

Sample No.	ACE inh(%)		
	0.1 μ g/ml	1.0 μ g/ml	10 μ g/ml
Compd.1	18.48 \pm 6.39	18.71 \pm 2.61	6.07 \pm 1.28
Compd.2	4.65 \pm 4.52	3.15 \pm 2.50	18.12 \pm 0.0
Compd.3	3.13 \pm 2.07	33.06 \pm 1.0	31.41 \pm 3.27

表 1. 単離化合物のACE阻害活性結果

Sample No.	ACE inh(%) (800 μ g/ml)
<i>Polygonum aviculare</i> (Polygonaceae)	58.0 (n=2)
<i>Diospyros discolor</i> (Ebenaceae) (Leaves)	34.6 (n=2)
<i>Diospyros Montana</i> (Ebenaceae) (Leaves)	23.9 (n=2)

表 2. 植物エキスのACE阻害活性結果

Sample No. \ 濃度(ug/mL)	1	3	10	30	100
No.14	×	Δ	○	○	○
No.16	×	×	×	×	○
No.23	×	×	○	○	○
No.26	×	×	○	○	○
No.33	×	×	×	×	×
No.58	×	×	×	Δ	○
No.100	×	×	×	×	×
No.102	×	×	(Δ)	○	○

表 3. 植物抽出物の活性酸素消去効果 (赤血球法)

○…効果あり, Δ …効果小, ×…効果なし. 太字は最小有効濃度

No. 33 と No. 100 以外には抗酸化作用が認められた。No. 14, 23, 26 については低濃度でも抗酸化作用が認められた。なお, (+)-catechin は 3 mM (0.9mg/mL) で Δ , 10 mM (3mg/mL) で○に相当する。

No. 14: *Vitex trifolia*

No. 16: *Triticum repens*

No. 23: *Vitex cannbifolia* Siebold et Zucc.

No. 26: *Terminalia chebula* major

No. 33: *Urtica dioica* L.

No. 58: *Rauvolfia vomitoria* Afzel.

No.100: *Lepidium iberis* Linn.

No.102: *Micromeria eugenioides*

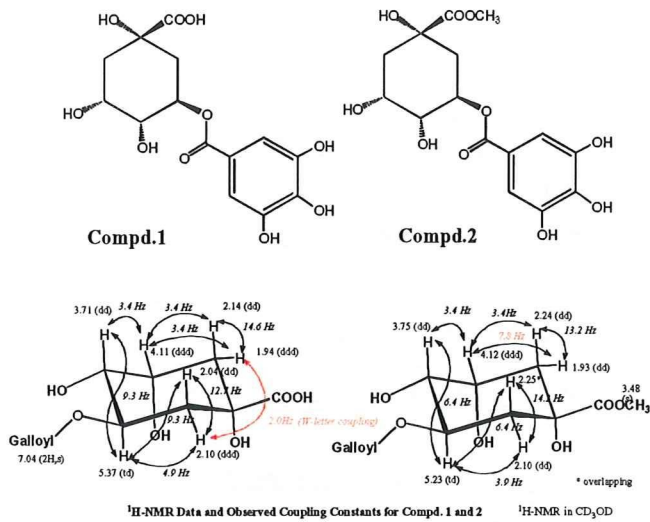


図3 Jamillo de durazno から新たに得られた化合物

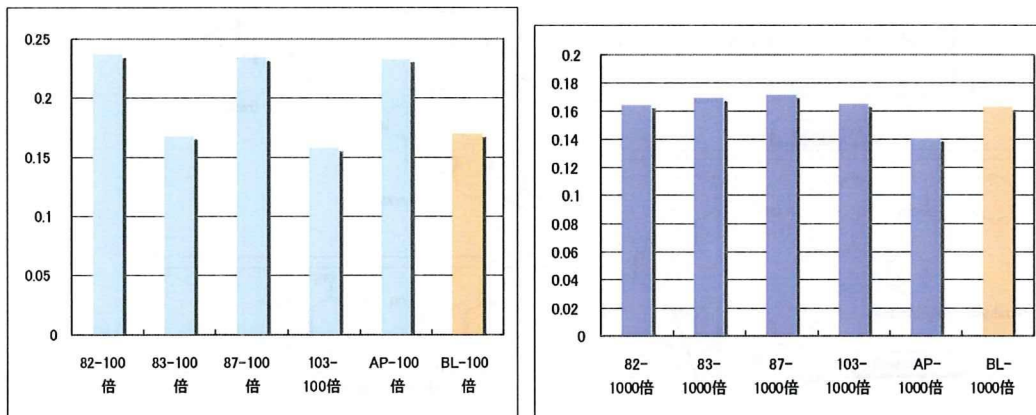


図4 OilredO による染色結果

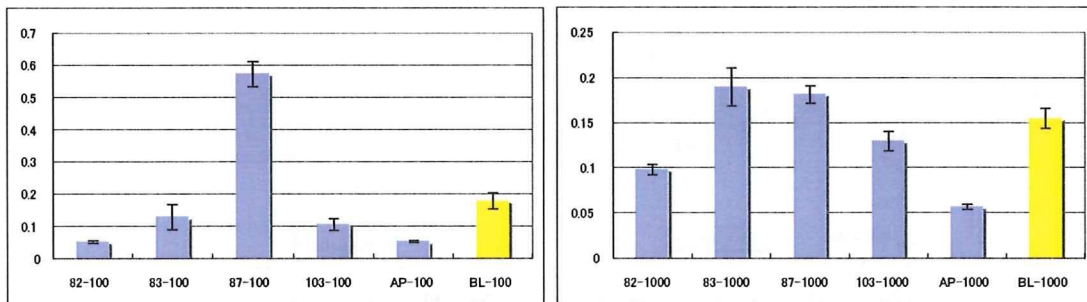


図5 脂肪細胞培養細胞上清における adiponectin 定量結果

- No.82 Calahuala (*Polypodium* sp.) rhizome, Peru
 No.83 フウチョウソウ科植物 Argentine
 No.87 フウチョウソウ科植物 flower, Myanmar
 No.103 Birarganda (*Pueraria tuberosa*) whole plant, Nepal
 AP *Ajuga pygmaea* (ヒメキランソウ) 種子島の単離化合物
 BL control

