

香辛植物成分による喘息抑制作用に関する基盤的研究

森 光 康次郎 (お茶の水女子大学生活科学部助教授)

1. 研究背景と目的

「喘息または気管支喘息 (asthma)」の進展機序を含めた根本的な原因は、科学が進んだ現在でさえも十分に解明されていない面が多い。現時点で、喘息は情動因子 (精神的な面) が主因で発病する疾患ではないことが分かっており、また、家族性の遺伝的素因が一部関与している場合もあることが分かっている。それ故、完治可能な治療薬や対処法の確立はなかなか難しく、気管支喘息が進行していくとそのものが重症となり、肺気腫・肺炎・慢性呼吸不全・心不全・不整脈などの合併症を誘発する危険性がある。残念なことに気管支喘息の不十分な治療により、日本では年間約7000人の患者が亡くなっている。それどころか、喘息による死亡原因が主要先進国では上位5位以内にランクされており、さらに年々増加傾向にある。その増加の原因として、化学物質による室内外の環境汚染や (日本においては) 異常な量の花粉などにより、過剰に亢進した炎症やアレルギー反応、アトピー、シックハウスに悩まされる現代人が老若男女の区別なく増加の一途をたどっていることと深く関係している。中でも、生活環境汚染がその発症主因と考えられる呼吸器系疾患数は急速に増加しており、原因 (化学) 物質と症状の個人差が極めて大きいことから、根本的な治療法が見あたらないまま重篤な主要慢性疾患 (すなわち喘息) となり始めている。

一方、スパイスやハーブなどの香辛植物には、古くからの民間伝承薬的利用の積み重ねの中から

「鎮咳・抗炎症」という薬理効果が既に知られている。スパイス・ハーブの多くは生薬的な使用の歴史を有しているものがあることは周知の事実であり、切れ味鋭い薬効は示さなくとも毎日処方しても生体に害を及ぼさず、ヒトの恒常性を維持する効果を示していると理解されてきた。喘息または喘息罹患以前の初期症状において、許容量以上の原因 (化学) 物質に、長期間連続して曝されることが発症原因であるとも考えられている。それ故、常食している特定のスパイスやハーブの成分により喘息を抑制し得る可能性を示すことは、炎症傾向に傾きがちな現代人の症状を和らげ得るのではないかと考え、ひいては慢性疾患の対処療法としても極めて重要であると考えられた。

そこで本研究では、スパイスやハーブなどの香辛植物成分による喘息抑制作用に注目して、有効成分の単離及び同定とその作用機構の解明を目的に基盤的な研究を行った。本来、喘息は大きくアレルギー性喘息 (アトピー型喘息) とアレルギーの兆候を伴わない非アレルギー性喘息 (=感染型喘息) に分けられる。また、それらの抑制を目指す研究のポイントは複数可能性があり、実は大変複雑でもある。この基盤的な研究においては、肺における化学物質炎症性脂質メディエーターであるロイコトリエン類の生合成阻害物質の探索系を利用することとした。ロイコトリエン類は、原因 (化学) 物質の刺激によって過剰または慢性的に生合成され、重要な喘息発症理由と考えられている。そのロイコトリエン生合成系に関与する初期段階の酵素として、白血球由来の

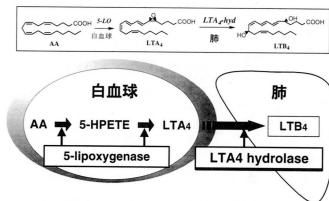


図1 白血球から肺におけるロイコトリエン生成初期段階に関わる重要な酵素

5-lipoxygenase (5-リポキシゲナーゼ; 5-LOX) と、肺由来の LTA_4 -hydrolase (ロイコトリエン A_4 水解酵素; LTA_4 -hyd) がある (図1)。両酵素の最終産物 (LTB_4) は、白血球の喘息発症部位への遊走を強力に促す物質であり、喘息患者では特に肺での LTA_4 -hyd の亢進が認められている。すでに、ヒト白血球由来の 5-LOX の阻害物質についてはスクリーニングと物質単離を終えている。ここでは、 LTA_4 -hyd 阻害活性を指標に、喘息抑制作用を示し得る香辛植物成分を探索した。

