

総説

ガーナ産薬用植物 *Morinda lucida* に含まれる 抗原虫活性成分

太田智絵*

京都薬科大学 生薬学分野

著者が所属していた長崎国際大学薬品資源学研究室では、東京医科歯科大学、ガーナの野口記念医学研究所および Centre for Plant Medicine Research と共同で、顧みられない熱帯病の治療応用を目指したガーナ産薬用植物由来シーズ探索を進めてきた。本プロジェクトでは、複数の抗寄生虫活性を有する候補物質を見出したが、本稿では特にアフリカ睡眠病に対する治療薬シーズ探索に焦点を当てた。ガーナ産薬用植物エキスライブラリーを用いた抗トリパノソーマ活性スクリーニングにより、*Morinda lucida* 葉部抽出エキスが最も強力な活性を示すことを見出した。このエキスから3種の新規テトラサイクリックイリドイド類を単離・構造決定した。これらの化合物が既存薬である suramin と同等、またはそれを上回る抗トリパノソーマ活性を示した。テトラサイクリックイリドイド類はトリパノソーマ症に対する有望な治療薬候補であり、今後は抗寄生虫活性の作用機序解明や臨床応用に向けた研究が期待される。

キーワード：ガーナ産薬用植物, *Morinda lucida*, テトラサイクリックイリドイド, 抗トリパノソーマ活性

受付日：2024 年 10 月 8 日，受理日：2024 年 12 月 2 日

1. はじめに

顧みられない熱帯病 (Neglected Tropical Diseases, NTDs) とは、世界保健機関 (WHO) が「人類が制圧しなければならない熱帯病」と定義する、デング熱・チクングニア熱、狂犬病、トラコーマなどの 21 の疾患を指す。これらの疾患は、ウイルス、細菌、寄生虫、真菌、毒素など、さまざまな病原体によって引き起こされ、健康、社会、経済に壊滅的な影響を及ぼす。NTDs は 149 か国で風土病とされており、主に

熱帯地域の貧困層に蔓延している。患者数は 10 億人を超え、医療援助を必要とする人々を含めると、推定 16 億人に上る¹⁾。NTDs は高い死亡率および罹患率を持ち、労働力不足や生産性低下を引き起こすため、経済成長の妨げとなっている。しかし、これらの疾患は先進国では主要な疾患とされていなかったため、エイズ、マラリア、結核といった三大感染症と比較して、これまで十分な対策が講じられてこなかった²⁾。現時点で制御・予防・撲滅が確認された NTDs は存在せず、これらの疾患の予防・治療に関する研究が進展すれば、貧困撲滅への大きなステップとなる³⁾。しかしながら、NTDs に対する効果的な治療薬はほとんどなく、現存する治

*連絡先：

〒607-8412 京都府山科区御陵四丁野町 1
京都薬科大学 生薬学分野

療薬の多くは深刻な副作用を伴う。したがって、NTDs の治療薬開発は人類の健康と経済的發展を左右する重要な課題であり、早急な解決が求められている¹⁾。

NTDs の 1 つであるアフリカ睡眠病（アフリカトリパノソーマ症）は、ツェツェバエが媒介する寄生性原虫トリパノソーマ（*Trypanosoma brucei*）によって引き起こされる感染症で、感染者は 5 ～ 7 万人と推計されている。1 週間～数ヶ月の潜伏期間後、発熱、頭痛、筋肉痛などが起こり、その後、眠気、激しい頭痛を主とする様々な神経症状が現れる。未治療の場合は死亡率が高いとされる。治療薬として suramin, pentamidine, eflornithine, melarsoprol（図 1）などが知られているが、副作用が強く、死亡例も多く報告されている⁴⁾。さらに、これらの薬剤に対する原虫の耐性化も問題となっていることから、安全性が高い、新たな治療薬が望まれている。

著者が所属していた長崎国際大学薬品資源学研究室では、2010 年より NTDs への治療応用を目指してガーナ産薬用植物から医薬品シーズを探索する研究プロジェクトを行っていた。本プロジェクトは、ガーナの野口記念医学研究所および Centre for Plant Medicine Research をカウンターパートとし、東京医科歯科大学を中心に申請された科学技術振興機構（JST）と国際協力機構（JICA）の共同プロジェクトである「地球規模課題対応国際科学技術協力プログラム

Science and Technology Research Partnership for Sustainable Development（SATREPS）」により開始された（2010 ～ 2014 年度）。その後、2015 年 4 月より日本医療研究開発機構（AMED）の「感染症研究国際展開戦略プログラム（J-GRID）」に採択された（2015 ～ 2019 年度）。本プロジェクトにおいて得られた知見について紹介する。

2. ガーナ産薬用植物のスクリーニング

ガーナでは西洋医学の医療費が高額であるため、多くの人々がマラリアなどの重篤な感染症や糖尿病、高血圧といった生活習慣病、さらには喘息などのアレルギー疾患に対して薬用植物を利用している。特に、ガーナには伝統的な知見に基づき生薬を処方するハーバリストが存在する。彼らの知見および植物の伝統薬効、文献に基づいて、5,000 種類を超えるガーナ産薬用植物の中から 72 種類の候補植物を選定した。これらの植物について、各部位ごとに 50% エタノール水溶液にて抽出を行い、112 種類の抽出エキスから成るライブラリーを構築した。さらに、このライブラリーについてスクリーニングを実施した結果、*Morinda lucida* Bentham 葉部の抽出エキスが、最も強力な抗トリパノソーマ活性を有することを見出した⁵⁾。

