

ショーガオール及びギンゲロールの Maus 精管電気刺激収縮に対する作用と TRPV1 活性化の関与

川筋 透

Effect of Shogaol and Gingerol on the Twitch Response to Electrical Stimulation in the Isolated Mouse Vas Deferens and Involvement of TRPV1 Activation

Toru KAWASUJI

要 約

ショーガオールとギンゲロールは、それぞれ乾姜と生姜の辛味成分である。ショーガオールとギンゲロールは、TRPV1 (transient receptor potential vanilloid 1) 活性化物質として知られている。ショーガオールとギンゲロールの Maus 精管の電気刺激収縮に対する作用をトウガラシの辛味成分であるカプサイシンと比較検討した。ショーガオールとギンゲロールは、低濃度 (0.3-1 μ g/mL) で Maus 精管の twitch 収縮反応を顕著に抑制した。ショーガオールは高濃度 (3-10 μ g/mL) で、初期抑制とともに収縮増大を示した。強い TRPV1 活性化物質であるカプサイシンは、極めて低濃度 (0.01 μ g/mL) で Maus 精管の twitch 収縮反応を顕著に抑制した。ショーガオール、ギンゲロール及びカプサイシンの twitch 収縮抑制作用は、反復適用で減弱した。また、TRPV1 アンタゴニストのカプサゼピン (10 μ M) は、ショーガオール、ギンゲロール及びカプサイシンの twitch 収縮抑制作用を減弱させた。これらのことから、ショーガオールとギンゲロールは、Maus 精管において TRPV1 の活性化を介したカプサイシン様作用を有することが示唆された。また、ショーガオールは神経刺激性反応を増大させる活性を有する可能性が考えられた。

Summary

Shogaol and gingerol is a pungent constituent of the processed ginger and ginger, respectively. Shogaol and gingerol are known as TRPV1 (transient receptor potential vanilloid 1) activators. Effects of shogaol and gingerol on the twitch response to electrical stimulation in the isolated mouse vas deferens were investigated with capsaicin, a pungent constituent of capsicum. Shogaol and gingerol showed the remarkable twitch-inhibition at low concentrations (0.3-1 μ g/mL). Shogaol, at high concentrations (3-10 μ g/mL), showed the twitch-potential with initial twitch-inhibition. Capsaicin, a strong TRPV1 activator, showed the twitch-inhibition at very low concentrations (0.01 μ g/mL). Repeated application showed the reduction of twitch-inhibitory effect of shogaol, gingerol and capsaicin. In addition, capsazepine (10 μ M), a TRPV1 antagonist reduced the twitch-inhibitory effect of shogaol and gingerol and capsaicin. These results suggest that shogaol and gingerol possess the capsaicin-like twitch-inhibitory effect via TRPV1 activation in the mouse vas deferens. Furthermore, shogaol may possess the potentiating effect on neurogenic response.

キーワード：ショーガオール、ギンゲロール、カプサイシン、精管、電気刺激、TRPV1

Key words : Shogaol, gingerol, Capsaicin, Vas deferens, Electrical stimulation, TRPV1

ショウガ (ジンジャー) は食品・医薬品分野で頻用され¹⁾、ショウガ由来の2つの生薬であるカンキョウ (乾姜) とショウキョウ (生姜) は、漢方薬に区別して配合される^{2,3)}。たとえば、大建中湯と葛根湯には、それぞれカンキョウとショウキョウが配合される。ショウガの根茎を湯通し又は蒸してから乾燥するのがカンキョウで、ショウキョウにはそのような熱処理工程がないという違いがある²⁾。日本薬局方の品質試験では、カンキョウとショウキョウの指標成分として、辛味成分のショーガオール ([6]-shogaol) とギンゲロール ([6]-gingerol) がそれぞ

れ用いられ、ショーガオールは、ギンゲロールの加熱処理によって生成する二次産物とされている^{1,2)}。ショーガオールとギンゲロールには多くの薬理作用が報告されているが²⁾、乾姜と生姜の使い分けと生物活性との関係は、十分解明されているとは言えない。

唐辛子の強力な辛味成分であるカプサイシンは、TRPV1 (Transient Receptor Potential Vanilloid 1) を活性化することが知られており^{4,9)}、辛味成分のショーガオールとギンゲロールも TRPV1 を活性化する作用を有することが知られている^{4,10,11)}。TRPV1 は、熱、酸、辛

