薬A	胃腸薬B
グループ1	○		○	
グループ2		○		○
グループ3	○			○
グループ4		○	○	

【プロテアーゼ実験】

- ① 0.6%ミルクカゼイン (pH 2.0 200 mM グリシン-塩酸緩衝液、pH 9.0 200 mM Tris-HCl 緩衝液)、0.6%不溶性大豆タンパク質 (pH 2.0 200 mM グリシン-塩酸緩衝液、pH 9.0 200 mM Tris-HCl 緩衝液) 3.0 ml を試験管に入れて、37°Cで 5 分間インキュベートする。
 なお、ペプシンは pH 2.0、トリプシンは pH 9.0 で、胃腸薬は両方の pH で活性を測定する。よって、各グループは、試験管に 8 本 (2 パターン、2 本ブランク、2 本 (ミルクカゼイン、大豆反応 15 分)、2×4 本) とする。
- ② 各酵素 0.5 ml を添加する (胃腸薬の濃度派その都度指示する)。37°C、15 分間インキュベートする。各酵素 0.5 ml を添加する前に、あらかじめ用意しておいた TCA 溶液を 3.2 ml 添加してブランクとする。酵素反応させた後、あらかじめ用意しておいた TCA 溶液を 3.2 ml 添加し、反応を止める。
- ③ その後、20 分間インキュベートして、No. 131 ろ紙を用いて、ろ過する。
- ④ ろ過後に、ろ液は 275 nm の吸光度を測定する。

2-4 実験の結果、考察（アミラーゼ）

1) 時間毎のヨウ素呈色値および還元糖量を表にして、グラフ化しなさい。

酵素名	定量値	反応時間(分)			
		0	10	20	30
	ヨウ素呈色値				
	還元糖量($\mu\text{g/ml}$)				
胃腸薬	ヨウ素呈色値				
	還元糖量($\mu\text{g/ml}$)				