アカネ科植物 *M. lucida*（図 2）は、西・中央アフリカの熱帯地域に分布する常緑樹である。

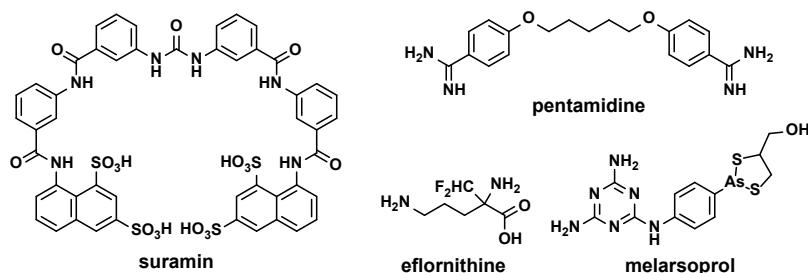


図 1 アフリカ睡眠病の治療薬



図2 *Morinda lucida*

写真は、ガーナにて撮影した *M. lucida* である。本植物は、中央アフリカおよび西アフリカの熱帯地方に自生する中型の常緑樹であり、光沢のある葉を特徴としている。

本植物は、日本では知られていないが、ガーナでは庭先などでも見られる一般的な植物である。ガーナやナイジェリアをはじめとするアフリカ諸国において、本植物のさまざまな部位は伝統医学において幅広い用途があり、マラリア、発熱、高血圧、糖尿病などに伝統的に用いられている⁶⁾。また、葉部は、黄疸、鎌状赤血球症、関節リウマチの治療に加え、解熱鎮痛薬としても使用される⁶⁾。

M. lucida 葉部の含有成分として、oruwacin などのイリドイド類⁷⁾、ursolic acid や oleanolic acid などのトリテルペン類が報告されていた⁸⁾。しかし、*M. lucida* 葉部の成分探索は不十分であり、さらなる研究が必要であった。

そこで、著者らは、抗トリパノソーマ活性を有するガーナ産薬用植物由来化合物の探索を目的に、*M. lucida* 葉部からの含有成分の探索を行った。

3. *M. lucida* 葉部の成分探索および単離化合物の活性評価

M. lucida 葉部について、50% エタノール水溶

液で抽出を行い、得られたエキスをヘキサン、クロロホルム、酢酸エチル、水にて順次溶媒分配を行った。活性の集約が認められたクロロホルム画分について、各種クロマトグラフィーを用いて繰り返し分離・精製を行ったところ、3 種の新規テトラサイクリックイリドイド類である ML-2-3 (1)、ML-2-2 (2) および ML-F52 (3) を単離・構造決定するとともに、既知化合物として、アントラキノン類である oruwalol (4)、トリテルペン類である ursolic acid (5) および oleanolic acid (6) を単離・同定した (図3)⁹⁾。新規化合物であるテトラサイクリックイリドイド類は、フェルラ酸構造およびセコロガニン由来のイリドイド構造を併せ持つ、非常に稀少な構造を有していた。

化合物 2 は、*M. lucida* から単離された oruwacin と、核磁気共鳴 (NMR) および質量分析 (MS) を含む各種スペクトルデータが一致していた。一方で、旋光度が異なっていたことから、2 は oruwacin のエナンチオマーである可能性が示唆された (図4A)⁷⁾。しかしながら、同一植物から両エナンチオマーが単離される報告はほとんどないため、*M. lucida* 含有成分が 2 であることを確実にするために、X 線結晶構造解析による 2 の絶対立体配置の決定を行った。メタノール溶液により結晶化を試み、無色針状単結晶を得た。Cu 線源による単結晶 X 線構造解析の結果、2 の絶対立体配置は 1R, 5S, 8S, 9S, 10S であることが明らかとなった (図4B)。さらに、2 はセコロガニンの脱グリコシル化に続く再環化により生合成され、2 の 1, 5 および 9 位の立体配置は、イリドイド構造の立体配置と同様に生合成の過程で安定的に維持されることが推測された¹⁰⁾。

単離化合物の抗トリパノソーマ活性を評価した結果、3 は、ポジティブコントロールとして用いた suramin を上回る活性を示した。化合物 2 は suramin とほぼ同等の活性を示し、1 は