味物質など複数の刺激で活性化するカルシウムイオン透過性の高い非選択性陽イオンチャネルで、TRPサブファミリーのTRPVに属している。

マウスの精管を低頻度で電気刺激すると、交感神経系の神経終末から神経伝達物質が遊離し、神経の興奮が平滑筋に伝わり、一過性の単収縮 (twitch) が連続的に生じる¹²⁾。各種の薬理作用物質が抑制作用を示し、神経伝達機構と筋収縮機構に対する生物活性を検出できる実験系である。鎮痙薬のパパベリン、血管拡張作用を有するカルシウム拮抗薬のニフェジピン、 α_2 -アドレナリン受容体遮断薬のクロニジン、オピオイド受容体への結合性を有する止瀉薬のロペラミド、アデノシン A_1 受容体作動薬のシクロペンチルアデノシンなどに低濃度で twitch 収縮抑制作用がみられている^{13,14)}。

当所では、薬用植物指導センターで栽培しているシャクヤクの生物活性に基づく品質試験として、鎮痙・鎮痛作用との関連性から、マウス精管の電気刺激収縮実験を行っている¹³⁾。漢方薬にシャクヤクと同時配合される生薬類の成分についても、同じ実験系で生物活性を検討し、これまでに甘草成分のイソリクイリチゲニンや桂皮成分のシンナムアルデヒドに顕著な twitch 収縮抑制作用がみられている^{16,17)}。

今回、日本薬局方で指標成分として用いられる辛味成分のショウガオールとギンゲロールについて、強い辛味成分で TRPV1 活性化物質であるカプサイシンとともに、マウス精管の電気刺激収縮実験で生物活性を比較検討したので報告する。

実験材料及び実験方法

1. 使用薬物

ショウガオール (和光純薬, 局方試験用, [6]-shogaol), ギンゲロール (和光, 局方試験用, [6]-gingerol), カプサイシン (和光), カプサゼピン (和光, 細胞生物学用) を使用した。

2. マウス精管の電気刺激による twitch 収縮反応に対する作用の検討

ICR 系雄性マウスを頸椎脱臼で致死し、精管を摘出した。マウスの精管1本では発生張力が小さいので、同じマウスからの2本の精管を並列につないで使用した。すなわち、2本の精管の下端は固定棒と一緒に結びつけ、上端は小さい金属リングに通した糸で2本の精管を連結した。小リングは糸を介してアイソメトリックトランスジューサー (TB-651T, 日本光電) に連結した。精管標本は、1対のリング状白金電極の中に通した状態で、34℃の McEwen 液 (130 mM NaCl, 5.9 mM KCl, 2.2 mM $CaCl_2$, 0.9

mM NaH_2PO_4 , 25.0 mM $NaHCO_3$, 13.1 mM スクロース及び 11.1 mM グルコース) を満たした 30 mL のマグナス槽内に懸垂した。電気刺激装置 (バイオメディカルサイエンス社) で発生した矩形波パルス (持続時間 1 msec, 刺激頻度 0.1 Hz) を栄養液中に通電し、電場刺激によって生じる一過性の単収縮 (twitch) を等尺性に記録した。なお、白金電極のリングの外側は、ポリエチレン樹脂で被覆し、外側に電流が流れないようにした。標本を懸垂し、約 0.15 g の静止張力のもとで電気刺激を開始した。30分後に栄養液を1回交換し、その後、電気刺激を行いながら30分経過してから検体を適用し、twitch 収縮反応の変化を60分間記録した。

検体適用直前の twitch 収縮反応の振幅に対する振幅減少率から抑制率を算出した。

ショウガオール、ギンゲロール、カプサイシン、カプサゼピンは、ジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解して使用し、マグナス槽内での DMSO の終濃度は、0.33% とした。

検体の反復適用による作用の変化をみる場合は、最初の検体投与で60分間 twitch 収縮反応を記録した後、マグナス槽内の栄養液を数回交換した後、電気刺激収縮を60分間記録し、収縮が安定してから、2回目の検体を適用した。

TRPV1 アンタゴニストであるカプサゼピン存在下での検体の作用をみる場合は、カプサゼピンを60分間適用した後、電気刺激を中断している間にバルーンに混合ガスを補充し、収縮が安定してから、検体を適用して収縮反応を記録した。

