

資料

新規植物性素材の機能性スクリーニング

－リパーゼ阻害活性およびアンジオテンシン変換酵素阻害活性の検証－

小川 哲郎*・勝部 拓矢*

1. 目的

近年、糖尿病、高血圧症、高脂血症が一個人に集積して発症し、ひいては動脈硬化症の元になる、いわゆるメタボリックシンドロームの発症が大きな社会問題となっている。この症状の原因には、肥満が大きく関わっているといわれている。肥満は、中性脂肪が過度に蓄積した状態を指し、この中性脂肪の蓄積には、食事由来の油脂をグリセリンと脂肪酸に分解し、消化・吸収を促進するリパーゼが大きく関わっていることが知られている。このため、一つの視点として、リパーゼの作用を阻害すれば、肥満が予防できると考えられている。現在までに、臨床医薬品であるオルリスタットなどで、リパーゼ阻害による中性脂肪蓄積抑制効果が報告されており、肥満の予防・改善に効果があるとされている¹⁾。

また、メタボリックシンドロームの一因子である高血圧症は、平成26年厚生労働省の調査によると、日本における高血圧症の患者数は、1,010万8,000人²⁾、予備軍も含めると4,300万人に上ると推計されている³⁾最も患者数の多い疾患である。血圧上昇には、いくつかの経路が関与していることが知られているが、その一つにレニン・アンジオテンシン系がある。これは、腎臓から分泌されるレニンが肝臓から分泌されるアンジオテンシノーゲンに作用してアンジオテンシン I を生成させ、これにアンジオテンシン変換酵素 (ACE) が作用して、アンジオテンシン I のC末端His-Leuを切断し、血管収縮など強い血圧上昇作用を有するアンジオテンシン II を生じさせ、一方では、強い血管拡張作用を有するブラジキニンを分解することによって、血圧が上昇するというものである⁴⁾。したがって、一つの視点として、ACEの活性を阻害してやれば血圧上昇が抑制できるということになる。現在、高血圧の治療に処方されている薬の多くはACE阻害剤であるといわれている^{3), 4)}。

一般に、天然物由来の食品や漢方薬は、用量・用法を守っていれば副作用が少ないなどの利点を有する⁵⁾。このため、天然物から、各種疾患の治療または改善に有効な成分を取得することができれば、副作用の少ない製品として有効に

利用できるものと考えられる。上述のリパーゼが大きく関与していると考えられる疾患およびACE関連疾患に関しても、上記考えのもと、天然物由来の食品成分においてリパーゼ阻害活性を有する物質^{6)~11)} およびACE阻害活性を有する物質^{12)~15)}の探索が行われている。

一方、県内に存在する植物性素材の中には、高い機能性を有するものの、それが見過ごされている事例があると考えられる。そこで、本研究では、県内農産物など各種植物性素材から、高いリパーゼ阻害活性およびACE阻害活性を有する素材をスクリーニングし、この結果に基づいて機能性食品開発の一助とすることを目的とした。

2. 方法

2.1 供試植物性素材

樹県内で採取された200種以上の素材（野菜類60、ハーブ類8、果実および果皮27、山野草60、落葉性樹木の葉および枝37、キノコ類13種類）の熱水抽出エキスおよび60%エタノール抽出エキスを供試した。本報告では、リパーゼ阻害活性については、このうちリパーゼ阻害効果が高く、かつその効果が特許出願されていない以下の素材のデータを示す。

素材名：アケビ葉；ムベ葉；ナンキンハゼ葉、葉柄及び実；ヤマモモ葉；ウラジロガシ葉及び枝；アカメガシワ葉及び葉柄；アブラギリ葉；シナアブラギリ葉；クロモジ葉；エゴマ葉；キクバヤマボクチ葉；タムシバ葉；ヤマウコギ葉；クサギ葉；トウゴマ葉及び葉柄；アスナロ葉；スギ葉；ガガイモ葉；ポポー葉。また、ACE阻害活性については、すべての素材の測定結果の概略を示すとともに、このうち比較的ACE阻害活性が高かった、本県特産野菜の一つ‘あすっこ’エキスの測定結果を示す。