2. 方法

2.1 香辛植物材料

ハウス食品・ソマテックセンターなどのご協力で、すでに入手済みのスパイス51種類について、メタノール (MeOH) 抽出物を調製しスクリーニングソースとした。

2.2 モルモット肺由来の LTA_4 -hyd 調製法

モルモット (Golden Hartley, 体重 250g 以上 300g 未満) またはラット (SD, 体重 200g 以上 300g 未満) を麻酔下脱血死させ、右心室より 5 mM の EDTA- Na_2 溶液を含む生理食塩水 (200 ml) を用いて全身還流を行った。肺を摘出し、いくつか切断後、重量の 3 倍量の氷冷したバッファー (20mM-PBS, 1mM-EDTA, pH 7.4) を加え、ポリトン型ホモジナイザー (日立、

HG-30) にて 50% 出力によりホモジナイズした (10秒 $\times$ 5回)。念のためポッター型ホモジナイザー (100rpm) で水中 5 ~ 6 回上下してすりつぶした後、ガーゼを 3 枚重ねてに濾過した。濾液を 800 $\times$ g で 20 分間遠心し、上清を 10,000 $\times$ g で 20 分間、最後に 100,000 $\times$ g で 60 分間超遠心して、その上清を LTA_4 -hyd として使用した。冷蔵保存し、調製後は 1 週間以内のものを使用した。

2.3 基質 (LTA_4) の調製

グローブボックス内を窒素置換し、その中で LTA_4 メチルエステル体 (Cayman Chem.) 100 μ g を褐色サンプル瓶に取り、窒素気流下で溶媒を乾固後 THF を 400 μ l 加え、 -20°C で 10 分間放置する。0.1M-LiOH を 100 μ l 加え窒素封入し、そのまま室温で攪拌混合を一晩続けた。反応後は -80°C で保存し、酵素活性試験時に必要量を取り、アルゴンガスにて溶媒を乾固後エタノール溶液として用いた。

2.4 LTA_4 -hyd 阻害活性測定¹⁾

反応液全量を 50 μ l として計画し、1.5ml エッペンチューブ中で反応を行った。5 $\times$ バッファー (0.5M-Tris-HCl, 10mg/ml-BSA, pH 7.8) と酵素 LTA_4 -hyd と水を加えて 37°C で 1 分間ブレインキュベートし、基質 LTA_4 (FC=70 μ M) を加えて即座に反応開始する。 37°C で 3 分間反応後、反応停止液 ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{MeOH}/\text{AcOH}=150/50/3$; v/v, 内標 PGB_2 を 3 μ M 含

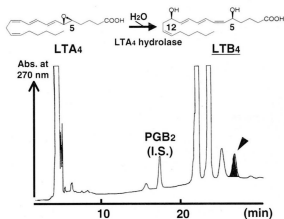


図2 LTA₄ hydrolase 阻害活性測定：HPLC 分析チャート

む)を100 μ l 加え、そのまま -20°C で30分間放置した。 4°C 、12,000rpmで5分間遠心後、上清の120 μ lに20 μ lの0.35%のEDTA溶液を加え転倒混和し、その50 μ lをHPLC分析に供した。HPLC分析(図2)は、カラム：Develosil C-30-UG-5 (4.6 $\times$ 250mm, 野村化学), 移動相：CH₃CN/MeOH/H₂O/EtOAc=3/1/3/0.006 (v/v; pH 5.6), 検出：UV 270nmにて行い、内標PGB₂面積と比較してLTB₄生成量を計算し、コントロールに対する酵素阻害活性を求めた。阻害活性測定は2連にて行った。

2.5 ヒト5-LOX 阻害活性測定

ヒト白血球 5-LOX 由来のcDNAを載せたベクターを大腸菌に組み込み、大量培養した菌体の破碎液上清を粗酵素として用いた²⁾。阻害活性の測定法はMatsumotoらの手順に従った³⁾。