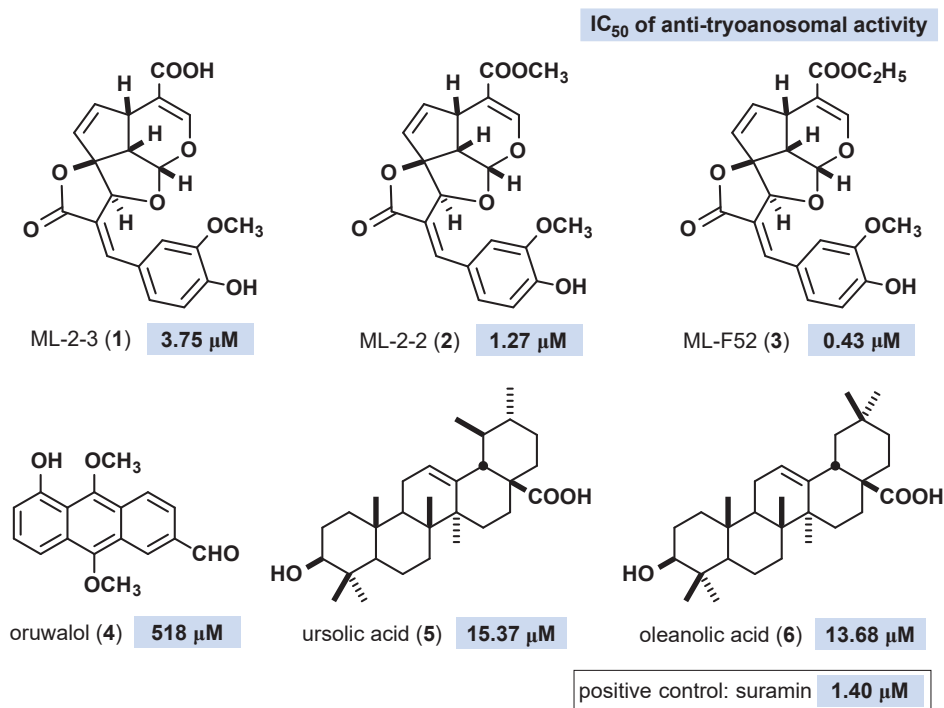


図3 *Morinda lucida* から単離した化合物の化学構造および抗トリパノソーマ活性

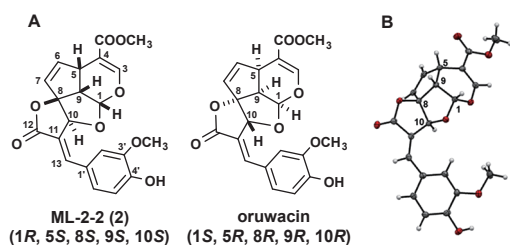


図4 (A) ML-2-2 (2) および oruwacin の化学構造, (B) ML-2-2 (2) の ORTEP 図 (C 原子: 灰色, O 原子: 赤色, H 原子: 白色)

suramin に比べてやや弱い活性が認められた。一方で、既知化合物はいずれも抗トリパノソーマ活性が認められなかった (図3)¹¹⁾。さらに、複数の正常ヒト繊維芽細胞株を用いて 1-3 の細胞毒性を評価した結果、2 および 3 の細胞毒性 (IC₅₀) は、すべての細胞株で 4.74 μ M から 14.24 μ M の範囲にあり、強い毒性が確認された。一方、1 の IC₅₀ は、すべての細胞株で 50 μ M 以

上であり、比較的低い毒性を示した。また、1-3 のトリパノソーマ原虫に対する選択性 (SI) についても評価した。本実験での SI 値は、正常細胞の細胞毒性 (IC₅₀) を抗トリパノソーマ活性 (IC₅₀) で除した値として算出した。その結果、1 および 3 の SI 値は、すべての正常細胞株において 10 を超えており、これらの化合物はトリパノソーマ原虫に対して高い選択性を有することが示唆された (表1)¹¹⁾。

これらの結果から、新規化合物であるテトラサイクリックイリド類は、*M. lucida* 葉部抽出エキス中の抗トリパノソーマ活性の活性本体である可能性が示唆された。特に、1 および 3 は、正常ヒト繊維芽細胞株よりもトリパノソーマ原虫に対して高い選択性を示すことから、2 と比べてリード化合物としてより理想的であることが示唆された。

表 1 テトラサイクリックイリドイド類のヒト繊維芽細胞株に対する 48 時間後の細胞毒性 (IC₅₀) およびトリパノソーマ原虫に対する選択性 (SI)

Cell	Cell line	ML-2-3 (1)		ML-2-2 (2)		ML-F52 (3)	
		IC ₅₀ (μM)	SI	IC ₅₀ (μM)	SI	IC ₅₀ (μM)	SI
Normal skin fibroblast	NB1RGB	> 50	> 13.33	7.11	5.60	4.74	11.02
Normal lung fibroblast	HF-19	> 50	> 13.33	14.24	11.21	10.94	25.44
Normal lung	Hs888Lu	> 50	> 13.33	9.29	7.31	8.89	20.67
Normal liver	Chang liver	> 50	> 13.33	9.34	7.35	18.13	42.16

SI (Selectivity index) 値は、各化合物のトリパノソーマ原虫に対する IC₅₀ 値と、正常ヒト繊維芽細胞株に対する IC₅₀ 値との比率から算出した。SI 値が高いほど、化合物がトリパノソーマ原虫に対して選択的に作用し、正常細胞への毒性が低いことを示す指標となる。