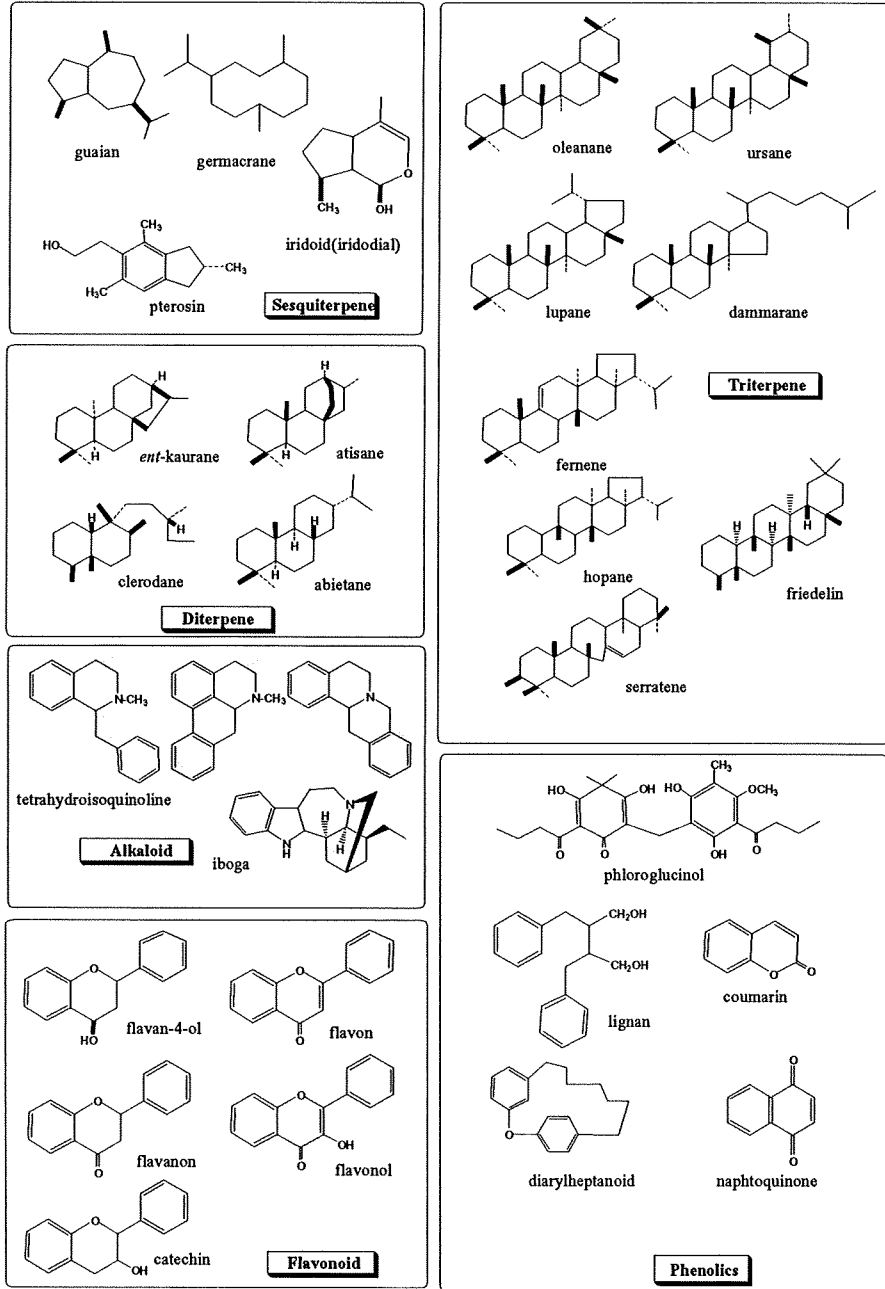


図6 核内受容体 PPAR γ に対するリガンド活性を検討した化合物群

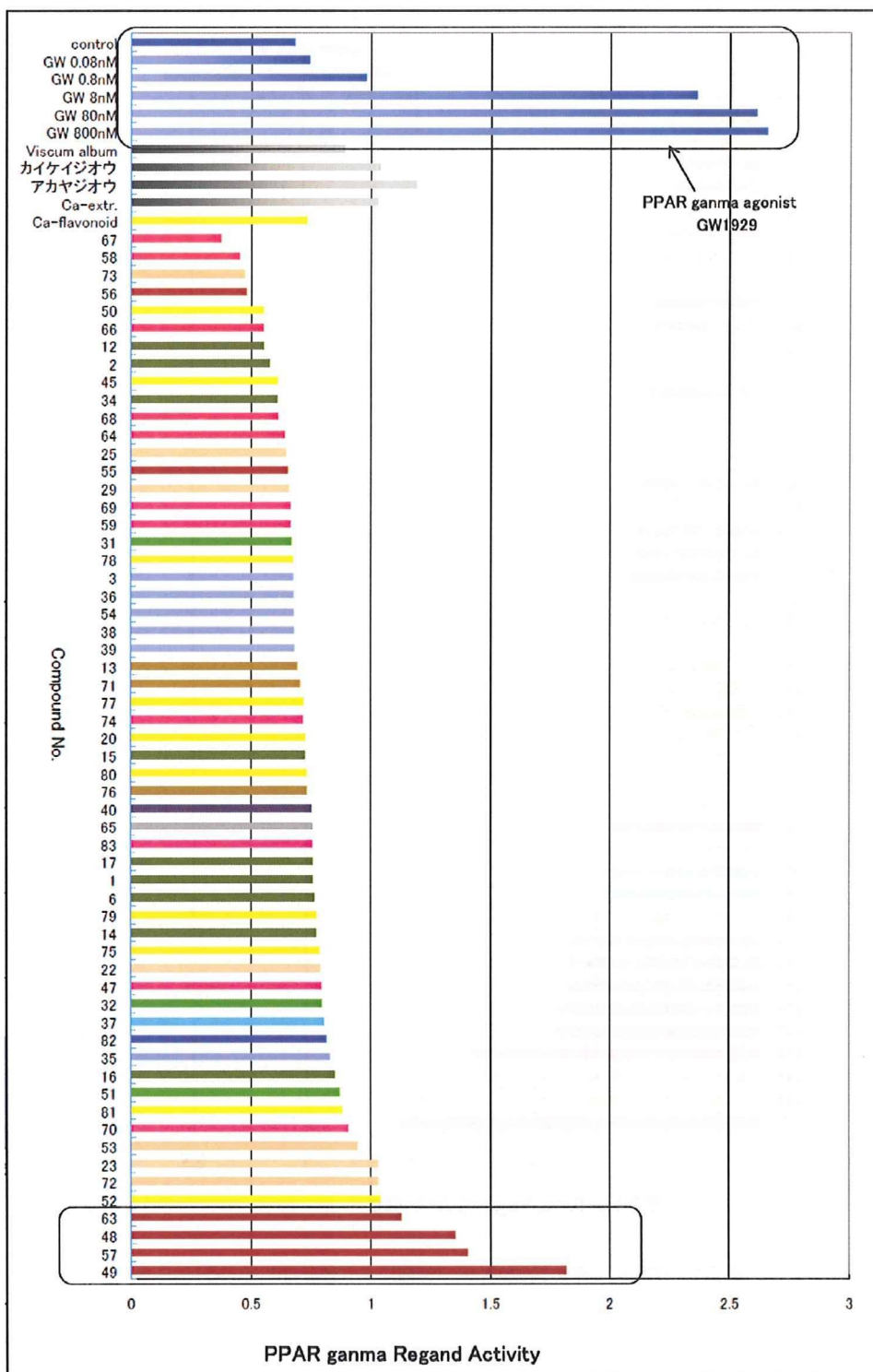


図7-1 PPAR γ リガンド活性結果 (骨格により色分けしてある)