3. 結果

3.1 51種類の香辛料のLTA₄-hyd 阻害活性スクリーニング結果

調製した51種類の香辛料のMeOH抽出物について、モルモット(またはラット)肺由来のLTA₄-hydを用いてスクリーニングを行った。ただし、モルモット肺由来の酵素の方が活性が安定しており、後半の実験ではモルモット肺を使って実験を行った。サンプル添加量を10 μ gとして

一次スクリーニングを行い、強い阻害活性を示したのについては2.5 μ gの添加量でも試験をした。その結果、全く阻害活性を示さない香辛料もあった中で、シソ科(オレガノ、セイボリー、セージ、タイム)とショウガ科(カルダモン、ショウガ、ターメリック)の香辛料とショウガ科生薬類(ガジュツ、ヤクチ)に強い阻害活性が認められた。この傾向は、すでにスクリーニングを終えているヒト5-LOXの阻害活性でも同様の傾向が認められている。2.5 μ gの添加量においても、ショウガとターメリック、ショウガ科生薬類には阻害活性が認められた。

3.2 ショウガ中のLTA₄-hyd 阻害物質の単離と阻害活性

上記結果と、すでにショウガについてはヒト5-LOX阻害物質の探索研究を終えている^{4,5)}ので、同じくショウガを探索素材にLTA₄-hyd阻害物質の単離を目指した。ひねショウガ(2.3kg, 静岡県産)をヘキサン、EtOAc, MeOHの順に溶媒抽出物を調製し、LTA₄-hyd阻害活性を調べたところヘキサン抽出物に20 μ g添加で50%以上の阻害活性が再現性よく認められた(図3)。阻害活性は示さなかったがEtOAc抽出物には、ショウガの辛味成分の1つであるgingerolやshogaol, gingerdioneが含まれていた。ヘキサン画分について、定法に従いシリカゲルカラムク

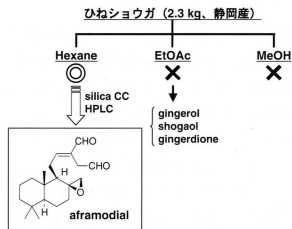


図3 ショウガ中のLTA₄ hydrolase 阻害物質の単離

ロマトや HPLC (順相, 逆相) を繰り返し行い, 最終的に 35mg の白色結晶を単離した。NMR, MS などの各種機器分析結果より, この物質を ラブダン型ジテルペンジアルデヒドである aframodial と同定した (図 3)。この物質は, ショウガ中のヒト 5-LOX 阻害物質として単離, 同定した物質であり, ロイコトリエン生成系に関わる両酵素を阻害することが明らかとなった。

また, 単離した aframodial, 及び gingerol や shogaol, gingerdione などショウガの主要なフェノール性化合物について LTA₄-hyd 阻害活性を調べた (表 1)。ショウガのジンゲロール類に

表 1 ショウガより単離した阻害物質とジンゲロール類の LTA₄ hydrolase 阻害活性

Compounds	Inhibition (%)				IC ₅₀ (μM)
	400μM	100μM	50μM	25μM	
aframodial	99.5	88.2	46.6	20.9	56.4
6-shogaol	36.4	0.9	—	—	>400
6-gingerol	10.5	0	—	—	>400
8-gingerol*	0	0	—	—	>400
10-gingerol*	0	0	—	—	>400
6-gingerdione	0	0	—	—	>400
bestatin	—	64.3	10.1	—	91.4

*: 当研究室で合成したサンプル

は阻害活性がなく (6-shogaol : 400μM 時で 36.4 % の阻害が認められたのみ), aframodial にだけ強い阻害活性が認められた。ポジティブコントロールである bestatin よりもその IC₅₀ 値が低く, ヘキサン抽出物の示した阻害活性の 80% 以上を説明できるだけの阻害活性を示していたことがわかった。よって, aframodial はショウガ中の主要な LTA₄-hyd 阻害物質であることが明らかとなった。