2.2 供試植物性素材乾燥粉末の調製

各種植物の部位を採取し水洗した後、全自動洗濯機 (National NA-F50Y) を用いて脱水し、-30℃で冷凍した。この冷凍品を25℃で72時間、真空凍結乾燥機 ((株) アルバック DF-03H) を使用して凍結乾燥し、乾燥後の試料を振動粉碎機 ((株) CMT TI-100) を用いて微粉碎して、植物乾燥粉末を調製した。

2.3 植物抽出物の調製

上記微粉碎して調製した試料（植物乾燥粉末）1gあた

*高齢化社会対応の機能性素材開発プロジェクトチーム (現：生物応用科)

り沸騰した超純水10mlを加え、沸騰湯浴中で30分間加温(ほぼ100℃)抽出した後、抽出液を急冷し、濾紙(No.2)を用いて濾過して、濾液を植物部位の熱水抽出液として回収した。また、同様に、上記微粉碎して調製した試料(植物乾燥粉末)1gあたり10mlの60%(v/v)エタノール水溶液を加え、室温(25±5℃)で一晩攪拌抽出し、抽出液を濾紙(No.2)で濾過して、濾液を植物部位の60%エタノール抽出液として回収した。回収した各濾液(熱水抽出液、60%エタノール抽出液)をロータリーエバポレーターで減圧濃縮した後、濃縮液を凍結乾燥して、植物抽出物(乾燥エキス)を得た。

これらの植物抽出物(乾燥エキス)のうち、熱水抽出液から調製した乾燥エキスについては、乾燥エキス10mgあたり1mlの割合で超純水を加えて溶解し、また60%エタノール抽出液から調製した乾燥エキスについては、リパーゼ阻害活性の測定においては、乾燥エキス10mgあたり1mlの割合で60%(v/v)エタノール水溶液を加えて溶解し、ACE阻害活性の測定においては、乾燥エキス10mgあたり1mlの割合で超純水を加えて溶解し、植物抽出物(濃縮還元物:10mg/ml)を調製した。また陽性対照(対照例)を、既に高いリパーゼ阻害活性^{16), 17)}、ACE阻害活性¹²⁾が報告されている緑茶として、乾燥茶葉(煎茶葉:(株)千茶荘製八雲ほまれ)の粉砕物1gを同様に処理(熱水抽出、60%エタノール抽出)して植物抽出物(濃縮還元物:10mg/ml)を調製した。これらの各植物抽出物を用いて、以下のリパーゼ阻害活性試験、ACE阻害活性試験を行った。

2.4 リパーゼ阻害活性試験

上記2.3で調製した各植物抽出物のリパーゼ阻害活性を、リパーゼ(SIGMA社製ブタ膵リパーゼ:Lipase from porcine pancreas, Type II)及びリパーゼキットS(DSファーマバイオメディカル(株)製)を用いて測定した。測定方法は、製造者の説明書に従った。なお、測定方法を簡略に述べると以下のとおりである。

試験管に、2.3で調製した各植物抽出物(濃縮還元物:10mg/ml)、またはそれらを倍々希釈して32倍希釈(阻害活性が高い植物抽出物では、最大64倍希釈)まで調製した植物抽出物希釈液(以上、「被験試料」)25μlを入れ、0.05mg/mlに調製したリパーゼ水溶液40μlを加え、発色液(5'-ジチオビス[2-ニトロ安息香酸])500μlとエステラーゼ阻害液(フェニルメチルスルホニルフルオリド)10μlを加えて、30℃で5分間反応させた。その後、基質液(三酪酸ジメチルプロロール、ドデシル硫酸ナトリウム)50μlを加え混和し、30℃で30分間反応させた後、反応停止液1mlを加えた。この反応液(被験試料反応液)250μlを96穴プレートに採取し、分光光度計(PerkinElmer社製Enspire/2300)で410nmの吸光度を測定した。またコントロールとして、上記被験試料の代わりに抽出溶媒(超純水または60%エタノール水溶液)を用いて、上記と同様に反