2) 各酵素処理におけるマルトースおよびグルコース遊離量を計算しなさい。

酵素名	生成量(mg/dl)	
	マルトース	グルコース
胃腸薬		

3) 市販酵素と胃腸薬の分解性について比較し、考察しなさい。

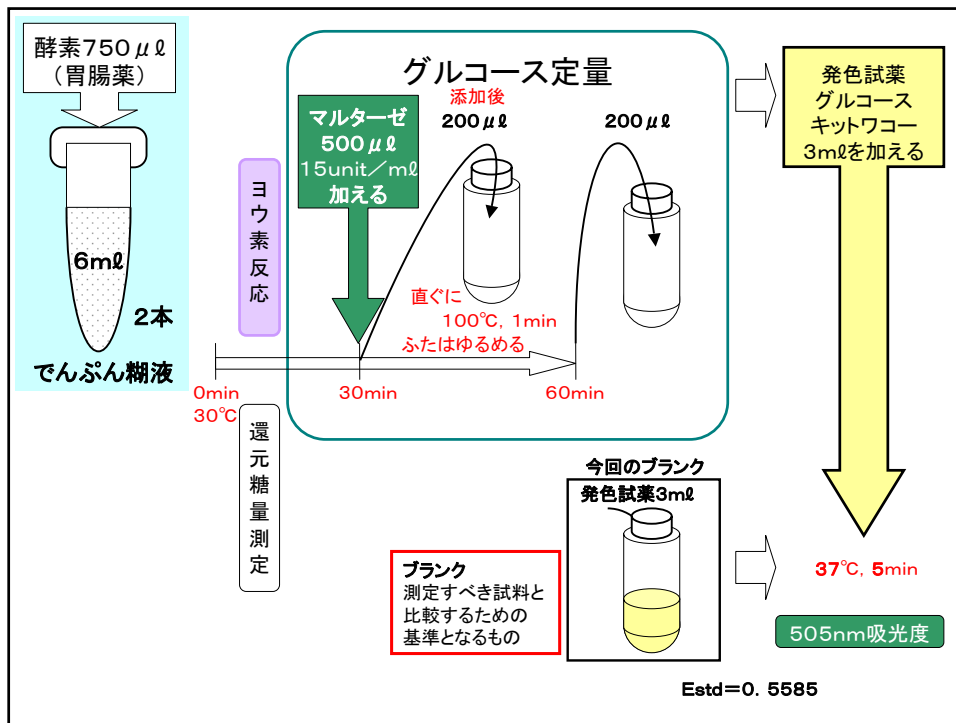
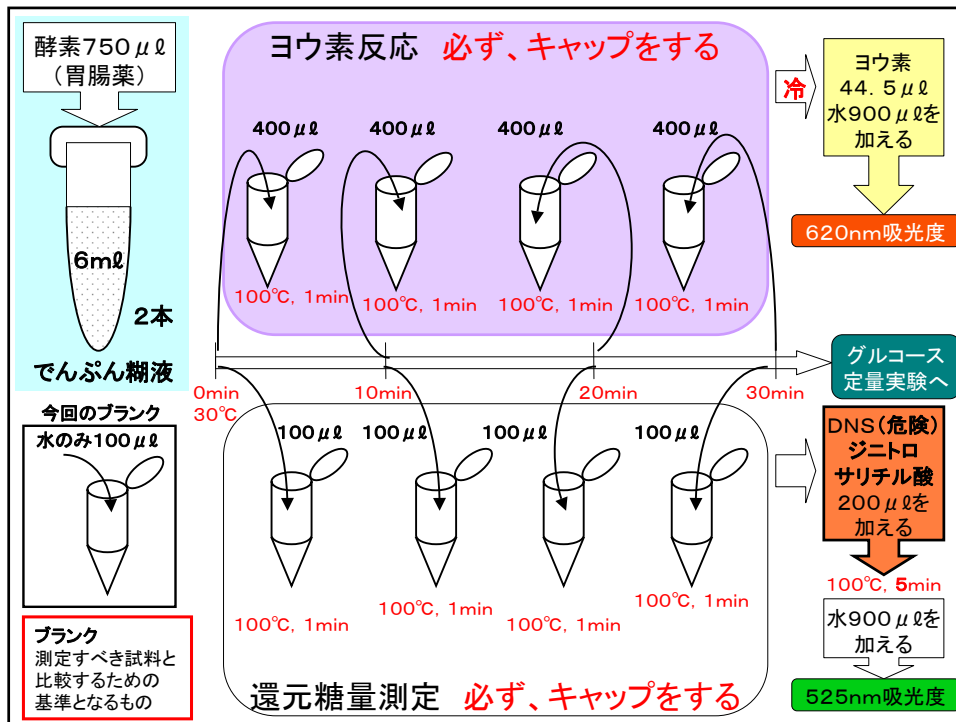
2-5 実験の結果、考察（プロテアーゼ）

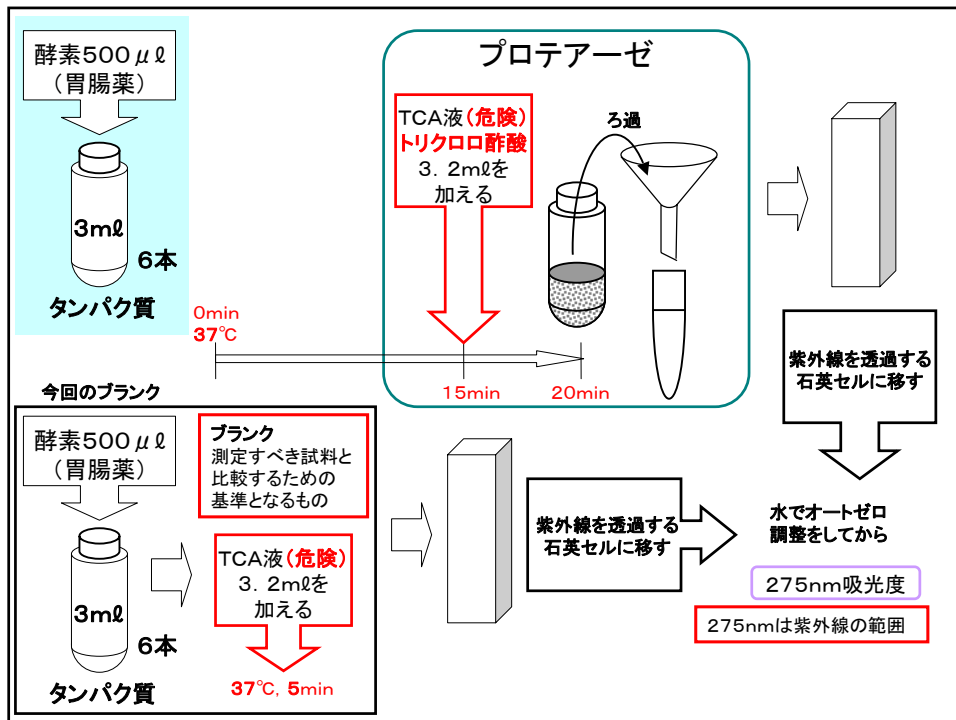
- 1) 実験結果の吸光度から、以下の式を用いて、酵素活性(U/ml)を計算しなさい。