実験結果

1. マウス精管の電気刺激による twitch 収縮反応に対するショウガオール及びギンゲロールの作用

ショウガオールは、0.3 μ g/mL の低濃度から、マウス精管の電気刺激による twitch 収縮反応に対して顕著な抑制作用を示した (Fig.2, Fig.3)。60分間の最大抑制率に基づき算出した50%抑制に要する濃度である IC_{50} 値は 0.55 μ g/mL (2.0 μ M) であった。

ショウガオールの 1 μ g/mL では、収縮の戻りが観察され、3-10 μ g/mL では顕著な収縮増大が観察された。

ショウガオールの反復適用の場合、1-10 μ g/mL の2回目の適用では、1回目の適用でみられた twitch 収縮抑制作用がほとんどみられなくなった (Fig.4)。3 μ g/mL では、収縮増大の程度が大きくなった (Fig.4B)。

ギンゲロールは、0.3 μ g/mL の低濃度から、顕著な

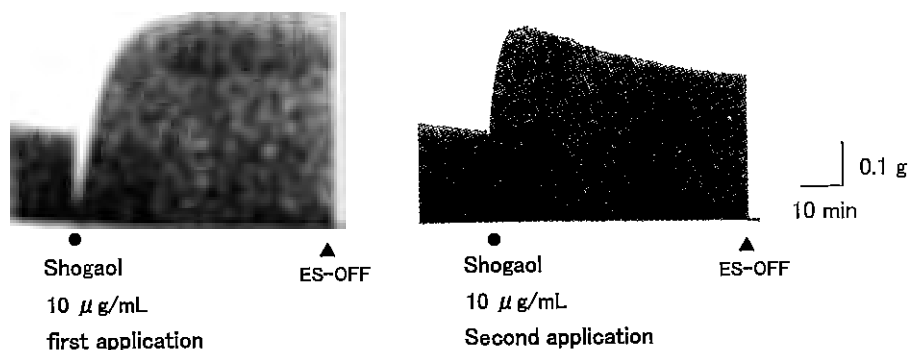


Fig.2 Typical recording of shogaol-induced twitch-inhibition and twitch-potential in the isolated mouse vas deferens.

Shogaol was dissolved in DMSO and was added to the bath at the point indicated. Electrical stimulation (1 msec, 0.1 Hz) was stopped at the point indicated. The second application of [6]-shogaol was done 60 min after the exchange of organ bath fluid.

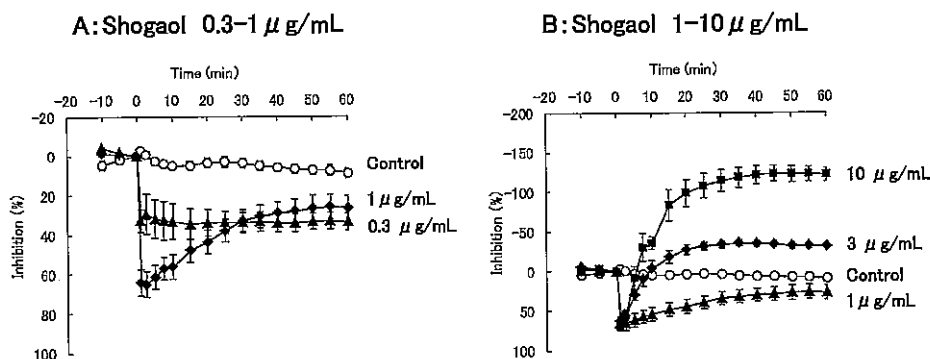


Fig.3 Effect of shogaol on the twitch response in the isolated mouse vas deferens

Shogaol was dissolved in DMSO. Error bars indicate the SE from the mean of 3-4 experiments.

