

学位論文要旨

6-shogaol および 6-paradol の

体内動態および薬理作用の検討

**The study of the pharmacokinetics and pharmacological activities of
6-shogaol, a pungent ingredient of Zingiberis Rhizoma, and its
metabolite, 6-paradol.**

金沢大学大学院 自然科学研究科

生命科学専攻

氏名 徳原 大介

This study examined the pharmacokinetics and pharmacological activities of 6-shogaol, a pungent ingredient of *Zingiberis Rhizoma*, and its metabolite, 6-paradol. The concentrations of 6-shogaol and 6-paradol in rat plasma determined by LC/MS/MS reached their maximum values (C_{max}) at 5 minutes after oral administration of 6-shogaol (10 mg/kg). Both 6-shogaol and 6-paradol were eliminated from the plasma within 2 hours after injection. The plasma concentration of 6-paradol, the metabolite, was about 4 times higher than that of 6-shogaol at all points during blood sampling. Next, pharmacological activities of 6-shogaol and 6-paradol were studied. In vitro experiment revealed that the cyclooxygenase-2-inhibitory activity of 6-paradol was about 6 times stronger than that of 6-shogaol. In vivo experiments, 6-paradol demonstrated significantly stronger anti-inflammatory, analgesic, and antipyretic activities compared to 6-shogaol. These results suggest that 6-shogaol in *Zingiberis Rhizoma* is metabolized rapidly to 6-paradol and that 6-paradol is the main compound having anti-inflammatory activity.

ショウガは、熱帯アジア地域が原産のショウガ科の多年生植物であり、2000年以上も昔から医薬品や香辛料として使われてきた。ショウガは、多くの漢方処方構成生薬としても配合され、医療用漢方製剤においては、生のショウガ根茎を乾燥させたものを『生姜』、蒸してから乾燥させたものを『乾姜』と称してそれぞれ区別して使われている。「生姜」と「乾姜」は、ともに温（熱）薬として区分されているが、それぞれ薬効に差があり、使い分けられている。本草書によれば、「生姜」は発散作用に優れ、胃寒などによる嘔吐に用いられるとされ、「乾姜」は裏寒を去り、脾胃の陽を温め、冷え痛みなどの症状に常用され、また寒による咳喘症に用いられるとされている。実験動物を用いた「生姜・乾姜」の薬理作用に関する報告も多くなされており、「生姜・乾姜」には鎮嘔、鎮咳、消化器の機能亢進等の多くの作用が認められている。

「生姜」および「乾姜」の含有成分は共通するものが多く、側鎖炭素数の異なる gingerol 類、shogaol 類、paradol 類、gingerdione 類、gingediol 類、dehydrogingerdion 類などが含まれているが、特に辛味成分として 6-gingerol および 6-shogaol が良く知られており、「生姜」と「乾姜」ではそれぞれの含有量が異なる。元来、ショウガの根茎を乾燥した「生姜」には、6-gingerol（約 0.1～0.3%）および 6-shogaol（0～0.04%）はともに含有されているが、加工調整の過程で 6-gingerol は脱水反応により 6-shogaol に変化し、それぞれの含有量は逆転することが認められている。また、6-shogaol は、生体内において主に 6-paradol に代謝されることが示唆されている。

6-shogaol は、これまでに解熱・鎮痛作用、cyclooxygenase (COX) - 2 阻害作用などの抗炎症作用や、蠕動運動亢進などの消化促進作用、自発運動量の抑制やヘキソバルビタール睡眠の増強などの中枢抑制作用、血圧上昇作用などが報告

されている。Shogaol の体内動態については、*in vitro* 実験において、マウス、ラット、イヌ、サルおよびヒトの肝サイトゾル画分あるいは腎ミトコンドリア画分において shogaol が paradol 類に代謝されること、またマウスに 6-shogaol を経口投与した際に糞中に 6-paradol や他の代謝物が認められたことが報告されている。また、最近、ショウガを健常人に投与した際の血漿中の代謝物として、6-shogaol のグルクロンあるいは硫酸抱合体が検出されたことが報告されている。