$$\text{酵素活性(U/ml)} = \frac{\Delta OD_{275}(\text{30分後の値} - \text{ブランクの値}) \times 6.7 \text{ ml}}{1.34 \times 15 \times 0.5}$$

酵素名		胃腸薬	
pH		2	9
ミルクカゼイン			
大豆タンパク質			

- 2) ペプシンあるいはトリプシンと胃腸薬の可溶性タンパク質および不溶性タンパク質の分解についての特性について比較しなさい。





酵素 α-アミラーゼ 0.1 unit/ml
アミラーゼ ジアスターゼ 0.1 unit/ml

胃腸薬 A: 強力わかもと 1mg/ml
 B: 新タカヂア 1mg/ml

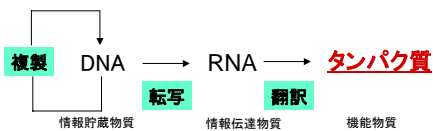
プロテアーゼ ペプシン 1mg/ml
 トリプシン 0.8mg/ml 1gでタンパク質100gを分解する

医薬品の働きを知る -ヒトの消化と消化薬の働き-

三大学医工薬連環科学教育研究機構
2010/8/26 河原秀久、坂元 仁

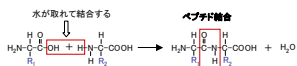
酵素とは。

定義: タンパク質を主成分とする生体触媒



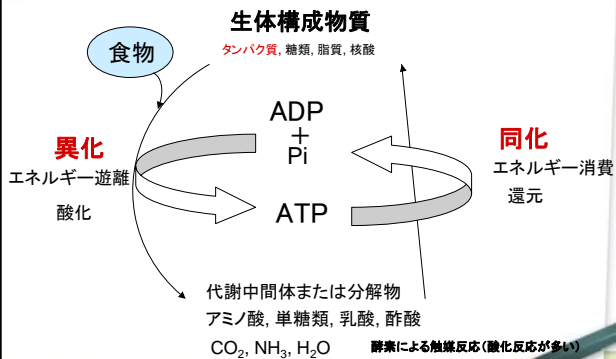
20種類のL-アミノ酸

- トリプトファン
- フェニルアラニン
- リシン
- トレオニン
- メチオニン
- イソロイシン
- バリン
- ヒスチジン
- ロイシン



ヒトの必須アミノ酸
体の中で生合成できない

物質代謝とエネルギー代謝



酵素の分類

1. 酸化還元酵素
2. 転移酵素
3. 加水分解酵素
4. 脱離・付加酵素
5. 異性化酵素
6. 合成酵素

切断箇所

- 脂肪の分解
エステル結合 → リパーゼなど
- デンプンの分解
グリコシド結合 → アミラーゼなど
- タンパク質の分解
ペプチド結合 → プロテアーゼなど

反応の特異性

- 温度 (生体内 35~37°C)
- pH (臓器によって異なる)
- 分解する化合物によって異なる

酵素の特性

比較条件	触媒	
	酵素	化学合成(無機物)
1. 触媒能	高(例 10 ⁸ ~10 ¹² 倍)	低(反応速度:1)
2. 基質特異性	高	低
3. 反応特異性	高	低
4. 基質濃度	低~高	高
5. 温度	低(例えば室温)*	高
6. pH	6~8(中性付近)*	酸性あるいは塩基性
7. 圧力	常圧*	常圧、高圧
8. 溶媒	水	有機溶媒、水
9. 阻害剤	影響大	影響小
10. 安定性	低	高
11. 価格	高	低