4. ML-2-3 (1) から ML-F52 (3) への変換法

一方で、*M. lucida* 葉部 1.1 kg から得られる **1**, **2** および **3** の収量は、それぞれ 50 mg, 35 mg, 6 mg と少量であり、特に抗トリパノソーマ活性が最も高い **3** の収量は極めて低い (図 5A)。このことから、新規抗寄生虫治療薬としての実用化に向け、テトラサイクリックイリドイド類の量的確保を目的とした合成法の開発が必要となった。

まず、**3** の量的確保および大量かつ簡便な精製法の開発を目指し、高収量な **1** を原料とした **3** への変換法を確立した。化合物 **1**, **2** および **3** は、14 位のカルボキシ基、メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基の違いに由来する。酸性条件下で **1** のカルボキシ基を活性化させた後、エタノールと反応させることで、高収率かつ高純度で **3** を得ることに成功した。また、活性化したカルボキシ基はアルコールやアミドなどと容易に反応するため、テトラサイクリックイリドイド骨格を有する類縁化合物の合成が比較的容易であることも示唆された。本手法の確立により、*in vivo* 試験や構造活性相関解析への展開に向け、大きく前進した。

5. テトラサイクリックイリドイド類の単離・精製法の改良

続いて、*M. lucida* に含まれるテトラサイクリックイリドイド類をより効率的かつ簡便に単離・精製する手法を確立した。具体的には、*M. lucida* 葉部の抽出溶媒、**1** の酸塩基抽出、およびカラムクロマトグラフィーの条件について詳細な検討を行った。まず、メタノールやエタノール等の種々抽出溶媒を用いてテトラサイクリックイリドイド類の含量を比較した結果、80% エタノール水溶液がテトラサイクリックイリドイド類を最も効率よく溶出することを確認した。また、**1** はカルボキシ基を有しているため、酸塩基分配による精製が可能であり、**2** および **3** を **1** に変換することで、精製過程を大幅に簡略化した。さらに、カラムクロマトグラフィーのプロセスを逆相 ODS カラムクロマトグラフィーのみに限定し、その後再結晶を行った。これらの改良により、テトラサイクリックイリドイド類の単離収率は 0.0083% から 0.23% に大幅に向上し、単離に要する時間の短縮にも成功した (図 5B)¹²⁾。さらに、本手法はガーナの研究現場においても容易に実施可能であるように設計されており、現地に赴いてガーナの研究者に本技術を伝授した。

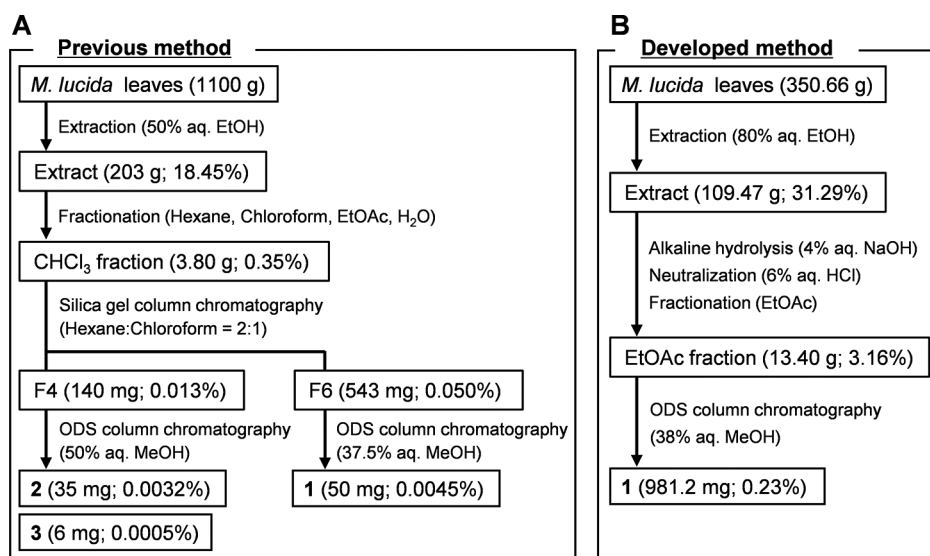


図5 (A) テトラサイクリックイリドイド類の従来の精製法, (B) 改良された精製法

6. テトラサイクリックイリドイド類を大量に得るための採取時期および採取部位の検討

テトラサイクリックイリドイド類を大量に得るために, *M. lucida* の採取時期および採取部位について詳細な解析を行った。まず, テトラサイクリックイリドイド類の HPLC による定量分析法の開発を目指し, カラムや溶媒等の分離条件を多角的に検討した結果, テトラサイクリック類 3 成分を完全に分離可能な HPLC 条件を見出した (図 6)。本分析法においては, 直線性, 再現性および回収率がいずれも良好であり, 定量性が十分に確保されていることを確認した。

次に, 本定量法を用いて, *M. lucida* におけるテトラサイクリックイリドイド類の含量を, 「部位別 (葉, 根, 樹皮)」, 「採取時期別 (2017 年 3 月～2018 年 2 月)」, 「個体別 (全 20 種)」, および「葉の採取位置別 (全 20 種)」の条件で調査した。その結果, テトラサイクリックイリドイド類は葉に特異的に存在する成分であり,