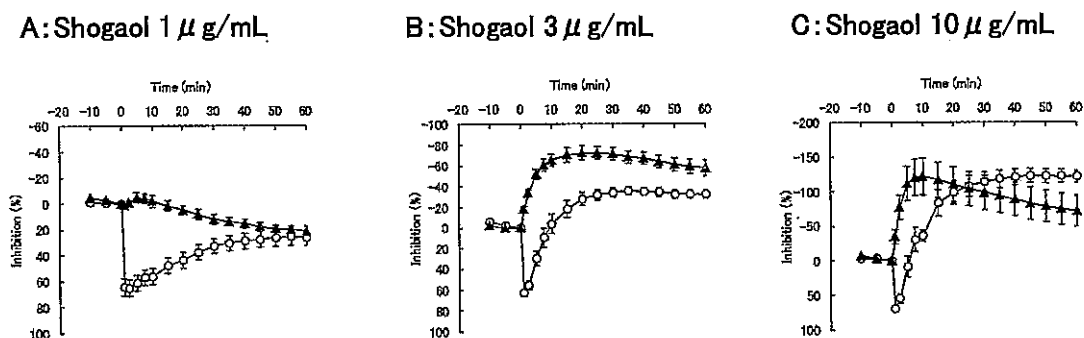


Fig.4 Effect of repeated application of shogaol on the twitch response in the isolated mouse vas deferens

○ : First application of shogaol, ▲ : second application of shogaol after removal of shogaol. Shogaol was dissolved in DMSO. Error bars indicate the SE from the mean of 3-4 experiments.

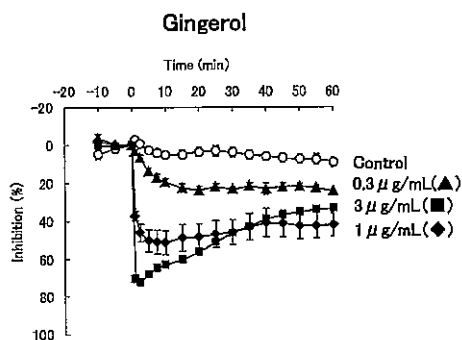


Fig.5 Effect of gingerol on the twitch response in the isolated mouse vas deferens

Gingerol was dissolved in DMSO. Error bars indicate the SE from the mean of 4 experiments.

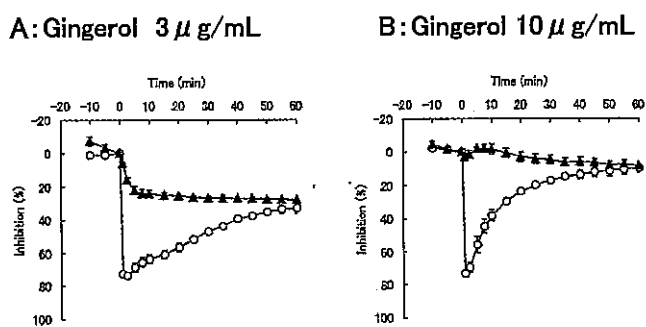


Fig.6 Effect of repeated application of gingerol on the twitch response in the isolated mouse vas deferens

○ : First application of gingerol, ▲ : second application of gingerol after removal of gingerol. Gingerol was dissolved in DMSO. Error bars indicate the SE from the mean of 3-4 experiments.

twitch 収縮抑制作用を示した (Fig.5). ギンゲロールの IC_{50} 値は $0.94 \mu\text{g/mL}$ ($3.1 \mu\text{M}$) であった.

ギンゲロールの $3 \mu\text{g/mL}$ では収縮の戻りがみられ, $10 \mu\text{g/mL}$ では収縮の戻りが顕著となった. ギンゲロールでは, ショーガオールと異なり, $3-10 \mu\text{g/mL}$ で, 収縮の増大はほとんど観察されなかった (Fig.6).

ギンゲロールの反復適用の場合, $3 \mu\text{g/mL}$ の2回目の適用では, 1回目の適用でみられた twitch 収縮抑制作用が減弱し, $10 \mu\text{g/mL}$ の2回目の適用では, twitch 収縮抑制作用が消失した (Fig.6). ギンゲロールでは, ショーガオールと異なり, $3-10 \mu\text{g/mL}$ の2回目の適用で, 収縮増大は観察されなかった (Fig.6).

2. マウス精管の電気刺激による twitch 収縮反応に対するカプサイシンの作用

カプサイシンは, $0.003 \mu\text{g/mL}$ という極めて低い濃度から, マウス精管の電気刺激による twitch 収縮反応に対して顕著な抑制作用を示した (Fig.7). カプサイシンの IC_{50} 値は $0.0013 \mu\text{g/mL}$ ($0.0043 \mu\text{M}$) であった.