*例外あり

pHの影響について

極端なタンパク質である酵素の立体構造が壊れてしまい、反応性が低下する。
また、触媒する箇所の電荷も変化し速度が低下する。

温度の影響について

極端なタンパク質である酵素が熱変性して、壊れてしまう。
特例で、好熱性細菌の耐熱性酵素は100°Cでも失活はしない。

デンプンについて

デンプンとは、分子式(C₆H₁₀O₅)_nの炭水化物(多糖類)であり、多数α-グルコース分子がグリコシド結合によって重合した天然高分子。

↑
植物の種子や球根に蓄えられる

らせん状α-1,4結合

デンプン

- アミロース** 直鎖状の分子 分子量比較的小さい
熱水に溶ける
- アミロペクチン** 枝分かれの多い分子 分子量比較的大きい
溶けない

植物によってアミロースとアミロペクチンの比率が異なる



アミラーゼについて

α-アミラーゼ (膵臓、唾液腺から分泌されるジアスターゼ)
動物、植物、微生物に広く分布している普遍的な酵素

澱粉やグリコーゲンなどのα-1,4グリコシド結合をランダムに切断する**エンド型**の酵素であり、別名液化酵素とも呼ばれている。
α-アミラーゼは澱粉などを加水分解してオリゴ糖(マルトース)やデキストリンを生成する。

エンド型酵素: 分子の真ん中からアットランダムに切断する

マルトース: α-グルコース2分子がα-1,4結合した二糖類

β-アミラーゼ

デンプンなどの非還元性末端からβ-マルトースを生成する**エキソ型**アミラーゼ

エキソ型酵素: 分子の末端から順次切断する

α-グルコシダーゼ(マルトースを切断するので、マルターゼとも呼ばれている)



デンプン分解酵素の活性測定

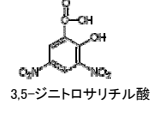
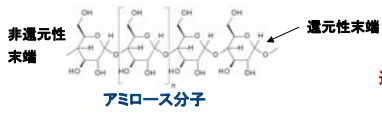
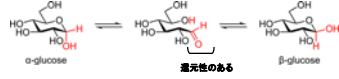
ヨウ素呈色法: デンプンのらせん構造とヨウ素が複合体を形成して青紫色を呈する。

α-アミラーゼで分解

青紫色が脱色



還元糖(ジニトロサリチル酸法)測定



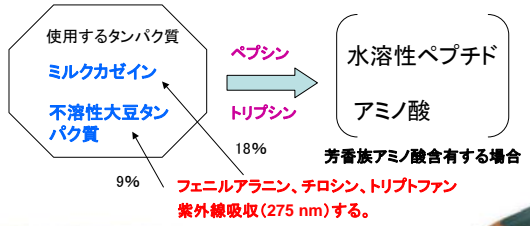
還元性末端と反応する



プロテアーゼについて

ペプシン; 動物の胃で分泌されるアスパラギン酸プロテアーゼで、タンパク質・ペプチド鎖の酸性アミノ酸・芳香族アミノ酸残基とつづく配列のペプチド結合(C側)を切断する。最適pHは2.0。

トリプシン; 膵液より分泌されるエンドペプチダーゼ膵管内に存在し、塩基性アミノ酸のペプチド結合(C側)を切断する。ヒトトリプシンの最適pHは、8~9





酵素入り胃腸薬例



わかもとNK胃腸薬

9錠(成人1日量)中

アスペルギルス・オリゼー-NK菌 (消化酵素産生菌)培養末	2,025 mg
リパーゼAP12(脂肪消化酵素)	30mg
ラクトミン(乳酸菌)	12mg
リボフラビン(ビタミンB2)	5mg
ピリドキシン塩酸塩(ビタミンB6)	12mg

アスペルギルスオリゼー-NK菌培養末
アミラーゼ、ペプシン、トリプシン

1960年 キャベジンコーワ錠



2008年 新キャベジンコーワS



胃粘膜修復剤
健胃生薬
消化酵素剤
制酸剤

リパーゼAP12
ビオチンアスターゼ2000

実際のデンプンおよびタンパク質が分解できるかを突感しよう!!