採取時期, 個体, 採取位置によって含量に大きな変動が見られることが明らかになった (図 7)。これらの結果から, テトラサイクリックイリドイド類を効率的に単離するためには適切な採取時期や個体選定が重要であることが示唆され, さらなる化合物供給の安定化に向けた基礎的データが得られた¹²⁾。

7. テトラサイクリックイリドイド類の動物実験による評価および他の寄生虫病への応用

テトラサイクリックイリドイド類の抗トリパノソーマ活性を確認するため, マウスを用いた感染実験を実施した。化合物 1-3 をそれぞれ 30 mg/kg の用量で 5 日間腹腔内投与し, その後の血中原虫濃度およびマウス生存率を観察した。その結果, 3 の投与によりトリパノソーマ原虫が完全に死滅し, 100% の治癒効果が認められた (図 8)。さらに, 1 および 3 はトリパノソーマ原虫の鞭毛タンパク質 PFR-2 の発現を抑制し (図 9B), 電子顕微鏡による微細形態観察

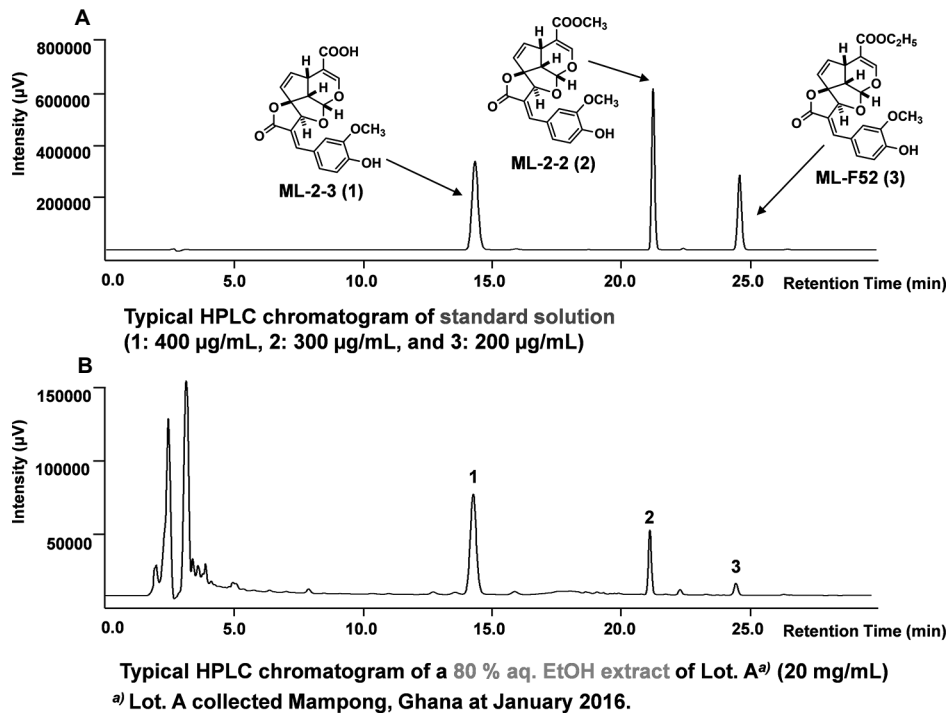


図 6 (A) テトラサイクリックイリド類の標準溶液, (B) *M. lucida* 葉部抽出溶液のクロマトグラム

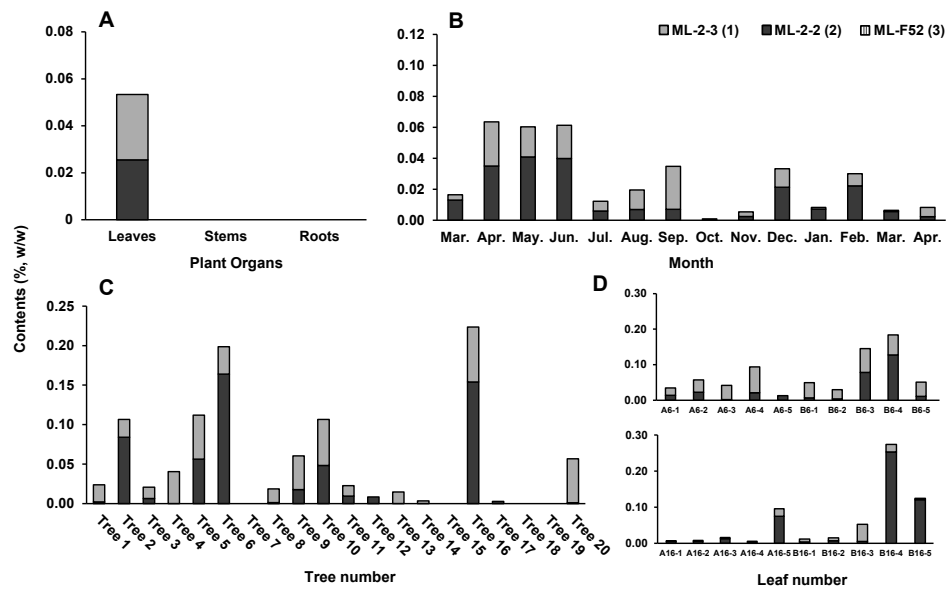


図 7 *M. lucida* の (A) 部位別, (B) 採取時期別, (C) 個体別, および (D) 葉の採取位置別におけるテトラサイクリックイリド類の分析結果