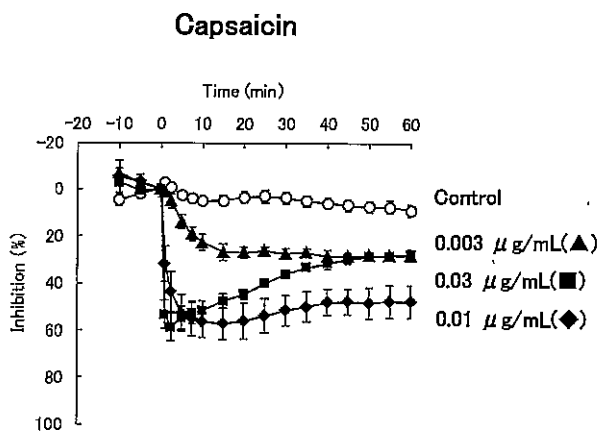


Fig.7 Effect of capsaicin on the twitch response in the isolated mouse vas deferens

Capsaicin was dissolved in DMSO. Error bars indicate the SE from the mean of 3-4 experiments.

カプサイシンの $0.03 \mu\text{g/mL}$ 以上の濃度で収縮の戻りがみられ, $3 \mu\text{g/mL}$ で収縮の増大が観察された (Fig.8). カプサイシンの反復適用の場合, $0.03 \mu\text{g/mL}$ 以上の2回目の適用で, 1回目の適用でみられた twitch 収縮抑制作用が大きく減弱またはほとんどみられなくなった. $3 \mu\text{g/mL}$ の2回目の適用では, 1回目とともに twitch 収縮の増大が観察された (Fig.8).

3. カプサイシン, ショーガオール及びギンゲロールの twitch 収縮抑制作用に対するカプサゼピンの作用

TRPV1 アンタゴニストであるカプサゼピン ($10 \mu\text{M}$) は, マウス精管の電気刺激による twitch 収縮反応に対して増大作用を示した (Fig.9). 適用の約 30 分後で twitch 収縮増大作用はほぼ最大となり, 60 分経過後も twitch 収縮の増大状態は維持された.

カプサゼピン ($10 \mu\text{M}$) の存在下で, カプサイシン ($0.03 \mu\text{g/mL}$), ショーガオール ($1 \mu\text{g/mL}$) 及びギンゲロール ($3 \mu\text{g/mL}$) の twitch 収縮抑制作用は顕著に減弱した (Fig.10).

考 察

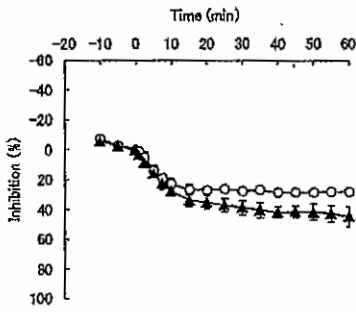
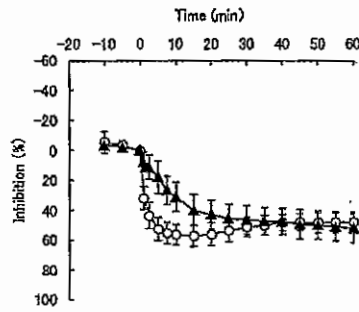
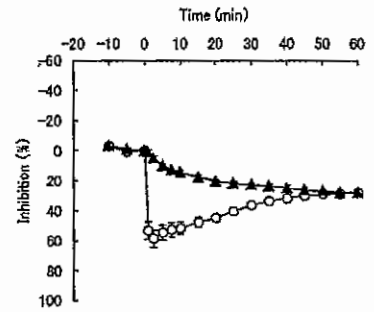
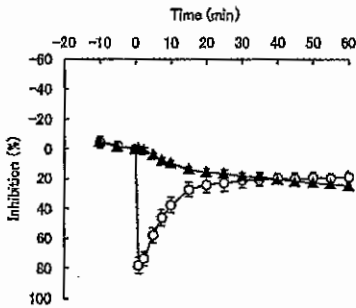
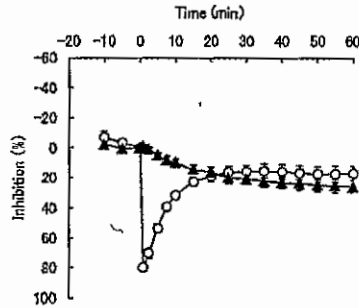
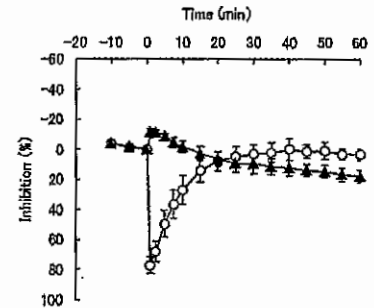
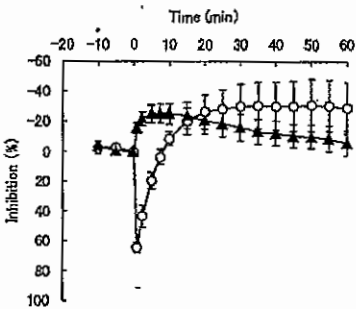
カプサイシンは極めて低濃度から, twitch 収縮抑制作用を示し, TRPV1 アンタゴニストであるカプサゼピンは, カプサイシンの抑制作用を減弱させたことから, カプサイシンの顕著な twitch 収縮抑制作用は, マウス精管のカプサイシン感受性知覚神経上の TRPV1 の活性化を介したものと考えられた. カプサイシンは, マウス精管の twitch 収縮を抑制することが報告されており¹⁷⁾, 今回, 同様な twitch 収縮抑制作用がみられたものと思われる.