応させて410nmの吸光度(コントロールの吸光度)を測定した。なお、被験試料ならびにコントロールのブランクとして、上記と同様の操作で基質液を加えずに30分間反応させ、反応停止液を加えた後基質液を加えたものを用意し、被験試料ブランクならびにコントロールブランクの吸光度を測定した。得られた吸光度から、リパーゼ阻害率を以下の式から求めた。

$$\text{リパーゼ阻害率(\%)} = \left\{ 1 - \frac{(S - SB)}{(C - CB)} \right\} \times 100$$

S:被験試料反応液の吸光度

SB:被験試料ブランクの吸光度

C:コントロールの吸光度

CB:コントロールブランクの吸光度

ここで、リパーゼの活性を50%阻害したとき(リパーゼ阻害率50%)の被験試料反応液中の被験試料濃度をIC₅₀(mg/ml)値、すなわちリパーゼ阻害活性と定義した。

2.5 ACE阻害活性試験(BSA無添加系)

上記2.3で調製した各植物抽出物のACE阻害活性を、アンジオテンシン変換酵素(SIGMA社製ウサギ肺由来、1Unit)及び基質(ヒプリル-ヒスチジル-ロイシン、和光純薬(株)製)を用いて測定した。測定は、「食品の機能性評価マニュアル集(農林水産省農林水産技術会議事務局・農林水産省食品総合研究所編)」に記載の方法¹⁸⁾に準拠し、マイクロプレート用に一部改変した方法で行った。なお、測定方法を簡略に述べると以下のとおりである。

96穴マイクロプレートのウエルに、上記2.3で調製した各植物抽出物、並びにそれらを倍々希釈して32倍希釈(阻害活性が高い植物抽出物では、最大512倍希釈)まで調製した植物抽出物希釈液(以上、「被験試料」)10μlを入れ、これに緩衝液(600mMの塩化ナトリウムを含む400mMのリン酸緩衝液(pH8.5))で2mg/mlに調製した基質水溶液20μlを加え、さらに超純水10μlを加えて、37℃で5分間反応させた。その後、各ウエルにACE水溶液(0.025Unit/ml)20μlを加えて混和し、37℃で60分間反応させた後、反応停止液(0.6M水酸化ナトリウム水溶液)150μlを加えた。次いで、2%オルトフタルアルデヒド/メタノール溶液10μlを加えて10分放置後、3M塩酸40μlを加えて反応を停止させた。次いで、この反応液(被験試料反応液)のうち20μlを採取して、別途300μlの超純水が入った黒色の96穴マイクロプレートのウエルに入れて希釈し、30分放置した後、2.4に示す分光光度計で蛍光強度(励起波長:340nm, 蛍光波長:455nm)を測定した。また陽性コントロールとして、上記被験試料の代わりにカプトプリル水溶液(10, 20, 50, 100nM)を用いて、上記と同様に反応させて蛍光強度(陽性コントロールの蛍光強度)を測定し、検量線を作成した。

各被験試料から得られた蛍光強度を、カプトプリル(陽

性コントロール)の蛍光強度の検量線に当てはめ、2,3で調製した植物抽出物1gあたりのカプトプリル相当量を算出し、ACE阻害活性とした。

2.6 ACE阻害活性試験 (BSA添加系)

タンニンなどのポリフェノール化合物はタンパク質と結合しやすく、酵素タンパク質を不溶化して非特異的に酵素活性を阻害することが知られている¹⁹⁾。つまり、タンニンなどを含む植物抽出物などを添加した場合、タンパク質を“非特異的”に凝集させてしまう性質があるので、例えばACEが反応系に存在した場合には、ACEを凝集によって失活させてしまい、その結果反応生成物の生産量が減るため、見かけ上ACE阻害活性があるように見える。2,5で測定した各種植物抽出物のACE阻害活性が、このような非特異的な酵素阻害に基づくものであるか否かを確認するために、緑茶抽出物と同等以上の阻害活性を示した植物抽出物については、高橋らの方法²⁰⁾を参考にして、過剰量の牛血清アルブミン (BSA) 存在下で同様にACE阻害活性を測定した。なお、この方法においてBSA添加によりACE阻害活性が減弱された場合には、植物抽出物に含まれるタンニンなどは過剰に添加したBSAの凝集に優先的に消費されACEを凝集して活性を阻害する効果が減弱されたこととなるので、そのACE阻害活性は単なるACEの凝集による“非特異的”な効果であると判定することができる。