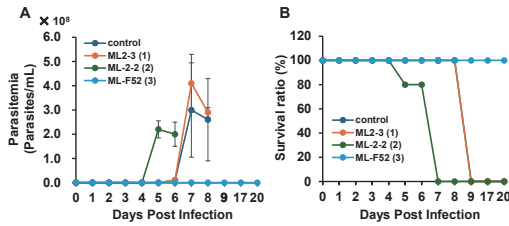


図8 テトラサイクリクイリドイド類のマウスにおける有効性評価 (A) トリパノソーマ感染マウスの血中トリパノソーマ原虫濃度, (B) トリパノソーマ感染マウスの生存率

テトラサイクリクイリドイド類を 30 mg/kg ずつ BALB/c マウスに 5 日間腹腔内投与した。(A) ML-F52 (3) 投与群は 20 日間, 血中に原虫が認められなかった。

(B) ML-F52 (3) 投与群は感染後 20 日間で 100% 治癒を示したが, ML-2-3 (1) 投与群は感染後 9 日目に, ML-2-2 (2) 投与群は感染後 7 日目に死亡した。

により, 鞭毛が体幹から解離し短小化する現象や, 一部の原虫が増殖を停止し Short stumpy 型への変化を示す等, 特徴的な形態変化が確認さ

れた(図 9A)。また, 1 および 3 は, トリパノソーマ原虫のアポトーシスを誘導することも確認されており, これらの抗寄生虫活性の機序にはアポトーシスが関与している可能性が示唆された(図 9C)¹¹⁾。

さらに, テトラサイクリクイリドイド類について, 抗マラリア活性および抗リーシュマニア活性を評価したところ, 3 ($IC_{50} = 1.22 \mu M$) には強力な抗リーシュマニア活性が, 1 ($IC_{50} = 1.22 \mu M$) および 2 ($IC_{50} = 0.14 \mu M$) には強力な抗マラリア活性が認められた^{5, 13, 14)}。これらの結果は, テトラサイクリクイリドイド類が他の寄生虫に対しても有望な治療薬候補となり得ることを強く示唆している。今後は, これらの化合物の作用機序をさらに解明し, 臨床応用に向けた研究を継続する必要がある。

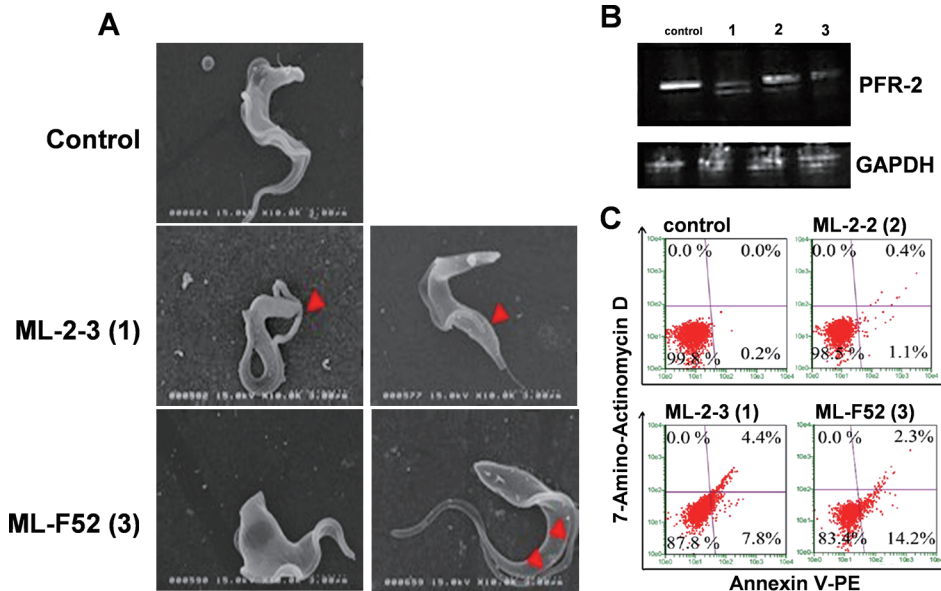


図9 テトラサイクリクイリドイド類のトリパノソーマ原虫の形態および鞭毛形成に及ぼす影響 (A) トリパノソーマ原虫の形態変化, (B) PFR-2 タンパク質の発現, (C) トリパノソーマ原虫に対するアポトーシス誘導作用 (A) ML-2-3 (1) および ML-F52 (3) の投与により, トリパノソーマ原虫の鞭毛が解離し短小化する現象が確認された。