3.3 根ショウガと葉ショウガ中の aframodial 含量比較

次に, 静岡産のひねショウガから単離した aframodial のショウガ中における普遍性を調べべく, 根ショウガの産地と種類, さらには葉ショウガについてもその含量と LTA₄-hyd 阻害活

表 2 根ショウガと葉ショウガ中の aframodial 含量と LTA₄ hydrolase 阻害活性の比較

	根ショウガ				葉ショウガ
	新	ひね	中国産ひね	三州	金時
産地	高知	静岡	中国	静岡	茨城
Hex 画分の阻害活性*	9.3%	20.6%	22.1%	29.6%	43.5%
aframodial 含量 (/kg ショウガ)	9.0mg	15.5mg	18.7mg	31.8mg	392mg

*) 10μg/ml の濃度で測定 → 辛い

性を合わせて調べた。根ショウガとしてはマーケットで入手可能だった高知産の新ショウガ, 静岡産のひねショウガと三州ショウガ, 中国産のひねショウガを, 葉ショウガとしては茨城産の金時ショウガを用意し, 同様にヘキサン抽出物を調製した。10μg 添加における LTA₄-hyd 阻害活性と順相 HPLC による aframodial 含量の定量分析を行った (表 2)。その結果, 新ショウガのように若くて辛くないショウガには, ヘキサン抽出物の阻害活性も aframodial 含量も低く, ひねた根ショウガ類のヘキサン抽出物になるにつれ辛さと共に阻害活性が強くなり, aframodial 含量も高くなっていくことがわかった。特に, 葉ショウガにおいてはヘキサン抽出物の阻害活性が 10μg 添加で 43.5% と強く, さらに aframodial 含量も静岡産ひねショウガの 25 倍と高いことがわかった。辛さにおいても葉ショウガの方が根ショウガよりも強く, また葉ショウガにおいては, 根ショウガの主要な辛味成分であるジンゲロール類はそれほど多く含まれていないことから, aframodial が葉ショウガ類の辛味の主要な成分であることも明らかとなった。

3.4 ラブダン型ジテルペン類の構造とロイコトリエン生成阻害活性

aframodial はアフリカに自生する辛い植物や東南アジアのショウガ科植物中からすでに単離, 報告例がある。また, 葉ショウガの金時ショウガからも単離, 報告⁶⁾ されている。われわれもショウガよりヒト 5-LOX 阻害物質として aframodial

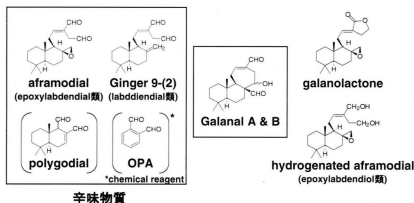


図4 ショウガ中より単離したラブダン型ジテルペン類の構造

とその類縁体を単離している^{4,5)}。そこで、ショウガより単離した手持ちのラブダン型ジテルペン類と、市販されているテルペンジアルデヒドである polygodial (タデの辛味成分)、さらには単純にジアルデヒド化合物である OPA (o-phthalaldehyde) についても LTA₄-hyd と 5-LOX の阻害活性を調べた。用いた化合物の構造は図4に示した。

LTA₄-hyd の阻害活性を比較してみると、aframodial や polygodial のようなジアルデヒド化合物が阻害活性を示し、アルデヒドを持たない galanolactone や aframodial の還元体には阻害活性はなかった。また、galanal A や B のようなアルデヒドを2つ有するが、aframodial のように vicinal (隣り合った) 関係にないものは阻害活性が極端に弱くなっている (表3)。テルペン系の vicinal なジアル化合物であることが、LTA₄-hyd の阻害活性重要であると示唆された。同様に、ヒト 5-LOX の阻害活性を比較してみる

表3 ラブダン型ジテルペン類の LTA₄hydrolase 阻害活性

Compounds	Inhibition (%)				IC ₅₀ (μM)
	400μM	100μM	50μM	25μM	
aframodial	99.5	88.2	46.6	20.9	56.4
polygodial	100	60.0	36.4	15.3	92.5
galanal A	42.7	4.9	—	—	>400
galanal B	43.3	7.5	—	—	>400
galanolactone	0	0	—	—	>400
hydrogenated aframodial	0	0	—	—	>400
bestatin	—	64.3	10.1	—	91.4