具体的には、2,5の方法において、基質水溶液20 μ lの添加後に加える超純水10 μ lに代えて、BSA水溶液 (15mg/ml または3mg/ml) を10 μ l加える以外は同じ操作を行って各被験試料を反応させ、蛍光強度を測定した。なお、BSA水溶液をそれぞれ15mg/mlまたは3mg/ml濃度で添加した場合、反応停止液添加前の溶液中のBSA濃度はそれぞれ2.5mg/mlまたは0.5mg/mlとなる。

3. 結果および考察

3.1 各種素材のリパーゼ阻害活性

アケビ葉およびムベ葉をはじめとする各植物抽出物のリパーゼ阻害活性を表1に示した。

その結果、アケビ葉およびムベ葉においては、熱水抽出エキスのみで阻害効果が認められ、緑茶のそれと比較するとやや活性は劣るものの、それでも比較的高いリパーゼ阻害活性を示した。

また、その他の素材においては、ナンキンハゼ葉及び葉柄、ヤマモモ葉、ウラジロガシ葉及び枝、アカメガシワ葉柄、並びにタムシバ葉の植物抽出物は抽出溶媒の別に関わらず、緑茶抽出物と同等またはそれよりも高いリパーゼ阻害活性を示した。特に、ヤマモモ葉及びタムシバ葉の60%エタノール抽出物は、著しく高いリパーゼ阻害活性を示した。またアカメガシワ葉、及びアブラギリ葉の60%エタノール抽出物は、緑茶抽出物 (熱水及び60%エタノール抽出

表1 各種素材のリパーゼ阻害活性

植物エキス由来植物部位	リパーゼ阻害活性	
	IC ₅₀ (mg/ml)	
	熱水抽出	60% EtOH抽出
アケビ葉	0.33	—
ムベ葉	0.34	—
ナンキンハゼ葉	0.15	0.13
ナンキンハゼ葉柄	0.10	0.12
ナンキンハゼ実	0.27	0.34
ヤマモモ葉	0.19	0.07
ウラジロガシ葉	0.22	0.28
ウラジロガシ枝	0.15	0.27
アカメガシワ葉	0.25	0.20
アカメガシワ葉柄	0.20	0.25
アブラギリ葉	0.26	0.11
シナアブラギリ葉	0.24	0.29
クロモジ葉	0.72	0.28
エゴマ葉	0.76	—
キクバヤマボクチ葉	—	2.85
タムシバ葉	0.23	0.08
ヤマウコギ葉	0.32	—
クサギ葉	0.50	—
トウゴマ葉	0.90	—
トウゴマ葉柄	0.59	—
アスナロ葉	—	0.45
スギ葉	0.48	0.24
ガガイモ葉	0.53	0.43
ポポー葉	0.54	—
緑茶 (対照)	0.23	0.31

—: 検出限界以下 (計測不能)

物)よりも高いリパーゼ阻害活性を示した。さらにシナアブラギリ葉、クロモジ葉、及びスギ葉の60%エタノール抽出物は、緑茶の同60%エタノール抽出物よりも高いリパーゼ阻害活性を示した。なお、エゴマ葉、ヤマウコギ葉、クサギ葉、トウゴマ葉及び葉柄、並びにポポー葉については熱水抽出画分にのみリパーゼ阻害活性が認められた。一方、キクバヤマボクチ葉、及びアスナロ葉については60%エタノール抽出画分にのみリパーゼ阻害活性が認められた。このようなリパーゼ阻害活性が認められた植物の分類を見ると、種々雑多な科に属しているが、ナンキンハゼやアカメガシワ、アブラギリ、シナアブラギリにおいては、同じトウダイグサ科の落葉高木に属しており、このことから、中でもトウダイグサ科においてのリパーゼ阻害活性が高い傾向にあることが明らかとなった。