カプサイシンの作用には脱感作という現象が知られている⁴⁾. カプサイシンの強い twitch 収縮抑制を示した後は, 収縮の戻りが観察されたが, 脱感作が関係しているかもしれない.

ショーガオールとギンゲロールは, マウス精管の twitch 収縮反応を低濃度で抑制し, 反復適用での作用の減弱は, カプサイシンと類似していた. また TRPV1 アンタゴニストのカプサゼピンによって, カプサイシンと同様に twitch 収縮抑制作用が減弱したことから, マウス精管におけるショーガオールとギンゲロールの作用点は, カプサイシンと同じ TRPV1 受容体であると考えられた.

twitch 収縮抑制作用の効力を IC_{50} 値から比較すると, ショーガオールの効力は, カプサイシンよりも約 470 倍弱く, ギンゲローの効力は, ショーガオールよりも約 1.6 倍弱いという結果であった.

精管には, 散在する知覚神経と高密度の交感神経系の筋神経が存在し, カプサイシンによって知覚神経からカルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) が遊離するとされている¹⁷⁾. 外からの CGRP の適用によって, 電気刺激による交感神経系伝達物質の遊離が抑制されるとともに, ノルアドレナリンや ATP による収縮や電気刺激収縮が抑制されることが報告されている¹⁷⁾. マウス精管の twitch 収縮反応は, カプサイシンや CGRP で抑制され, またカプサイシンの2回目の累積濃度作用曲線では初期相が抑制され, マウス精管を CGRP で前処理すると部分

A: Capsaicin 0.003 μ g/mL**B: Capsaicin 0.01 μ g/mL****C: Capsaicin 0.03 μ g/mL****D: Capsaicin 0.1 μ g/mL****E: Capsaicin 0.3 μ g/mL****F: Capsaicin 1 μ g/mL****G: Capsaicin 3 μ g/mL****Fig.8 Effect of repeated application of capsaicin on the twitch response in the isolated mouse vas deferens**

○ : First application of capsaicin, ▲ : second application of capsaicin after removal of capsaicin. Capsaicin was dissolved in DMSO. Error bars indicate the SE from the mean of 3-4 experiments.

回復することから、CGRPが取り込まれ、再遊離することが報告されている¹⁸⁾。

今回、反復適用での twitch 収縮抑制作用の減弱は、カプサイシン、ショーガオール及びギンゲロールで同様に見られており、反復適用によって、遊離する CGRP 量が減少または枯渇するために、twitch 収縮抑制作用が減弱または消失することになったものと考えられた。

TRPV1 アンタゴニストであるカプサゼピンは、twitch 収縮増大作用を示した。TRPV1 の内因性活性化物質として、プロトンやアラキドン酸代謝物などがあり⁴⁾。定常状態で TRPV1 がある程度活性化している可能性があ