表4 ラブダン型ジテルペン類の5-LO 阻害活性

Compounds	IC ₅₀ (μM)
aframodial	4.0
ginger 9-(2)	18.9
polygodial	8.6
OPA	9.8
galanal A	>100
galanal B	>100
galanolactone	>100
hydrogenated aframodial	>100
AA861	0.3
NDGA	16.5

と LTA₄-hyd の阻害活性と同一の傾向が伺えた (表4)。すでに vicinal なジアル部分が 5-LOX 阻害には重要であることを発表済みではあるが、今回、polygodial または OPA のようなラブダン型ジアルデヒド以外の vicinal なジアル化合物にも 5-LOX 阻害活性が認められたことを明らかにできた。

4. 考 察

香辛料51種類を用いて、モルモット肺より調製した LTA₄-hyd の阻害活性を指標にスクリーニングを行ったところ、ショウガに強い阻害活性を認め、ヘキサノ抽出物中より aframodial を単離した。根ショウガと葉ショウガでの aframodial 含量とヘキサノ抽出物の阻害活性の間には正の相関が認められ、官能検査を行ったわけではないが明らかにショウガの辛味が aframodial 含量の増加とともに強くなっていた。共同研究を行っている小澤・阿部のグループは、同じくショウ

ガ科植物であるミョウガの主たる辛味物質を「afromodial」であると定し、発表している⁷⁾。むしろ、亜熱帯や熱帯でのショウガ科植物から単離報告例が多かったラブダン型ジテルペン類 (afromodial など) であったが、この研究から常食するショウガにも含まれていることがはっきりとし、特に葉ショウガの可食部には300mg以上/kg重量の高含有率で含まれていた。収穫季節の問題から一般的な葉ショウガである谷中ショウガなどでの定量分析を済ませてはいないが、辛さと比例していると仮定すると金時ショウガ同様に多いものと予想される。ラブダン型ジテルペンジアルデヒドは、ジングロール類を含まないミョウガにおいてはメインの、また葉ショウガのようにジングロール類を多く含まないショウガでも重要な辛味成分であることを今回明らかにできた。

同時に、ショウガの示す生理機能の多くは、gingerolやshogaolで説明されてきたところが多い。しかし、ショウガで古くより知られている抗炎症・抗喘息効果の重要な一端は、今回単離したafromodialによる面が大きいとも考えられた。特に本研究で注目したLTA₄-hydは、最近では第二相解毒酵素としての重要性が注目されているが、近年、各臓器での炎症、とりわけ肺における役割が注目されている。それは、ロイコトリエン合成において、白血球は高い5-LOX活性でLTA₄までを生合成し、肺にLTA₄がスチール (steal) される形で肺の高いLTA₄-hydによ

りLTB₄が生合成されていることが分かってきた。この一種の分業は、炎症の行き過ぎを抑制しやすい利点と、全身性の炎症を防ぎ、必要な部位で効率よく白血球の集合を起こすためには最も効率のよい仕組みであったことが理解できる。よって、ヒト5-LOXを阻害することだけが抗炎症につながるのではなく、むしろ臓器特異的なLTA₄-hyd阻害物質を見つければ、その用途と重要性は極めて高いものであると考えられる。今回はモルモット肺由来のLTA₄-hydなどで阻害活性を調べたため、臓器特異性については何も言えないが、afromodialを用いて他の臓器やひいてはヒトでの介入試験を行うことは極めて重要な研究である。

また、ラブダン型ジテルペン類のLTA₄-hyd及び5-LOX阻害活性における構造と活性の相関について、vicinalなジアル構造が大変重要であることが分かった (図5)。OPAのような単純なジアル構造を持つ化学試薬であっても阻害活性を示し得たということは、polygodialのように他の食用植物の辛味成分中にも類縁の阻害物質が存在していると考えられた。何故、vicinalなジアル構造が作用は全く違うLTA₄-hyd (水分解酵素) 及び5-LOX (脂質酸化酵素) の阻害に重要であるのかは不明である。ただ、そもそもの (森光らの) ショウガに関する研究は血小板凝集阻害活性に関するもので、そこから単離されたものも実はafromodialをはじめとするラブダン型