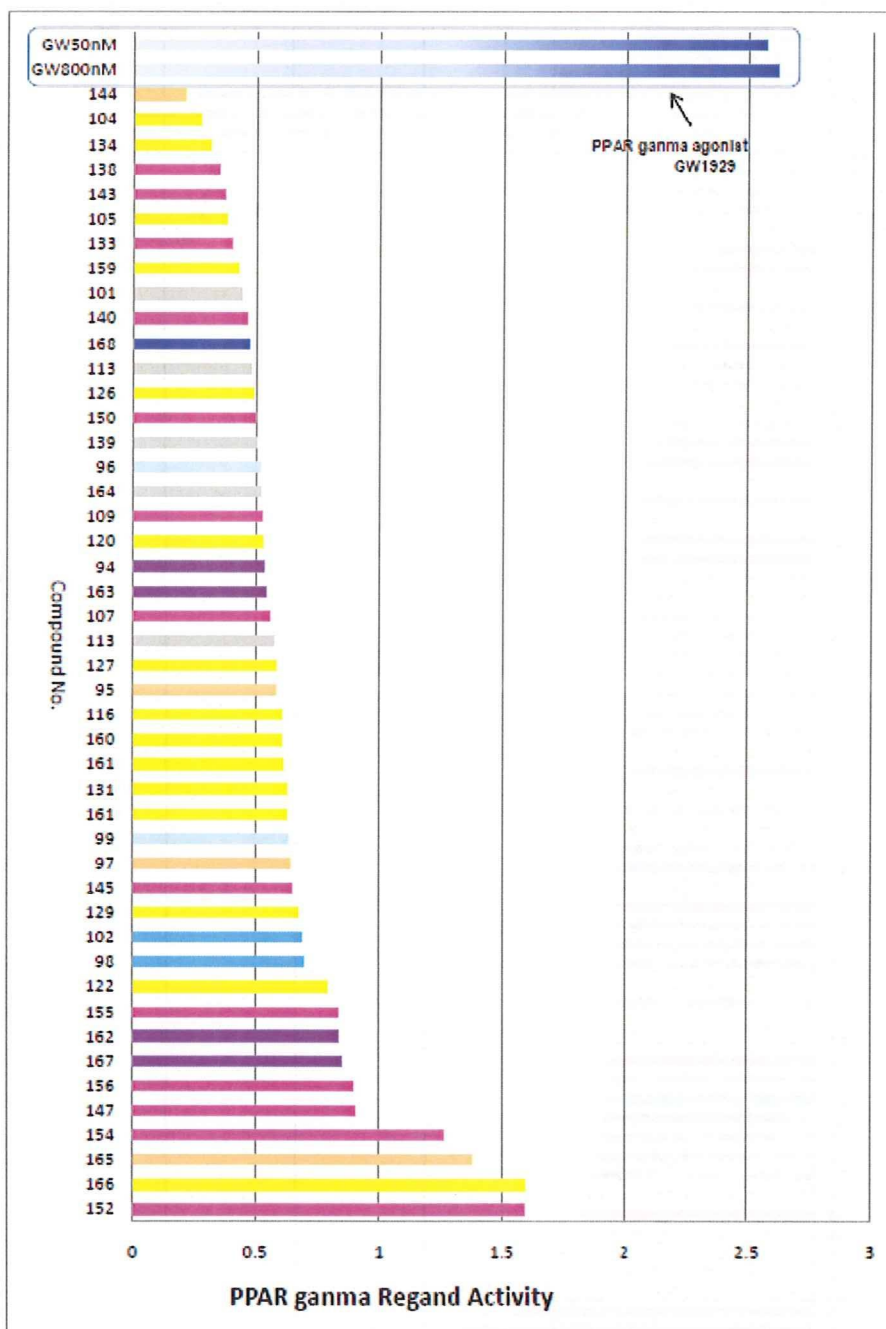


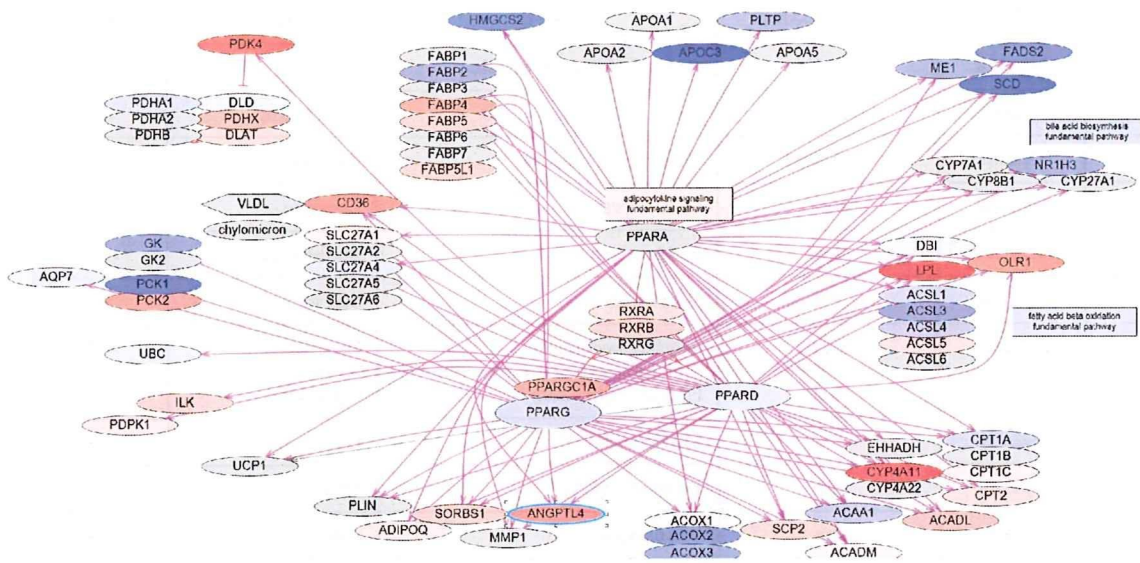
図7-2 PPAR γ リガンド活性結果 (骨格により色分けしてある)

Gene Title	Gene Symbol	Plant extract / Blanc ratio
neuropeptide Y receptor Y5	Npy5r	79.05
ST8 alpha-N-acetylneuraminide alpha-2,8-sialyltransferase 6	St8sia6	62.72