結果について

デンプン分解について

時間ごとのヨウ素デンプン反応や還元糖の定量によりアミラーゼによってデンプンが分解していることを把握する。
還元末端の増加およびマルターゼ処理によるグルコース量の増加によって遊離マルトース量などの比較を行う。



タンパク質分解について

pHの違いによって何が起きているか考えよう!!
タンパク質の種類によって分解が異なるが何が起きているか考えよう!!



グラフを作成して比較

表を作成して比較



デンプン分解について

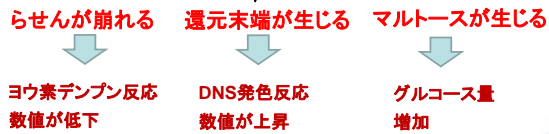
デンプン

アミロース(らせん構造)

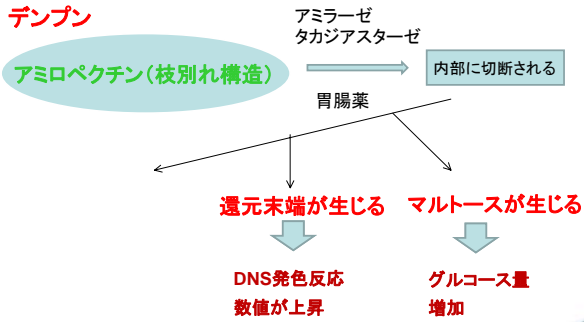
アミラーゼ
タカジアスターゼ

内部に切断される

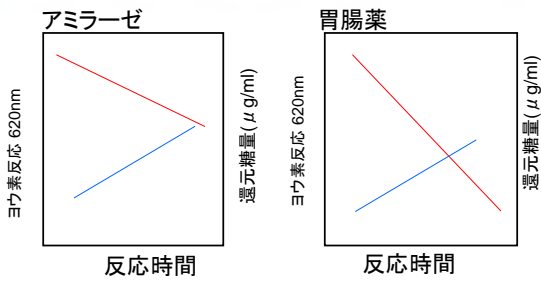
胃腸薬



デンブンの分解について



デンブンの分解について



グルコース量について

$$\text{グルコース量 (mg/dl)} = \Delta$$

$$\text{マルトース量 (mg/dl)} = (\Delta \div 180) \div 2 \times 342$$

グルコース量が増えない理由

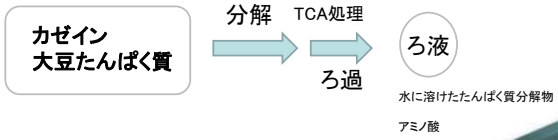
酵素および胃腸薬の酵素が、アトランダムにデンブンを切断する場合、ちょうどマルトース(2糖)ができるように切断するように、デンブンを切断していない可能性がある。完全に分解した場合、ほとんどマルトースになる。



プロテアーゼについて

ペプシン(pH 2.0)、トリプシン(pH 9.0)、胃腸薬

分解の評価は、275 nmで測定をした。
アミノ酸の中には、芳香族アミノ酸3種(チロシン、トリプトファン、フェニルアラニン)があり、このアミノ酸は275 nmで量を測定できる。



サイエンスキャンプ（大阪薬科大学担当分：2日目）のスケジュール



第2日目（大阪薬科大学）

- 9：00～ 講義：演題「薬の発見からでき上がりまで」
- 10：00 休憩および移動（10分間）
- 10：10～ 薬用植物の観察（大阪薬科大学・薬用植物園）
- 10：40～ 休憩および移動（10分間）
- 10：50～ 「薬用植物の成分をクロマトグラフィーで分離してみよう」
- 11：50～ 昼食
- 12：50～ 「ミクロな世界を覗いてみよう」
- 14：10～ 休憩
- 14：20～ 「カプセル剤や錠剤を作ってみよう」
- 16：20～ 休憩
- 16：30～ まとめ
- 17：30～ 交流会会場（大阪薬科大学・学生食堂）へ移動
- 18：00～ 交流会（19：30まで）