る。カプサゼピンは、TRPV1 による CGRP の遊離を介した抑制性調節を解除することで、ある程度の twitch 収縮増大作用を示した可能性が考えられた。

カプサイシンは、10 μ M 以上の比較的高い濃度で、ラット精管の twitch 収縮反応を強め、脱感作もみられないことが報告されている¹⁹⁾。マウス精管におけるカプサイシンの比較的高濃度適用による twitch 収縮増大は、ラット精管の場合と同様な作用であると考えられた。

知覚神経からは CGRP 以外にもサブスタンス P (SP) などが遊離するとされており、SP はモルモット精管やラットの精管で twitch 収縮増大を示すことが報告されてい

る^{19,20)}。TRPV1が活性化すると、知覚神経から遊離するCGRPとSPが増加し、CGRPによる抑制作用とSPなどによる増大作用が混じっているのかもしれない。さらに高濃度ではTRPV1の脱感作が加わり、抑制と収縮の戻りや増大という複雑な twitch 収縮反応が生じているのかもしれない。

ショーガオールとギンゲロールは、TRPV1とTRPA1の活性化作用を有するとされている⁴⁶⁾。TRPA1を活性化する生薬成分にはシンナムアルデヒドがある⁴⁵⁾。以前、シンナムアルデヒドは、twitch 収縮抑制作用を示し、濃度を高めると収縮の戻りが観察されている¹⁶⁾。濃度を高めると収縮の戻りがみられる点では、今回と類似性があり、ショーガオールとギンゲロールは、TRPV1だけでなく、TRPA1も介して、マウス精管の知覚神経を刺激し、twitch 収縮反応を変化させている可能性も考えられた。

ショーガオールは、ギンゲロールと異なり、濃度を高めると顕著な twitch 収縮増大作用がみられた。マウス精管で twitch 収縮増大作用を示す物質は、交感神経機能の低下を改善する効果が期待できるかもしれない。

TRPV1は、血管や気管支の平滑筋に存在しているとされ、CGRRP、アセチルコリン及びNOを神経終末から遊離することで血管拡張につながり、気管支平滑筋ではCa²⁺流入を促進することで気管支収縮を起こすとされている⁴⁾。ショーガオールのやや高濃度での顕著な twitch 収縮増大作用には、Ca²⁺流入の促進などが関与している可能性もあると思われる。

辛味生薬の山椒や乾姜を配合している大建中湯は、主な薬理作用が消化管運動亢進作用と腸管粘膜血流量増加作用とされ、腸管粘膜血流量増加作用には、カプサイシン感受性知覚神経系のパニロイド受容体、すなわちTRPV1の刺激によるCGRP放出作用やアドレメデュリン産生作用などが関与しているとされている²¹⁾。ショーガオールとギンゲロールは、カプサイシン様の twitch 収縮抑制作用がみられたことから、ショーガオールとギンゲロールは、TRPV1の活性化でCGRPが遊離する機序で、血流改善作用を有しているものと考えられた。