(B) ML-2-3 (1) および ML-F52 (3) は, 細胞周期に関与する鞭毛タンパク質 PFR-2 の発現を抑制することが確認された。

(C) ML-2-3 (1, 6.25 μM) および ML-F52 (3, 0.78 μM) はアポトーシスを誘導したが, ML-2-2 (2) は有意なアポトーシス誘導を示さなかった。

8. おわりに

本稿では、ガーナ産薬用植物 *M. lucida* に含有するテトラサイクリックイリドイド類の抗トリパノソーマ活性を中心に論じた。これらの化合物を治療薬として応用するためには、さらなる研究が不可欠ではあるものの、これらが示す寄生虫活性は、多様な寄生虫感染症に対する治療薬開発における大きな可能性を示している。加えて、これらの化合物は、精子活性化を通じてマウス受精能を高める作用や¹⁵⁾、鎮痛および抗炎症作用なども報告されており¹⁶⁾、医薬品として多面的な応用が期待される。しかしながら、依然として未解明な点も多く、これらの作用機序やその他の薬理学的特性について、さらなる研究が必要である。

今後は、テトラサイクリックイリドイド類の機能解明を一層進めるとともに、新たな治療薬シーズとしての可能性をさらに追求していく予定である。また、本研究を通じて、国際共同研究の重要性を改めて認識した。今後も引き続き、国際的な連携のもとで科学的進展を促進し、グローバルな健康問題の解決に貢献していくことを目指す。

【謝辞】

本研究に関して御指導を賜りました、長崎国際大学 薬品資源学研究室 正山征洋特任教授、宇都拓人教授、研究に協力いただいた学生、大学院生の皆様に御礼申し上げます。

【倫理的な配慮および利益相反】

開示すべき利益相反はありません。

【引用文献】

- 1) Jürg Utzinger, Sören L Becker, Stefanie Knopp, Johannes Blum, Andreas L Neumayr, Jennifer Keiser, Christoph F Hatz. Neglected tropical diseases: diagnosis, clinical management, treatment and control.

PLoS Negl. Trop. Dis. **2012**, 6(11), e1914.

- 2) Leonardo L G Ferreira, Adriano D Andricopulo. Drugs and vaccines in the 21st century for neglected diseases. *Lancet Infect Dis.* **2019**, 19(2), 125–127.
- 3) Peter J Hotez. NTDs V.2.0: “blue marble health”-neglected tropical disease control and elimination in a shifting health policy landscape. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2013**, 7(11), e2570.
- 4) Peter Ge Kennedy. Clinical features, diagnosis, and treatment of human African trypanosomiasis (sleeping sickness). *Lancet Neurol.* **2013**, 12(2), 186–194.
- 5) Mitsuko Ohashi, Michael Amoa-Bosompem, Kofi Dadzie Kwofie, Jefferey Agyapong, Richard Adegle, Maxwell Mamfe Sakyamah, Frederick Ayertey, Kofi Baffuor-Awuah Owusu, Isaac Tuffour, Philip Atchoglo, Nguyen Huu Tung, Takuhiro Uto, Frederick Aboagye, Alfred Ampomah Appiah, Regina Appiah-Opong, Alexander K Nyarko, William Kofi Anyan, Irene Ayi, Daniel Adjei Boakyee, Kwadwo Ansah Koram, Dominic Edoh, Shoji Yamaoka, Yukihiro Shoyama, Nobuo Ohta. In vitro antiprotozoan activity and mechanisms of action of selected Ghanaian medicinal plants against *Trypanosoma*, *Leishmania*, and *Plasmodium* parasites. *Phytother. Res.* **2018**, 32(8), 1617–1630.
- 6) K E Adewole, A F Attah, J O Adebayo. *Morinda lucida* Benth (Rubiaceae): A review of its ethnomedicine, phytochemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol.* **2021**, 276, 114055.
- 7) E. Kayode Adesogan. Oruwacin, a new iridoid ferulate from *Morinda lucida*, *Phytochemistry* **1979**, 18(1), 175–176.
- 8) Richard K. Cimanga, Gaston L. Tona, Gauthier K. Mesia, Oscar K. Kambu, Donatien P. Bakana, Pascal D.T. Kalenda, Auguste O. Penge, Jean-Jacques T. Muyembe, Jozef Totté, Luc Pieters, and Arnold J. Vlietinck. Bioassay-guided isolation of antimalarial triterpenoid acids from the leaves of *Morinda lucida*. *Pharm. Biol.* **2006**, 44(9), 677–681.
- 9) Mitsuko Suzuki, Nguyen Huu Tung, Kofi D Kwofie, Richard Adegle, Michael Amoa-Bosompem, Maxwell Sakyamah, Frederick Ayertey, Kofi Baffuor-Awuah Owusu, Isaac Tuffour, Philip Atchoglo, Kwadwo Kyereme Frempong, William K Anyan, Takuhiro Uto, Osamu Morinaga, Taizo Yamashita, Frederic Aboagye, Alfred Ampomah Appiah, Regina Appiah-Opong, Alexander K Nyarko, Shoji Yamaoka, Yasuchika Yamaguchi, Dominic Edoh, Kwadwo Koram, Nobuo