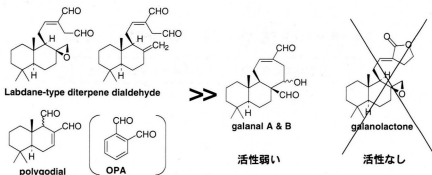


図5 ショウガより単離したラブダン型ジテルペン類のLTA₄ hydrolase及び5-LOX阻害活性の比較

ジテルペンジアルデヒドであった。同じく血小板凝集阻害活性にも vicinal なジアル構造が必要であり、その作用機構を解明する中で、血小板膜に存在する ADP リセプター上のアミノ基 (例えばリジン残基) と SH 基 (システイン残基) にジアル部分が素早く環化反応をしている可能性を示唆できた。LTA₄-hyd や 5-LOX にももちろんアミノ基や SH 基が存在し、vicinal なジアルが反応しやすい部位が存在しているのかもしれない。ただ、afromodial はどんな酵素でも阻害するわけではなく (キサンチンオキシダーゼやアミラーゼなどを阻害しない)、何故反応性の高い vicinal なジアル部分が、LTA₄-hyd や 5-LOX などの酵素阻害を低濃度で示すことができるのかは、今後の研究課題である。

肺を用いた *in vitro* での基盤的な研究を通して、スクリーニングとショウガ中の阻害物質探索、構造と阻害作用に関して検討を行った。単離した afromodial がすぐに抗喘息物質としてヒトには使えないが、ロイコトリエン合成阻害物質として、しかも、そのキーエンザイムである 5-LOX と LTA₄-hyd 双方に対するデュアルインヒビターであることを明らかにできた (図 6)。最終的にはヒトでの応用へ向けて動物実験などを進めて行くべきであるが、現段階においてはショウガ中の afromodial による抗炎症・抗喘息効果を大いに期待している。

謝 辞

モルモットまたはラット肺を一部分けて下さいました、お茶大生活科学部・藤原助教授、澤田助手に御礼申し上げます。また、galanal A と B をご恵与下さいました、高崎福祉健康大・小澤教授、阿部助手に深く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 和泉孝志, 清水孝雄: 「アラキドン酸代謝測定法 II—リポキシゲナーゼ系」, バイオシグナル実験法 (実験医学増刊, 宇井・日高編集), 11, 123-129 (1993).
- 2) M. Noguchi, T. Matsumoto, M. Nakamura & M. Noma: *FEBS Letters*, **249**, 267-270 (1989).
- 3) T. Matsumoto, C.D. Funk, O. Radmark, J.-O. Hoog & B. Samuelsson: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 26-30 (1988).
- 4) S. Kawakishi, Y. Morimitsu & T. Osawa: *ACS Sympo. Ser.*, **547**, 244-250 (1994).
- 5) 森光康次郎, 川岸舜朗: 「食用植物中の抗血小板・抗炎症物質について」, 食品工業, **36**, 37-45 (1993).
- 6) Q. Huang, M. Iwamoto, S. Aoki, N. Tanaka, K. Tajima, J. Yamahara, Y. Takaishi, M. Yoshida, T. Tomimatsu & Y. Tamai: *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 397-400 (1991).
- 7) 阿部ら: 2002年度日本農芸化学会大会要旨集, p. 240.

関連論文・発表

- 1) Y. Morimitsu, K. Tsuji, T. Osawa, M. Abe, Y. Ozawa, Y. Nakamura, Y. Sekiwa & K. Kubota: in preparation.
- 2) M. Abe, Y. Ozawa, Y. Uda, Y. Yamada, Y. Morimitsu, Y. Nakamura & T. Osawa: in submitted.
- 3) 森光, 中村, 辻, 大澤, 久保田: 2002年度日本農芸化学会大会要旨集, p. 240.