マウス精管の電気刺激収縮実験は、反復適用による評価を加えることで、辛味成分を含む多くの生薬成分の作用解析に役立つ評価系であると思われる。

- 1) 食品機能性の科学, 産業技術サービスセンター (2008), p.293, p.335, p.686,
- 2) 第十七改正日本薬局方解説書, 廣川書店(2016), D-202(カンキョウ), D-475(ショウキョウ), D-598(無コウイ大建中湯), D-675(トウガラシ)
- 3) 日本生薬関係規格集2014 (監修: 合田幸広, 袴塚高志), じほう(2014), p.117, 129, 256
- 4) Premkumar L. S.: Transient receptor potential channels as targets for phytochemicals, ACS Chem. Neurosci, 5, 1117-1130 (2014)
- 4) 富永真琴: 消化管におけるTRPV1の発現と機能, 日薬理誌, 128, 78-81 (2006)
- 5) 松本健次郎, 加藤伸一, 堀江俊治: TRPチャンネルと内臓痛, 日薬理誌, 146, 233-235 (2015)
- 6) Riera C.E., Menozzi-Smarrito C., Affolter M., Michlig S., Munari C., Robert F., Vogel H., Simon S.A., Coutre J.I.: Compounds from Sichuan and Melegueta peppers activate, covalently and non-covalently, TRPA1 and TRPV1 channels, British J. Pharmacol., 157, 1398-1409 (2009)
- 7) Nakamori S., Takahashi J., Hyuga S., Tanaka-Kagawa T., Jinno H., Hyuga M., Hakamatsuka T., Odaguchi H., Goda Y., Hanawa T., Kobayashi Y.: Ephedra Herb extract activates/desensitizes transient receptor potential vanilloid 1 and reduces capsaicin-induced pain, J. Nat. Med., 71, 105-113 (2017)
- 8) 小林義典: 麻黄及びエフェドリンアルカロイド除去麻黄エキス (EFE) の鎮痛作用と副作用, YAKUGAKU ZASSHI, 137, 187-194 (2017)
- 9) 小林義典: 呉茱萸アルカロイド“エボジアミン”のTRPV1を介した生理活性, 日薬理誌, 146, 135-139 (2015)
- 10) Riera C.E., Menozzi-Smarrito C., Affolter M., Michlig S., Munari C., Robert F., Vogel H., Simon S.A., Coutre J.I.: Compounds from Sichuan and Melegueta peppers activate, covalently and non-covalently, TRPA1 and TRPV1 channels, British J. Pharmacol., 157, 1398-1409 (2009)
- 11) 吉富太一, 大嶋直浩, 後藤祐斗, 中森俊輔, 安食菜穂子, 林茂樹, 杉村康司, 瀧野裕之, 飯田修, 香川聡子, 神野透人, 川原信夫, 小林義典, 丸山卓郎: 辛味受容体TRPV1賦活性化を指標したLC-MSメタボロームによるショウキョウ, カンキョウの品質多様性評価について, 第46回生薬分析シンポジウム講

演要旨, p.61-73 (2017)

- 12) 毒性試験講座7 機能毒性学 (責任編集: 福原武彦, 小野宏), 地人書館 (1990), p.67-68, p.229-233
- 13) 川筋 透, 横田洋一, 田村隆幸, 松永孝之: シャクヤクの品種別薬理試験(3) マウス精管の電気刺激収縮に対するシャクヤクエキスの作用, 富山県薬事研究所年報, 39, 51-60 (2012)
- 14) 川筋 透: マウス精管の電気刺激収縮に対するシャクヤク成分及び関連化合物の作用, 富山県薬事研究所年報, 42, 27-32 (2015)
- 15) 川筋 透: マウス精管での電気刺激収縮反応に対する芍薬甘草湯の作用, 富山県薬事研究所年報, 40, 46-50 (2013)
- 16) 川筋透, 石黒尋保, 松永孝之: シンナムアルデヒド及びケイヒ酸のマウス精油電気刺激収縮に対する作用及びマウスにおける体内動態の検討, 富山県薬事研究所年報, 43, 22-27 (2016)
- 17) Donoso M.V., Hermosilla D., Navarrete C., Álvarez P., Lillo J.G., Huidobro-Toro J.P.: Reciprocal sympatho-sensory control: functional role of nucleotides and calcitonin gene-related peptide in a peripheral neuroeffector junction, *Neuroscience*. 203, 216-229 (2012)
- 18) Sheykhzade M., Gupta S., Sørensen T., Sørensen O.A., Koch H., Boonen H.C., Back O., Fjalland B.: Characterization of capsaicin induced responses in mice vas deferens: evidence of CGRP uptake, *Eur. J. Pharmacol.*, 667, 375-382 (2011)
- 19) Moritoki H., Iwamoto T., Kanaya J., Ishida Y., Ando K., Kitagawa K.: Capsaicin enhances the non-adrenergic twitch response of rat vas deferens. *Br. J. Pharmacol.*, 92, 469-475 (1987)
- 20) Anthes J.C., Chapman R.W., Richard C., Eckel S., Corboz M., Hey J.A., Fernandez X., Greenfeder S., McLeod R., Sehring S., Rizzo C., Crawley Y., Shih N.Y., Piwinski J., Reichard G., Ting P., Carruthers N., Cuss F.M., Billah M., Kreutner W., Egan R.W.: SCH 206272: a potent, orally active tachykinin NK(1), NK(2), and NK(3) receptor antagonist. *Eur. J. Pharmacol.* 450, 191-202 (2002)
- 21) 佐藤雄己: 消化管ペプチドで大建中湯の効果を評価する 消化管ペプチドを介したモルヒネ誘発便秘に対する大建中湯の効果, *日薬理誌*, 143, 120-125 (2014)