これまでに、¹⁴C-6-shogaol を用いた薬物動態実験において、未変化体と代謝物を含めた放射活性の総量として、そのほとんどが速やかに代謝・排泄されることが明らかとなり、代謝物の正体については、これまでの他の研究報告から 6-paradol であることが類推された。近年、6-paradol の薬理作用についての薬理研究が進んできており、殺菌作用、抗酸化作用、抗悪性腫瘍作用、抗炎症作用などに関する報告がある。

本研究では、6-shogaol の体内動態の研究として、LC/MS/MS を用い、6-shogaol 経口投与後の 6-shogaol および主代謝物である 6-paradol の体内動態について検討した。さらに 6-shogaol および代謝物の薬理作用の検討の一環として、抗炎症作用に着目し、代謝物である 6-paradol の薬理作用を 6-shogaol と比較検討した。

その結果、6-shogaol の経口投与後、未変化体とともに代謝物として 6-paradol が検出され、両者の T_{max} は、いずれも 5 分であり、6-paradol の血漿中濃度は、6-shogaol に比べて、常に 2.5~7.3 倍程度高い値を示した。これらのことから、6-shogaol は投与後 5 分以内に体内に吸収され、そのほとんどが速やかに 6-paradol へと変換し、そのままの形で消失するまで体内に留まることが明らかになった。

本研究では 6-shogaol から 6-paradol への代謝変換が 5 分前後と非常に速いスピードで行われていた。*in vitro* 実験において 6-shogaol から 6-paradol への代謝変換はマウスやヒト等の肝臓や腎臓のサイトゾル画分において認められているが、このように速やかに 6-shogaol が 6-paradol に代謝される要因は、肝臓や腎臓の他に小腸粘膜やまたは消化管内での代謝機構も関与していることが考えられ、これらの点に関しては今後の検討が必要であると考えられる。

これまでの報告によると 6-shogaol には解熱・鎮痛作用、抗炎症作用、消化促進作用、中枢抑制作用、血圧上昇作用など数々の薬理作用が報告されているが、本研究や過去の報告を鑑みると、6-shogaol の薬理作用は 6-shogaol 自身だけによるものと考えるより、6-shogaol の経口投与後において高い血中濃度を示した 6-paradol の寄与が考えられた。つまり 6-paradol は 6-shogaol のプロドラッグ的存在として捉えることができ、今までに 6-shogaol の経口投与で得られた薬理作用の多くは、その主要な代謝物である 6-paradol によるものと考えた方が合理的であることが考えられた。そこで、6-shogaol および 6-paradol の薬理作用の比較研究として、抗炎症作用に注目し検討を行った

in vivo 実験では、ラット carrageenin 足浮腫に対する作用、酢酸 writhing 法による鎮痛効果、yeast 発熱マウスを用いた解熱効果などを、*in vitro* 実験では、アッセイキットを用いた COX-1 および COX-2 に対する阻害効果およびマウスの白血球単球 (RAW264.7) マクロファージにおける LPS 刺激による NO の産生抑制作用を検討した。

まず、6-shogaol および 6-paradol の抗炎症作用について、carrageenin 足浮腫に対する作用を検討したところ、6-paradol は投与後 30 分より継続的な有意な浮腫抑制効果を示したが、6-shogaol は抑制傾向を示したのみであった。carrageenin による足浮腫は、carrageenin 注射 30 分程度でピークに達し、以後速やかに消失する第一相と、注射 1 時間以後に浮腫が発生し、長時間にわたり持続する第二相からなる二相性の反応である。第一相目の浮腫は、ヒスタミンやセロトニンが、第二相目の浮腫はプロスタグランジン類が関与することが知られているほか、一酸化窒素 (NO) など様々なケミカルメディエーターとの関連が指摘されている。これらを考慮すると 6-paradol は、COX 阻害以外の薬理作用を持つ可能性も考えられた。

また、酢酸 writhing 法を用いた鎮痛試験および yeast 発熱マウスでの解熱試験などの *in vivo* 実験では、6-shogaol よりも 6-paradol の方が強い効果を示した。これらの原因については、後述の COX 阻害実験の結果から、6-paradol の方が 6-shogaol より COX-2 選択性が高いことに起因すると考えられる。