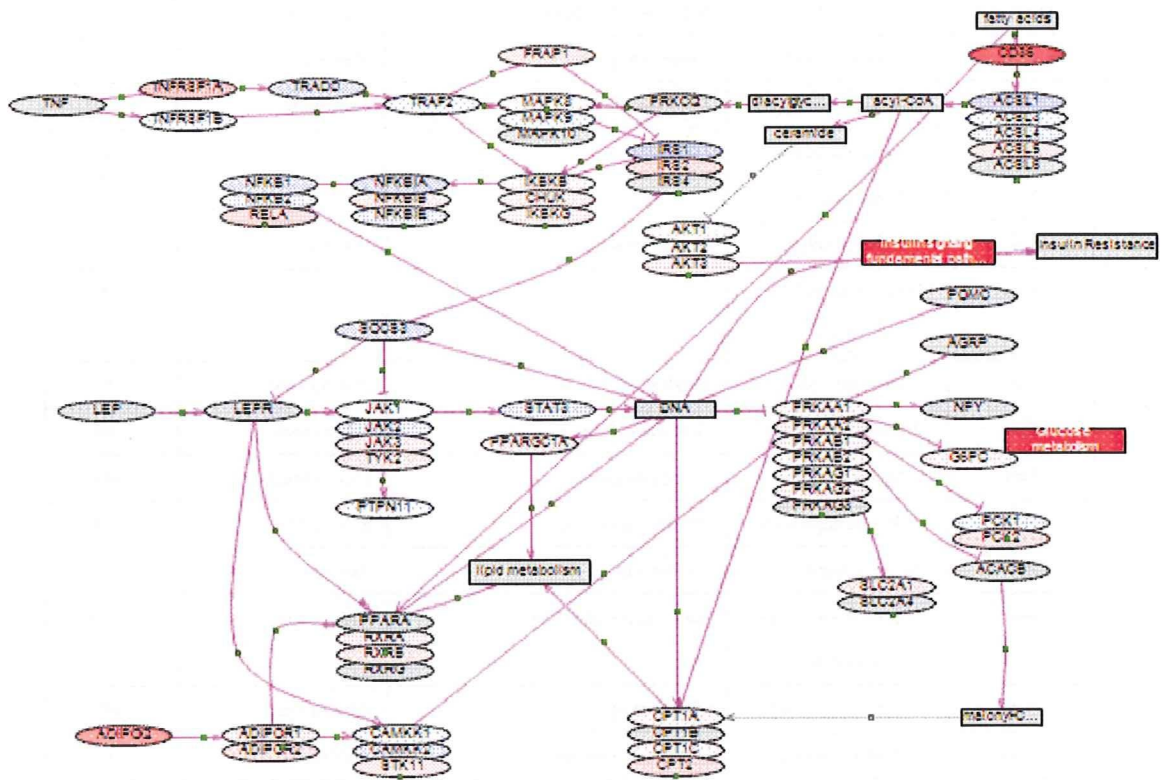
RIKEN cDNA 4930527F18 gene	4930527F18Rk	60.70
maternal embryonic message 1	Mem1	57.63
glutamate receptor, ionotropic, AMPA4 (alpha 4)	Gria4	52.65
expressed sequence BB114814	BB114814	52.38
spondin 1, (f-spondin) extracellular matrix protein	Spon1	46.48
cell division cycle 25 homolog C (S. pombe)	Cdc25c	36.53
Tmsb15b1-Tmsb15b2 readthrough transcript /// thymosin beta 15b2	Tmsb15b1-Tmsb15b2 /// Tmsb15b2	34.71
hypothetical gene LOC72520	LOC72520	32.35
TEA domain family member 1	Tead1	29.67
FCH and double SH3 domains 2	Fchsd2	27.64
DNA segment, Chr 2, ERATO Doi 750, expressed	D2Erttd750e	25.15
6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase	Pts	24.62
RIKEN cDNA 4833427G06 gene	4833427G06Rk	24.04
predicted gene 9514 /// sorting nexin 4	Gm9514 /// Snx4	23.46
kinesin family member 23	Kif23	23.44
von Willebrand factor A domain containing 5B2	Vwa5b2	23.16
RIKEN cDNA 4930519L02 gene	4930519L02Rk	22.69
esterase 31 /// predicted gene 4738	Es31 /// Gm4738	22.56
CDC42 GTPase-activating protein	Cdgap	22.29
NLR family, pyrin domain containing 4C	Nlrp4c	21.65
G protein-coupled receptor 165	Gpr165	21.37
shugoshin-like 1 (S. pombe)	Sgol1	21.36
adrenergic receptor, alpha 2a	Adra2a	19.23
RB1-inducible coiled-coil 1	Rb1cc1	18.97
insulin-like 5	Ins5	18.41
DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 43	Ddx43	18.37
RIKEN cDNA B830008J18 gene	B830008J18Rk	18.30
contactin associated protein-like 4	Cntnap4	17.71
synaptic nuclear envelope 2	Syne2	17.55
budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog, beta (S. cerevisiae)	Bub1b	17.45
interferon-inducible GTPase-like	LOC435565	17.17
RIKEN cDNA A930036A04 gene	A930036A04Rk	16.87
Golgi integral membrane protein 4	Golim4	16.65
potassium voltage-gated channel, subfamily G, member 4	Kcng4	16.53
sperm associated antigen 5	Spag5	16.26
RIKEN cDNA 4930483J18 gene	4930483J18Rk	16.19

solute carrier family 20, member 1	Slc20a1	15.96
glycoprotein (transmembrane) nmb	Gprmb	15.48
DNA segment, Chr 13, ERATO Doi 150, expressed	D13Erttd150e	15.03
Yip1 domain family, member 1	Yipf1	14.80
G two S phase expressed protein 1	Gtse1	13.62
ER degradation enhancer, mannosidase alpha-like 2	Edem2	13.52
chemokine (C-X-C motif) ligand 2	Cxcl2	13.09
LOC622757 gene	LOC622757	13.08
hemoglobin alpha, adult chain 1 /// hemoglobin alpha, adult chain 2	Hba-a1 /// Hba-a2	13.07
glucosaminyl (N-acetyl) transferase 3, mucin type	Gcrt3	12.95
Tctex1 domain containing 1	Tctex1d1	12.93
lipoma HMGIC fusion partner-like 3	Lhfp13	12.76
NF-kappaB repressing factor	Nkrf	12.71
DNA segment, Chr 4, ERATO Doi 117, expressed	D4Erttd117e	12.69
transferrin receptor 2	Trfr2	12.69
expressed sequence C80865	C80865	12.63
RIKEN cDNA A430110A21 gene	A430110A21Rk	11.94
EGF-like domain 7	Egfl7	11.57
ubiquitin-conjugating enzyme E2C	Ube2c	11.44
ST8 alpha-N-acetylneuraminide alpha-2,8-sialyltransferase 3	St8sia3	11.34
transmembrane and coiled-coil domains 2	Tmco2	11.33
cadherin 10	Cdh10	11.32
solute carrier family 5 (iodide transporter), member 8	Slc5a8	10.80
paired box gene 8	Pax8	10.45
E2F transcription factor 8	E2f8	10.36
DMRT-like family C1c /// DMRT-like family C1c2	Dmrtc1c /// Dmrtc1c2	10.35
chloride channel calcium activated 3	Clca3	10.22
zinc finger protein 109	Zfp109	10.15