- Ohta, Daniel A Boakye, Irene Ayi, Yukihiro Shoyama. New anti-trypanosomal active tetracyclic iridoid isolated from *Morinda lucida* Benth. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, 25(15), 3030–3033.
- 10) Satoru Karasawa, Kenji Yoza, Nguyen Huu Tung, Takuhiro Uto, Osamu Morinaga, Mitsuko Suzuki, Kofi D. Kwofie, Michael Amoa-Bosompem, Daniel A. Boakye, Irene Ayi, Richard Adegle, Maxwell Sakyiamah, Frederick Ayertey, Frederic Aboagye, Alfred A. Appiah, Kofi B.-A. Owusu, Isaac Tuffour, Philip Atchoglo, Kwadwo K. Frempong, William K. Anyan, Regina Appiah-Opong, Alexander K. Nyarko, Taizo Yamashita, Yasuchika Yamaguchi, Dominic Edoh, Kwadwo Koram, Shoji Yamaoka, Nobuo Ohta, Yukihiro Shoyama. Determination of the absolute configuration of the novel anti-trypanosomal iridoid molucidin isolated from *Morinda lucida* by X-ray analysis. *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56(52), 7158–7160.
 - 11) Kofi D Kwofie, Nguyen Huu Tung, Mitsuko Suzuki-Ohashi, Michael Amoa-Bosompem, Richard Adegle, Maxwell M Sakyiamah, Frederick Ayertey, Kofi Baffour-Awuah Owusu, Isaac Tuffour, Philip Atchoglo, Kwadwo K Frempong, William K Anyan, Takuhiro Uto, Osamu Morinaga, Taizo Yamashita, Frederic Aboagye, Alfred A Appiah, Regina Appiah-Opong, Alexander K Nyarko, Yasuchika Yamaguchi, Dominic Edoh, Kwadwo A Koram, Shoji Yamaoka, Daniel A Boakye, Nobuo Ohta, Yukihiro Shoyama, Irene Ayi. Antitrypanosomal Activities and Mechanisms of Action of Novel Tetracyclic Iridoids from *Morinda lucida* Benth. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2016**, 60(6), 3283–3290.
 - 12) Tomoe Ohta, Tanatorn Tilkanont, Frederick Ayertey, Mina Nakagawa, Nguyen Huu Tung, Peter Bolah, Heron Blagoojee Jnr, Alfred Ampomah Appiah, Augustine Ocloo, Mitsuko Ohashi, Kensuke Tanoue, Yasuchika Yamaguchi, Nobuo Ohta, Shoji Yamaoka, Shiro Iwanaga, Takuhiro Uto, Yukihiro Shoyama. Establishment of a quantitative and qualitative analysis and isolation method for tetracyclic iridoids from *Morinda lucida* Benth leaves. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2019**, 164, 475–480.
 - 13) Michael Amoa-Bosompem, Mitsuko Ohashi, Mba-Tihssommah Mosore, Jeffrey Agyapong, Nguyen Huu Tung, Kofi D Kwofie, Frederick Ayertey, Kofi Baffuor-Awuah Owusu, Isaac Tuffour, Philip Atchoglo, Georgina I Djameh, Faustus A Azerigyik, Senyo K Botchie, William K Anyan, Regina Appiah-Opong, Takuhiro Uto, Osamu Morinaga, Alfred A Appiah, Irene Ayi, Yukihiro Shoyama, Daniel A Boakye, Nobuo Ohta. In vitro anti-Leishmania activity of tetracyclic iridoids from *Morinda lucida*, benth. *Trop. Med. Health* **2016**, 44, 25.
 - 14) Faustus Akankperiwen Azerigyik, Michael Amoa-Bosompem, Thelma Tetteh, Frederick Ayertey, Ama Nyamekye Antwi, Kofi Baffour-Awuah Owusu, Kofi Kwofie Dadzie, Georgina Isabella Djameh, Mark Tetteh-Tsifoanya, Shiro Iwanaga, Alfred Ampomah Appiah, Tomoe Ohta, Takuhiro Uto, Yukihiro Shoyama, Nobuo Ohta, Theresa Manful Gwira, Mitsuko Ohashi. In vitro Mechanistic assays of tetracyclic iridoid compounds isolated from *Morinda lucida* Benth in *Leishmania* species. *European J. Med. Plants* **2018**, 25(4), 1–14.
 - 15) Tomoe Ohta, Takuhiro Uto, Yukihiro Shoyama, Maxwell Mamfe Sakyiamah, Alfred Ampomah Appiah, Hiromitsu Tanaka. In vitro fertilization using sperm activated by ML-2-3 isolated from *Morinda lucida* Benth leaves. *Reprod. Med. Biol.* **2022**, 21(1), e12455.
 - 16) Emmanuel Kofi Kumatia, Frederick Ayertey, Tomoe Ohta, Takuhiro Uto, Nguyen Huu Tung. Iridoids from *Morinda lucida*, (Benth.) Rubiaceae, produced analgesic and anti-inflammatory activities via agonism at the kappa and delta opioid receptors, inhibition of COX-2 besides elevation of CAT and SOD activities. *J. Ethnopharmacol.* **2023**, 309, 116355.