次に、6-shogaol および 6-paradol の COX に対する阻害活性を比較検討した。COX-1 に対しては、6-shogaol および 6-paradol 共に indomethacin と比較して、約 150-200 倍弱い阻害活性であった。一方、COX-2 に対しては、6-paradol は indomethacin に比べて約 3 倍弱い効果であったが、その効果は 6-shogaol よりも 6 倍強い阻害活性であった。COX-2 選択性の指標となる選択的阻害比 (COX-1 IC50/COX-2 IC50) については、6-paradol は 10.3 であり、6-shogaol は 2.1 であった。6-paradol は比較的強い COX-2 選択性を持つことが示唆された。

さらに、LPS 刺激による RAW 細胞の NO 産生に対する抑制効果は、6-shogaol の方が 6-paradol よりも強いという結果であった。6-shogaol による抗炎症作用に NO 産生の抑制が関与していることが示唆される。NO は、様々な刺激によって活性化されたマクロファージなどの細胞質内にある転写因子 NF- κ B を活性化させ、iNOS の遺伝子を発現し、iNOS によって NO が合成されることから、NO 産生阻害には NF- κ B 不活性化や iNOS の発現阻害などの作用機序も考えられる。作用機序の解明に関しては、今後の検討と考える。

本研究では、6-shogaol と 6-paradol の抗炎症作用は、COX 阻害および NO 産生阻害の作用機序によって薬理活性の強弱が異なることが示された。しかしながら、*in vivo* 実験での抗炎症作用に関しては 6-paradol の方がより強い作用を示し

た。これらの違いは疼痛や発熱が起こる炎症メカニズムと NO 産生による細胞障害と炎症増強は異なったカスケードがあることに関係していると考えられた。

これらの事から、これまで報告されていた 6-shogaol の抗炎症作用に関しては、6-shogaol そのものの作用よりは、体内で代謝されて生成された 6-paradol の寄与が大きいことが考えられた。また 6-paradol は COX-2 選択薬物と同程度の COX-2 選択性を有しており、他の研究においても COX-2 の活性部位に対する結合能は強いという報告があることから考えても、6-paradol をリードとした抗炎症薬の開発研究にも期待がもてると思われる。

学位論文審査報告書（甲）

1. 学位論文題目（外国語の場合は和訳を付けること。）

6-shogaol および 6-paradol の体内動態および薬理作用の検討

2. 論文提出者 (1) 所属 生命科学 専攻 分子作用学 講座
(2) 氏名 徳原 大介

3. 審査結果の要旨（600～650字）

ショウガの根茎を乾燥した「生姜」の有効成分の1つ 6-shogaol は、生体内において主に 6-paradol に代謝されることが示唆されている。本研究は、6-shogaol とその主代謝物である 6-paradol の体内動態について検討すると同時に、6-shogaol の主薬理作用とされている抗炎症作用について、6-paradol と比較検討した結果、以下のような成果を得た。

- 1) ラットに 6-shogaol 経口投与したところ、6-shogaol は投与後 5 分以内に体内に吸収され、そのほとんどが速やかに 6-paradol へと変換し、そのままの形で消失するまで体内に留まることが明らかになった。
- 2) Carrageenin 足浮腫に対する抗炎症作用を検討したところ、6-paradol は投与後 30 分より継続的な有意な浮腫抑制効果を示したが、6-shogaol は抑制傾向を示したのみであった。
- 3) 酢酸 writhing 法を用いた鎮痛試験および yeast 発熱マウスでの解熱試験などの *in vivo* 実験でも、6-paradol の方が 6-shogaol よりも強い効果を示した。
- 4) *In vitro* において、6-paradol には比較的強い COX-2 選択的阻害作用が認められた。

以上の結果より、6-shogaol は生体内で 6-paradol に代謝された後、抗炎症作用などの薬理作用を示すことを明らかにした。かかる成果は、今後の抗炎症薬開発研究に重要な示唆を与えるものとして高く評価され、博士(薬学)論文に値すると判定された。

4. 審査結果 (1) 判定 (いずれかに○印) 合格 ・ 不合格
(2) 授与学位 博士(薬学)