表4. ミャンマー産フウチョウソウ科植物の脂肪細胞において発現の上昇が認められた上位遺伝子



PPAR signaling fundamental pathway



Adipocytokine signaling fundamental pathway

図 8. DNA アレイ遺伝子発現解析による Pathway 解析

No.	国名	現地名または部位	学名	科名	活性(ug/ml)
1	Myanmar	bark	<i>Gnetum latifolium</i> var. <i>funiculare</i>	Gnetaceae	>400
2	Myanmar	leaves	<i>Bistorta yunnanensis</i>	Polygonaceae	>400
3	Myanmar	whole plant	<i>Wahlenbergia marginata</i>	Campanulaceae	>400
4	Myanmar	stem	<i>Cornus capitata</i>	Comaceae	400
5	Myanmar	stem	<i>Buddleja paniculata</i>	Buddlejaceae	>400
6	Myanmar	fruit	<i>Datura metel</i>	Solanaceae	>400
7	Myanmar	fruit	<i>Schreberia swietenoides</i>	Oleaceae	>400
8	Myanmar	fruit	<i>Embelia tjeriamcottam</i>	Myrsinaceae	400
9	Myanmar	fruit	<i>Strychnos nux-vomica</i>	Loganiaceae	>400
10	Myanmar	stem	<i>Tinospora cordifolia</i>	Menispermaceae	>400
11	Myanmar	bark	<i>Leea macrophylla</i>	Vitaceae	>400
12	Myanmar	root	<i>Saussurea deltoidea</i> var. <i>polycephala</i>	Asteraceae	400
13	Myanmar	aerial part	<i>Vernonia volkamerifolia</i>	Asteraceae	>400
14	Myanmar	Leaves, branch	<i>Anneslea fragrans</i>	Theaceae	400
15	UAE	Baboonig (aerial part)	<i>Matricaria recutita</i>	Compositae	>400
16	UAE	Geda (aerial part)			>400
17	UAE	Mairamya (aerial part)			200
18	UAE	Za'ater (aerial part)	<i>Thymus capitatus</i>	Labiatae	400
19	Peru	Shingura panga (Leaves, stem)			400
20	Peru	Granadilla (Leaves, stem)	<i>Passiflora</i> sp.	Passifloraceae	>400
21	Peru	Retama (Leaves, stem)	<i>Cassia bicapsularis</i>	Leguminosae	>400
22	Peru	Ayahuma (Leaves)	<i>Couroupita guianensis</i>	Lecythidaceae	400
23	Peru	Chiric sanango (root)	<i>Brunfelsia grandiflora</i>	Solanaceae	>400
24	Peru	Partiquina negra (Leaves)	<i>Dieffenbachia</i> sp.	Araceae	>400
25	Peru	Ojo de pollo (Leaves, stem, flower)	<i>Alternanthera halimifolia</i>	Amaranthaceae	>400
26	Peru	Guisador (Leaves)	<i>Curcuma longa</i>	Zingiberaceae	400
27	Peru	Mishuisma (Fruit)	<i>Hibiscus abelmoschus</i>	Malvaceae	>400
28	Peru	Guanabana (Leaves, stem)	<i>Annona muricata</i>	Annonaceae	100
29	Peru	Mullaca (whole plant)	<i>Clidemia hirta</i> ?	Melastomataceae	200
30	Peru	Ishanga (whole plant)	<i>Laportea aestuans</i>	Urticaceae	>400
31	Peru	Toe (Leaves)	<i>Brugmansia aurea</i>	Solanaceae	>400
32	Peru	Catagua (bark)	<i>Hura crepitans</i>	Euphorbiaceae	200

33	Peru	Retama(Flower, Leaves, Stem)	<i>Cassia bicapsularis</i>	Leguminosae	>400
34	Peru	Huayusa (Flower, Leaves, Stem)	<i>Ilex guayusa</i>	Aquifoliaceae	400
35	Peru	Cotochupa (Root)	<i>Polypodium decumanum</i>	Polypodiaceae	>400
36	Peru	Lancetilla(Leaves, stem)	<i>Pfiafia glomerata</i>	Amaranthaceae	>400
37	Peru	Matapasto (Leaves, stem)	<i>Hyptis</i> sp.	Labiatae	>400
38	Peru	Mataro (Fruit)	<i>Casia</i> sp.	Leguminosae	>400
39	Peru	Ayahuma(Bark)	<i>Courouprta guianensis</i>	Lecythidaceae	200
40	Solomon	leaves	<i>Medinilla anisophylla</i> Merr. et. Perry	Melastomataceae	400
41	Solomon	leaves	<i>Clerodendrum inerme</i> (L.) Gaertn.	Verbenaceae	>400
42	Solomon	leaves	<i>Mussaenda</i> sp.	Rubiaceae	>400
43	Solomon	leaves	<i>Intsia</i> sp.	Leguminosae	>400
44	Solomon	stem	<i>Macaranga tanarius</i> (L.) M_ll.-Arg.	Euphorbiaceae	>400
45	Solomon	leaves	<i>Acalypha grandis</i> Benth.	Euphorbiaceae	400
46	Solomon	leaves, stem	<i>Elatostemma novae-britanniae</i>	Urticaceae	50
47	Solomon	leaves	<i>Trema</i> sp.	Ulmaceae	>400
48	Solomon	stem, seed(pericarp)	<i>Trema</i> sp.	Ulmaceae	>400
49	Solomon	stem	<i>Piper</i> sp.	Piperaceae	400
50	Solomon	stem	<i>Amoora</i> sp.	Meliaceae	>400
51	Solomon	leaves, stem	<i>Wedelia</i> sp.	Compositae	>400
52	Solomon	root	<i>Wedelia</i> sp.	Compositae	>400
53	Solomon	stem	<i>Maesa</i> sp.	Myrsinaceae	400
54	Solomon	leaves, stem	<i>Alpinia</i> sp.	Zingiberaceae	400
55	Solomon	root	<i>Alpinia</i> sp.	Zingiberaceae	200
56	Solomon	leaves	<i>Rhus taitensis</i> Guilleman	Anacardiaceae	200
57	Solomon	stem	<i>Rhus taitensis</i> Guilleman	Anacardiaceae	200
58	Solomon	leaves, stem	<i>Morinda citrifolia</i> L.	Rubiaceae	>400
59	Solomon	leaves	<i>Mikania cordata</i> (Burm. f.) B.L. Robinson	Compositae	50
60	Solomon	leaves	<i>Macaranga tanarius</i> (L.) M_ll.-Arg.	Euphorbiaceae	200
61	Solomon	stem	<i>Acalypha grandis</i> Benth.	Euphorbiaceae	>400
62	Solomon	leaves	<i>Vigna marina</i> (Burm.) Merr.	Leguminosae	>400
63	Solomon	leaves	<i>Daphniphyllum conglutinatum</i> Hemsl.	Daphniphyllaceae	200
64	Solomon	leaves	<i>Cananga odorata</i> Hook. f. & Thoms.	Annonaceae	>400
65	Solomon	leaves	<i>Ananas comosus</i> Merrill	Bromeliaceae	>400
66	Solomon	stem	<i>Ananas comosus</i> Merrill	Bromeliaceae	>400