以上のように、供試した各植物部位にはリパーゼ阻害活性を有する成分が含まれている可能性があることが判明した。この関与成分としては、すべてそうであるとはいえないものの、多くが葉を素材としていることからポリフェノールを多く含んでいると考えられ、これがリパーゼ阻害活性に寄与している可能性が高いと考えられた。以上の結果から、これらの植物部位の加工物 (例えば、乾燥粉碎物、

溶媒抽出物など)は、そのリパーゼ阻害活性を利用した組成物、例えばリパーゼ阻害剤、脂肪蓄積抑制剤または抗肥満剤などの有効成分として、医薬品、医薬部外品、化粧品または飲食物に有効に利用できることが期待された。なお、本結果については現在特許出願中である^{21), 22)}。

今回、ブタ腭リパーゼを用いて阻害効果を検証したが、その結果がそのままヒト腭リパーゼにも効果が認められるかは不明である。しかし、ヒトとブタの腭リパーゼのアミノ酸配列の相同性は85%といわれており²³⁾、薬剤に対する阻害効果はブタ腭リパーゼよりもヒト腭リパーゼが高いことも確認されている²⁴⁾。

また、生体は恒常性を維持するために何らかのフィードバックによる制御の機構を備えていると考えられる。本研究で対象としたリパーゼの分泌においても同様であり、リパーゼの阻害に伴うリパーゼの再分泌の可能性がある。リパーゼは、食事由来の油脂の存在によって誘導されることが知られており、10%程度の低濃度でも誘導が起こるといわれている²⁵⁾。したがって、仮に植物抽出物によりリパーゼの阻害が起きたとしても基質である油脂が存在する限り、リパーゼの誘導・再分泌が起こりうると考えられる。しかし、今回報告した各種植物抽出物のリパーゼ阻害活性は比較的低濃度で効果が得られていることから、植物抽出物が存在する限り、再び分泌されたリパーゼの活性は阻害されるものと考えられ、リパーゼの再分泌による逆効果に関しては問題とはならないと考えられた。

3.2 各種素材のACE阻害活性

供試した各種素材のACE阻害活性を図1, 2に示した。

その結果、素材によっては、数nmolカプトプリル相当量/g エキス程度から、高いものでは1500nmolカプトプリル相当量/g エキス程度の値を示すものがあった。200nmolカプトプリル相当量/g エキスを越えた素材の中には、栗(ポロタン)の渋皮やカスターニエ(トチノキ)の実の皮の抽出エキスが含まれており、これらはBSAの添加によって、ACE阻害活性が減弱されたことから、含まれるタンニンなどのポリフェノールによる非特異的なACE阻害活

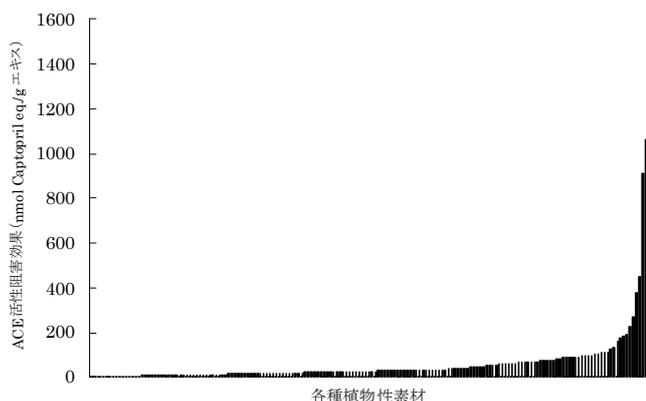


図1 各種素材のACE阻害活性(熱水抽出, BSA無添加系)

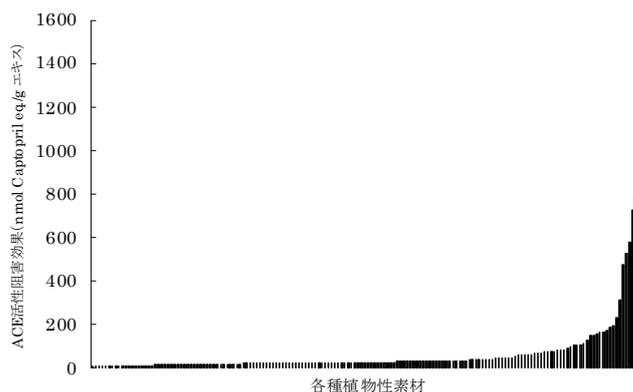


図2 各種素材のACE阻害活性(60% EtOH抽出, BSA無添加系)

