

エラスターゼ活性抑制作用

非験薬 (CME及びVV+VE) → 2 μ L

N-Methoxysuccinyl-L-Alanyl-L-Prolyl-L-Valine-4-Methyl-Coumaryl-7-Amide
(1.6mM) → 25 μ L

HEPES buffer (62.5mM, pH7.8) → 150 μ L

白血球由来Elastase (0.1 mg/ml) → 25 μ L

↓
蛍光強度の経時的変化を測定

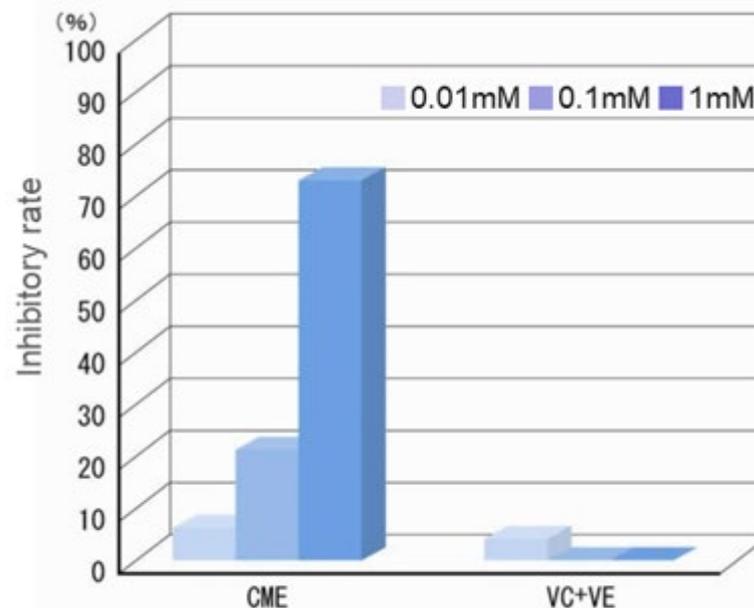
エラスターゼ阻害率は、7-Amino-4-methyl-coumarin標準品による検量線より算出

蛍光測定条件

励起波長 360/ 40nm

蛍光波長 460/140nm

	μ M	阻害率(%)
CME	10	4
	100	19
	1000	71
VC+VE	10	2
	100	0
	1000	-9



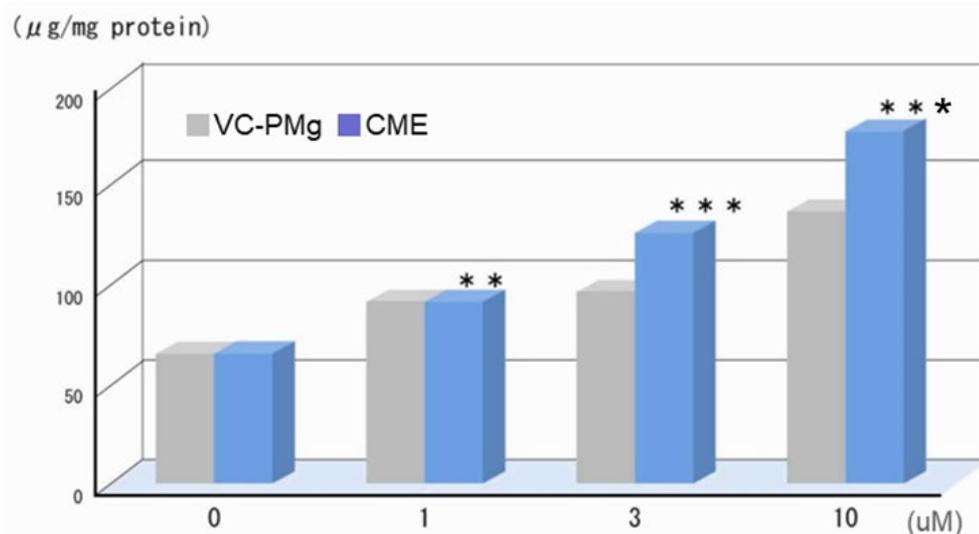
エラスターゼ阻害作用

CMEのコラーゲン合成に及ぼす影響

新生児皮膚線維芽細胞(NHDF-Neo)を 10%FBS D-MEM にて 1×10^5 cells/mL に調製後、24wellプレートに1mL/well 播種し 37°C、5%CO₂ 条件下で一晩培養。

培地を除去し、0.5%BSA D-MEM で 1 回洗浄後、被験物質溶液を 0.5mL/well の状態で24 時間静置培養したのち 培養上清中のプロコラーゲン1 型C末端ペプチド濃度及び細胞の蛋白質量を測定。

	μmol/L	μg/mg protein
Control	0	55.8 ± 0.7
CME	1	81.4 ± 4.8 **
	3	93.6 ± 10.6***
	10	170.4 ± 31.4***
VC-PMg	1	81.1 ± 7.3 *
	3	83.3 ± 4.3 **
	10	104.4 ± 21.7***



ヒト線維芽細胞コラーゲン産生作用
プロコラーゲン1型C末端ペプチド濃度