67	Solomon	leaves	Terminalia solomonensis Exell	Combretaceae	>400
68	Solomon	stem	Calophyllum inophyllum L.	Guttiferae	200
69	Solomon	stem	Barringtonia asiatica Druce	Lecythidaceae (Myrtaceae)	200
70	Solomon	leaves	Terminalia complanata K. Schum.	Combretaceae	>400
71	Solomon	leaves, stem	Mucuna brachycarpa Rech.	Leguminosae	>400

表5. 抗リ－シュマニア活性スクリーニング結果(in vitro)

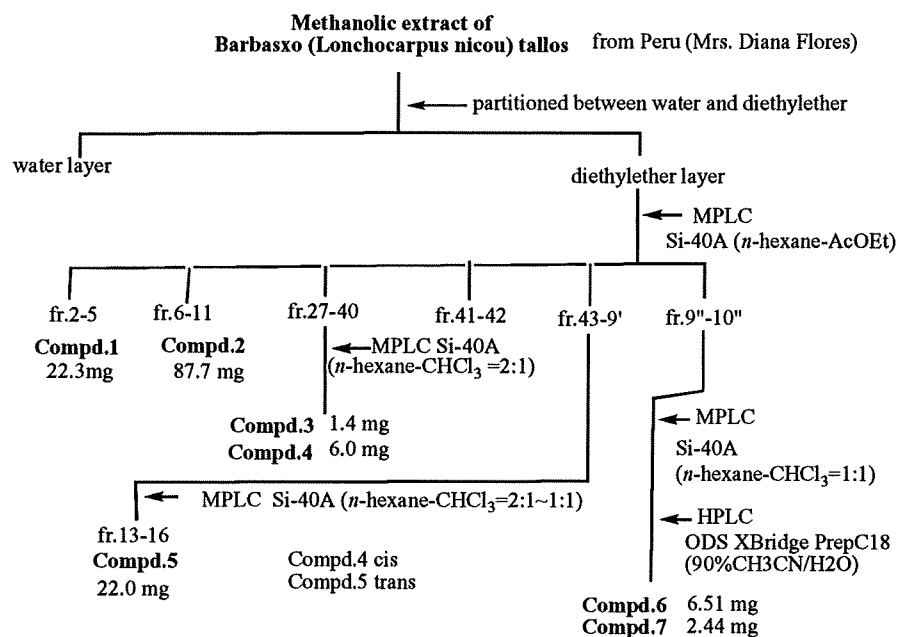


図8 Barbasco Tallos の isolatin chart

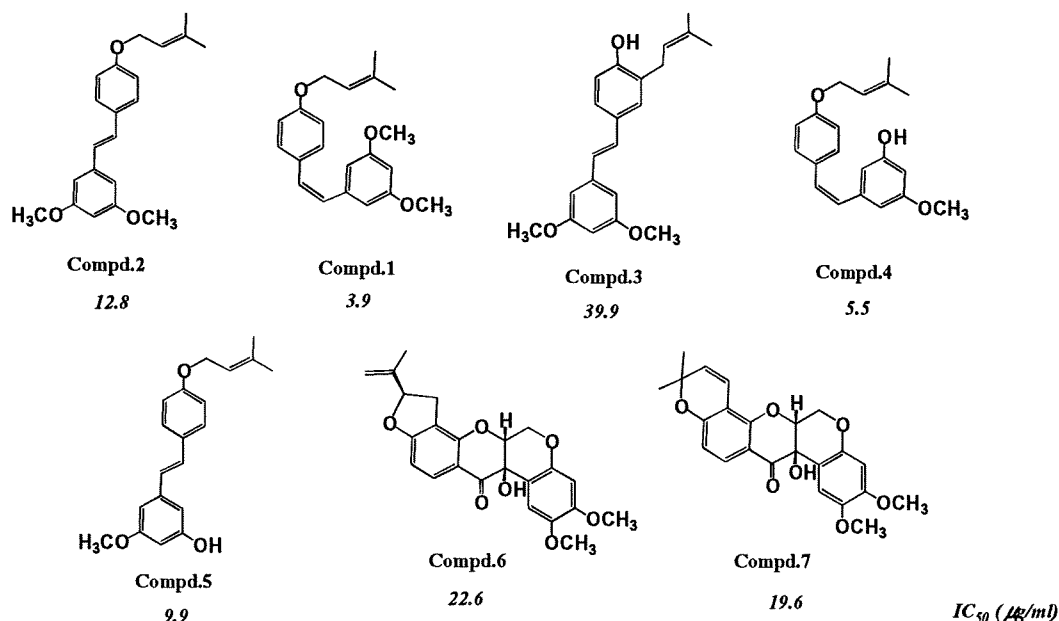


図9 Barbasco tallos の抗リ－シュマニア活性成分

PROJECT REPORT January 2008- January 2010

Basic Study for the Treatment of Leishmaniasis using Peruvian Medicinal Plants

Since 2001, we have started to study in Peru searching for new medicines against Leishmaniasis Tegumentaria, which represent a major sanitary problem in Peru as well as in several Latin American countries and other countries around the world since there is no satisfactory therapeutic solution available until now.

This study, under execution, has the initial characteristics of a basic study for the treatment of Leishmaniasis using Peruvian medicinal plants. It is being done with the participation of Peruvian scientists from Tropical Medicine Institute "Daniel A. Carrion", Pharmacy and Biochemistry Faculty of National University of San Marcos (NUSM) and Japanese scientists from National Institute of Biomedical Sciences of Japan, the NIBIO (Tsukuba, Japan). The personnel and administrative management was in charge of Scientific University of South at Lima, Peru who included it in their official list of research.