性(非特異的に活性を阻害する単なる失活)であることが判明した。

一方、特異的なACE阻害活性の可能性がある比較的高活性の高かった素材としては野菜類が多く、全体の約7.5%を占めていた。そのうち、島根県の特産野菜の一つであるあすっこの抽出エキスの結果を表2に示した。

表2 あすっこ各部位のACE阻害活性

部 位	ACE阻害活性 (nmol Captopril eq./g エキス)					
	熱水抽出			60% EtOH抽出		
	BSA無添加	BSA添加		BSA無添加	BSA添加	
		2.5mg/ml	0.5mg/ml		2.5mg/ml	0.5mg/ml
あすっこ蕾	139.5	177.0	255.6	142.0	168.1	268.7
あすっこ葉	112.9	135.6	192.4	71.9	79.0	115.2
あすっこ葉柄	87.3	104.1	148.0	44.8	55.2	75.5
緑茶(対照)	94.1	115.5	155.9	52.2	73.0	109.3

あすっこの各部位の熱水および60%エタノール抽出エキスともに、高いACE阻害活性があることが報告されている緑茶¹²⁾と比べて同等か、むしろそれよりも高いACE阻害活性を示した。また、BSAの添加によっても、その阻害効果は減弱されなかったことから、特異的なACE阻害活性の可能性があることが明らかとなった。なお、BSAを添加したときにBSA濃度が低くなるほどACEの阻害効果が高くなっているが、BSAのみの添加で測定したときも同様の傾向が認められている。つまり、低濃度BSA添加によるACE阻害効果の増加は、植物抽出物には関与しない非本質的な現象であると考えられるが、現時点では、この原因は不明である。あすっこの関与成分は明らかではないが、ポリフェノール以外の成分であるのではないかと推察された。

なお、本結果については現在特許出願中である²⁶⁾。

4. まとめ

島根県内で採取された200種以上の素材を対象に、リパー

ゼ阻害活性およびACE阻害活性のスクリーニングを行った。その結果、リパーゼ阻害活性においては、いくつかの素材抽出エキスで、既に高い阻害活性が報告されている緑茶エキスと同等かむしろそれよりも高い阻害活性を有することが確認された。この結果は、リパーゼ阻害活性に基づく脂肪蓄積抑制などの抗肥満効果を期待させるものである。

また、ACE阻害活性においては、いくつかの素材抽出エキスで、非常に高い阻害活性が確認されたが、BSAの添加によってその効果は減弱されたことからACEの非特異的な作用によるものであると考えられた。この他、島根県の特産野菜の一つである‘あすっこ’の抽出エキスに、既に報告されている緑茶エキスと同等かむしろそれよりも高い阻害活性を有するとともに、特異的な阻害活性の可能性があることが確認された。この結果は、アンジオテンシン変換酵素阻害活性に基づく血圧上昇抑制効果を期待させるものである。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、アケビ葉のリパーゼ阻害活性試験においては、カナツ技建工業株式会社 福井晴子様、浜崎正英様、有限会社絲原 絲原丈嗣様には、試料提供ならびに有益なご助言をいただいた。ここに記して、深甚なる謝意を表します。