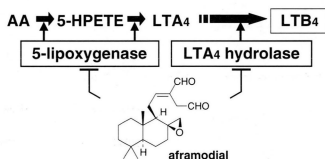


図 6 喘息抑制作用が期待されるショウガ中の afromodial

Fundamental studies on anti-asthmatic effect of spices and herbs: Inhibition of leukotriene A₄ hydrolase by aframodial in ginger

Yasujiro Morimitsu (Faculty of Nutrition & Food Science, Ochanomizu University)

As for the basic cause including progress mechanism of asthma (bronchial asthma), there are many respects elucidated not enough. Asthma is understood that a mental respect is not affection to have with the main reason, and genetic factor of familial participates partly. Therefore, asthma is very difficult to recover completely with some drugs or establishment of tackling method, and there is also danger to cause serious complications such as pulmonary emphysema, pneumonia, chronic pulmonary insufficiency, heart failure, arrhythmia itself that bronchial asthma will move.

Leukotriene B₄ (LTB₄) is a lipid mediator which stimulates adhesion of circulating neutrophils to vascular endothelium, directs their migration toward sites of inflammation, and catalyzes the release of their granule constituents. Pharmacological restraint of LTB₄ formation may alleviate some inflammatory symptoms including asthma, complementing the action of agents which inhibit formation of prostaglandins. Efforts to modulate leukotriene formation have focused on LTA₄, the product of the 5-lipoxygenase (5-LOX) enzyme. Various inhibitors of 5-LOX have been reported, and they have also isolated even in edible plants. In contrast, inhibitors of LTA₄ hydrolase (LTA₄-hyd), the rate-limiting enzyme for LTB₄ biosynthesis, are uncommon. LTA₄-hyd is now recognized as a Zn²⁺-metallohydrolase and bifunctional enzyme with intrinsic aminopeptidase activity. So bestatin, an aminopeptidase inhibitor, has been identified and characterized as a selective inhibitor of LTA₄-hyd.

In this study, we tried on a preliminary investigation of the effects of spices and herbs, which have been well known for usage of folk medicines, on LTA₄-hyd using crude lung enzyme of guinea pig *in vitro*. Our results indicated that aframodial, a labdane-type diterpene dialdehyde, isolated from ginger is a potent dual inhibitor of LTA₄-hyd and 5-LOX.

In the course of our screening of 51 kinds of spices, the MeOH extract of ginger showed potent inhibitory activity for LTA₄-hyd. Aframodial was isolated and identified from the hexane extract of ginger by conventional method. Surprisingly, we have already isolated the same compound from ginger as a human 5-LOX inhibitor. Inhibition of LTA₄-hyd by aframodial (IC₅₀=56.4μM) was stronger than that of bestatin (IC₅₀=91.4μM), a positive control. From the quantitative HPLC analytical results,

afromodial was found to contain a lot in race ginger with the leaves (pungent small ginger), which compared with root ginger.

To examine the relationship between structure and inhibitory activity for LTA_4 -hyd, labdane-type diterpenes and the other dialdehyde compounds (polygodial and *o*-phthalaldehyde) were tested. The compounds possessing the vicinal dialdehyde (afromodial, polygodial, and so on) showed the strong inhibitory activity for LTA_4 -hyd, in spite of the labdane-type diterpenes possessing dialdehyde (not vicinal; galanals A & B) did show so little. The labdane-type diterpenes possessing no aldehydes (galanolactone and hydrogenated afromodial) showed no inhibitory activities. These results suggested that the vicinal dialdehyde moiety of afromodial could play an important role for the inhibitory of LTA_4 -hyd.

Of course, afromodial cannot be applied as asthma treatment medicine for human immediately. But we could make clear in this study that afromodial in ginger was dual inhibitor of 5-LOX and LTA_4 -hyd which were key enzymes of leukotriene biosynthesis. Animal studies will be pushed forward toward application with humans finally, but anti-inflammatory and anti-asthmatic effects by afromodial in ginger, which is one of very commonly dairy food materials, is so expected.