The material and methods used for this study was as follows: select and collect medicinal plants (at forest), being studied or pending to study, which grow in Peru and which are being known to have anti-leishmania properties. The information for this stage was in charge of Dr. Fernando Cabieses (who passed away), the collection was in charge of Dr. Diana Flores, Pharmacist, and Biotrade expert, with the support of Natural History Museum of National University of San Marcos (NUSM) in charge of the botanical identification. With the collected material, the extract is being prepared and the laboratories of Tropical Medicine Institute of NUSM by Dr. Diana Flores. With the extracts obtained, in vitro tests were performed to check their anti leishmania properties. These tests were performed simultaneously at IMT NUSM by Dr. Olga Palacios, Emeritus Professor of NUSM and by the NIBIO – Tsukuba Japan. The division by fractions of the active portion of extracts and chemical identification of active components were done at NIBIO (Tsukuba) where in vitro activity test is also done. Lastly as preliminary clinical studies, clinical therapeutic tests were performed in patients of Leishmaniasis using pharmaceuticals forms for topical used prepared by Dr. Bertha Pareja, Emeritus Professor of NUSM under the responsibility of Dr. Abelardo Tejada, Professor of NUSM, former Director at IMT/NUSM and Dr. Zuño Burstein, Emeritus Professor and permanent researcher at NUSM.

During these last years and until today, 38 Peruvian plants were studied which were analyzed with Leshmanias peruviana stump and later prepared extract greater than 1 kg for 14 of them which were sent to Japan. There was positive probable activity from 4 species.

During 2008 to 2009 , 4 species were studied at NUSM laboratories.:

1. Chinchilcuma (*Mutisia acuminata*) using the leaf
2. Tahuari (*Tabebuia serratifolia*) using bark and leaf
3. Amasisa (*Erythrina fusca* Lour) using bark and leaf
4. Buvinsana (*Calliandra angustifolia*) using bark and leaf

Important activity against Leishmaniasis was obtained from Chinchilcuma. Extracts from this plant were sent to Japan to obtain the identification of components, also Barbasco extract was sent to same purpose. Recently (14-08-09) Mito (*Carica candicans*) (1kg 100g) burk and leaf extract were sent to Japan which progress to next phase studies under the direction of Dr. Setsuko Sekita. These species as well as Chiric sanango (*Brunfelsia grandiflora*) and Uchu sanango (*Tabermontana sanango*) are most promising species up to date.

For preliminary clinical tests, ointment prepared from Chiric sanango (*Brunfelsia grandiflora*) was used to voluntary, healthy and informed patients. Irritation assays was preliminarily performed. The number of cases were: twenty one (21) cases of pure Leishmaniasis cutaneous, eight (8) cases from Jaen-Cajamarca and nine (9) cases, detected in Tropical Medicine Institute of San Marcos University in Lima, during the period from January 2006 to December 2007. From June 2008 to November 2008, four (4) additional patients participate in the assay, two (2) from Canta and two (2) from Huarochiri (places close to Lima). A favorable answer from 30% of all cases studied was observed with healing of scars.

In addition, an ointment prepared with Chinchilcuma (*Mutisia acuminata*) extract was used on ten (10) patients with cutaneous leishmaniasis who came from Tropical Medicine Institute of San Marcos University five (5) patients and from Rodriguez de Mendoza area five (5) patients. Irritability cutaneous essays were performed with negative results. All patients were healthy, voluntary and informed. The study was done from August 2008 to date with non encouraging therapeutic result

Simultaneously, as cooperation with Japanese counterpart, 50 patients with Leishmaniasis cutaneous, voluntary and with consent, were applied ointment "Shin Un Kou" with recognized heal effect among other therapeutic properties, getting as result 46 patients had heal lesions, 3 no answer, 1 left treatment and 3 abandon treatment. These results were informed to Japanese counterpart.

The study will continue to following stages according with the plans and renewal coordinated with Japanese counterpart where financing is obtained and under the approval and excellent support from Scientific University of South

Zuño Burstein

Proyect Cordinator of "Basic Study for the Treatment of Leishmaniasis using Peruvian Medicinal Plants"

REPORTE DEL PROYECTO Enero 2008 - Enero 2010

Estudio Básico para el Tratamiento de la Leishmaniasis utilizando Plantas Medicinales Peruanas

Desde el año 2001 tenemos en marcha un estudio en el Perú en búsqueda de nuevos medicamentos contra la Leishmaniasis Tegumentaria, que representa un serio problema Sanitario en el Perú, así como en muchos países latinoamericanos y otras parte del mundo; y para lo cual no se cuenta hasta la actualidad con solución terapéutica satisfactoria.

El presente estudio en ejecución, con las características iniciales de un estudio básico para el tratamiento de la Leishmaniasis utilizando plantas medicinales peruanas, esta siendo realizado con participación de científicos peruanos del Instituto de Medicina Tropical "Daniel A. Carrión" y la Facultad de Bioquímica de la UNMSM, y científicos Japoneses del Instituto Nacional de Ciencias de la Salud del Japón, el NIBIO (TSUKUBA) Japón . y le cobertura académica y manejo económico administrativo esta a cargo de la Universidad Científica del Sur quien lo ha incluido en su rol de investigaciones .

El material y métodos usado para el estudio ha sido: escoger y recolectar plantas medicinales silvestres estudiadas o por estudiar que crecen en el Perú con conocida y señalado popularmente actividad Leishmanisida; la información para esta etapa del trabajo estuvo a cargo, durante su vida, del Dr. Fernando Cabieses y la recolección estuvo a cargo de la Dra Diana Flores Q.F. especialista en Biocomercio con el apoyo del Museo de Historia Natural de la UNMSM. en la identificación botánica; Con el material recolectado se preparan extractos metanolicos en los laboratorios del Instituto de Medicina Tropical Daniel A Carrión de la UNMSM. por la Dra. Diana Flores. Con los extractos obtenidos se realizan pruebas in vitro para testar su actividad Leishmanisida; esta pruebas se han realizado simultáneamente en el IMT/ UNMSM por la Dra. Olga Palacios profesora Emérita de la UNMSM y por el Instituto NIBIO(TSUKUBA)del Japón .El fraccionamiento de la porción activa de los extractos y la identificación química de los componentes activos se hace en el Instituto NIBIO (TSUKUBA) Japón quienes practican también la actividad in vitro Leishmanisida de los principios químicos aislados. Por ultimo, en condición de ensayos clínicos preliminares se han hecho pruebas clínicas terapéuticas, en pacientes de Leishmaniasis, contando con su previo consentimiento informado con formas farmacéuticas de uso tópico preparados por el equipo de la Dra. Berta Pareja, Profesora Emérita de la UNMSM, y bajo la responsabilidad del Dr., Abelardo Tejada Profesor de la UNMSM, ex Director del IMT/ UNMSM y del Dr. Zuño Burstein Profesor Emérito investigador permanente del IMT / UNMSM

Durante estos años y hasta la actualidad se han estudiado los extractos de 38 plantas en el Perú,

las que fueron analizadas con cepas de *Leishmania peruviana* y posteriormente preparado extractos a mayor escala (<1kg) para 14 de ellas, las mismas que fueron enviadas a Japón; obteniéndose resultados positivos de probable actividad Leishmanisida en 4 especies.