文 献

- Heck, A. M.; Yanovski, J. A.; Calis, K. A. Orlistat, a new lipase inhibitor for the management of obesity. *Pharmacotherapy*. 2000, vol.20, p.270-279.
- 平成26 (2014) 年患者調査の概況. 厚生労働省. 2014.
- 高血圧治療ガイドライン2014電子版. 日本高血圧学会高血圧治療ガイドライン作成委員会編. 2014.
- 松井利郎. レニン-アンジオテンシン系と血圧調節. *化学と生物*. 2015, vol.53, no.4, p.228-235.
- 村松慎一. 漢方薬の基礎知識. *臨床神経学*. 2013, vol.53, no.11, p.934-936.
- 豊川哲也, 鎌田靖弘, 照屋正映, 上地美香, 新垣美香, 市場俊雄. 沖縄県産植物抽出物のリパーゼ阻害活性. *沖縄県工業技術センター研究報告書*. 2003, no.5, p.99-102.
- 鶴田裕美, 拓植圭介, 吉村臣史, 江口良寿, 小金丸和義. 未利用資源の活用による食品素材の開発に関する研究-レンコンの*in vitro*における機能性評価について-. *佐賀県工業技術センター研究報告書*. 2006, p.36-38.
- 西繁典, 齋藤優介, 小崎浩, 弘中和憲, 小嶋道之. 小果実に含まれるポリフェノールの血糖値上昇抑制とリパーゼ活性阻害. *帯広畜産大学学術研究報告*. 2008, vol.29, p. 31-38.
- 小林製薬株式会社. 杜仲葉水抽出成分を含むリパーゼ阻害剤. 特開2005-289950. 2005-10-20.
- 東洋インキ製造株式会社. リパーゼ阻害活性および抗酸化性を有する組成物. 特開2006-290807. 2006-10-26.
- ゼリア新薬工業株式会社. 抗肥満剤. 特開平9-227398. 1997-9-2.
- 鈴木建夫, 石川宣子, 目黒熙. 食品中のアンジオテンシン I 変換酵素阻害能について. *日本農芸化学会誌*. 1983, vol. 57, no.11, p.1143-1146.
- 林美央, 道島俊英, 勝山陽子, 三輪章志, 川嶋正男, 矢野俊博, 榎本俊樹. 県産農産物を活用した機能性食品の研究-加賀野菜の機能性について. *石川県工業試験場研究報告*. 2004, vol. 54.
- 伊澤華子, 青柳康夫. キノコのアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性. *日本食品科学工学会誌*. 2006, vol. 53, no.9, p.459-465.
- Nogata, Y.; Nagamine, T.; Yanaka, M.; Ohta, H. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides produced by autolysis reactions from wheat bran. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009, vol.57, no.15, p.6618-6622.
- 明治製菓株式会社. リパーゼ阻害剤. 特開平3-219872. 1991-9-27.
- Nakai, M.; Fukui, Y.; Asami, S.; Toyoda-Ono, Y.; Iwashita, T.; Shibata, H.; Mitsunaga, T.; Hashimoto, F.; Kiso, Y. Inhibitory effects of oolong tea polyphenols on pancreatic lipase in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, vol.53, no.11, p.4593-4598.
- 堀江秀樹. VII 血圧降下機能評価法. 食品の機能性評価マニュアル集. 農林水産省農林水産技術会議事務局・農林水産省食品総合研究所編. 1999, p.117-121.
- 桜庭英剛, 一瀬肇. タンニン類による酸化酵素の不活性化とアントシアニン色素の安定化. *日本農芸化学会誌*. 1982, vol.56, no.7, p.517-524.
- 高橋哲夫, 佐藤隆司, 金島弘恭. エゾウコギ抽出物中のアンジオテンシン変換酵素阻害活性成分について. *北海道立衛生研究所報*. 1993, vol. 43, p.63-64.
- 島根県, カナツ技建工業株式会社, 有限会社絲原. リパーゼ阻害剤. 特願2017-064578. 2017-3-29.
- 島根県. リパーゼ阻害剤、及びその利用. 特願2017-246946. 2017-12-22.
- Lowe, M. E.; Rosenblum, J. L.; Strauss, A. W. Cloning and characterization of human pancreatic lipase cDNA. *The Journal of Biological Chemistry*. 1989, vol.264, p.20042-20048.
- 武田薬品工業 医薬品部会版 オブリーン錠. http://www.pmda.go.jp/drugs/2013/P201300130/400256000_22500AMX01808_H100_3.pdf (2018.11.7引用)
- 原博. 脂質の消化管機能調節作用. *日本油化学会誌*. 1997, vol.46, no.10, p.1237-1246.
- 島根県. アンジオテンシン変換酵素阻害用組成物および血圧上昇抑制用組成物. 特願2017-246948. 2017-12-22.