Durante e el año 2008 al 2009 se han estudiados 4 especies de plantas en los laboratorios de la UNMSM:

1. La Chinchilcuma (*Mutisia acuminata*) utilizando las hojas
2. El Tahuari (*Tabebuia serratifolia*) utilizando la corteza y hojas
3. La Amasisa (*Erythrina fusca* Lour) utilizando la corteza y hojas
4. La Buvinsana (*Calliandra angustifolia*) utilizando la corteza y hojas

Habiéndose obtenido una mayor actividad Leishmanisida invitro de la Chinchilcuma. Los extractos de esta planta fueron enviados al Japón para la identificación de los componentes presentes en este especie ; igualmente se envió en el año 2007 con el mismo fin extracto de Barbasco (*Lonchocarpus nicou*) y recientemente (14-08-09) se ha enviado al Japón nuevamente, con el mismo objeto extracto de hojas y cortezas de Mito(*Carica candicans*) (1kg 100g), la cual ha pasado a una siguiente fase.de estudio a cargo de la Dra Setsuko Sekita. Estas especie además de Chiric sanango (*Brunfelsia grandiflora*) y Uchu sanango (*Tabermontana* sanango) enviadas anteriormente son las especies promisorias hasta el momento.

Se ha utilizado para pruebas clínicas preliminares, **pomada de Chiric sanango** (*Brunfelsia grandiflora*) previo ensayo de irritabilidad en voluntarios sanos y consentimiento informado de los pacientes, en veintiuno (21) casos de leishmaniasis cutánea: ocho (8) casos en Jaen-Cajamarca y nueve (9) casos atendidos en el Instituto de Medicina Tropical de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de Lima (IMT-UNMSM) durante el periodo de Enero del 2006 a Diciembre del 2007; y de Junio a Noviembre del 2008 fueron captados cuatro (4) casos adicionales en la localidades de Canta, dos (2) y de Huarochiri dos (2), ciudades cerca a Lima. Comprobándose en un 30% de todos los casos estudiados respuesta favorable con cicatrización de las lesiones.

Asimismo con una **pomada preparada con extracto de Chinchilcuma** (*Mutisia acuminata*) haciéndose hecho pruebas previas de irritabilidad cutánea y consentimiento informado en voluntarios que fueron negativas, se estudiaron, desde Agosto del 2008 hasta la fecha, diez (10) pacientes con leishmaniasis cutánea: cinco (5) pacientes del IMT-UNMSM y cinco (5) de la zona de Rodríguez de Mendoza, con resultados terapéuticos poco alentadores.

Simultáneamente, como colaboración a solicitud de la parte japonesa se administro tratamiento local, contando con el consentimiento formado de los pacientes, 50 casos de Leishmaniasis cutánea pura con una pomada japonesa “ **Shin Un Kou**” de reconocida actividad cicatrizante entre otras propiedades terapéuticas, obteniéndose en 46 casos curación de las lesiones 3 no respondieron , 1 dejo el tratamiento y 3 abandonaron. Se comunico estos resultados a la parte Japonesa.

El estudio seguirá desarrollándose de acuerdo con la renovación que anualmente se concerta con la parte japonesa, de donde proviene el apoyo económico de la investigación y condicionado al valioso apoyo y la cobertura de la Universidad Científica del Sur.

Dr. Zuño Burstein

Coordinador del Proyecto

“ Estudio Básico para el Tratamiento de la Leishmaniasis su utilización de plantas Medicinales Peruanas”

分担研究課題：日本産薬用植物スズメノナスビの α -グルコシダーゼ活性成分の探索

研究分担者 細川 敬三 兵庫大学健康科学部教授

研究要旨

これまでに、北海道（48 科 109 種 206 サンプル）、関東（74 科 225 種 525 サンプル）、種子島（112 科 327 種 557 サンプル）の各地から植物計 1,288 サンプルを収集し、各種活性（グルコシダーゼ類の阻害活性、リパーゼ阻害活性、抗酸化活性、抗発がん活性、チロシナーゼ阻害活性、抗ダイオキシン活性）を *in vitro* でスクリーニングを実施し、それぞれの活性について高活性を示す植物種を見出すことができた。昨年度は、この中からメタボリックシンドロームのなかでも小腸からのデンプン吸収の抑制に関与する成分をコデマリ（花）から 3 成分を単離・同定した。今年度は、スズメノナスビ（果実）から分配クロマトグラフィー・シリカゲルカラムクロマトグラフィー・分取 HPLC により α -グルコシダーゼ阻害活性（スクラーゼとマルターゼ）を持つ成分を単離した。この成分は、NMR・MS による構造解析の結果、methyl caffeate（1、スクラーゼ阻害活性； $IC_{50}=1.5$ mM、マルターゼ阻害活性； $IC_{50}=2.0$ mM）と判明した。さらに、1の類縁化合物 13 種類を合成し、 α -グルコシダーゼ阻害活性を比較し、構造活性相関を調べた。その結果、スクラーゼ阻害活性については、methyl 3,4,5-trihydroxycinnamate（ $IC_{50}=1.0$ mM）が、マルターゼ阻害活性は、*n*-butyl caffeate（ $IC_{50}=1.8$ mM）単離した 1より強い活性を持つことを明らかにした。しかし、構造活性相関は観察されなかった。

A. 研究目的

創薬資源としての薬用植物類の新規利用法の開発を目的とし、これまで、1,288 種類の植物サンプルを収集し、各種活性（グルコシダーゼ類の阻害活性、リパーゼ阻害活性、抗酸化活性、抗発がん活性、チロシナーゼ阻害活性、抗ダイオキシン活性）を *in vitro* でスクリーニングを実施してきた。特に、生活習慣病の予防に関係するグルコシダーゼ類の阻害活性、リパーゼ阻害活性、抗酸化活性、抗発がん活性などの活性については、活性成分を特定することにより、疾病の予防・治療薬等を目指したリード化合物を見出すことを目的に本申請課題に取り組んでいる。昨年度は、コデマリの花に含まれる α -グルコシダーゼ阻害活性成分 3 成分を単離・同定した。本年度は、スズメノナスビの果実に含まれる α -グルコシダーゼ阻害活性成分を単離・同定するとともに、単離した活性成分の類縁化合物を合成し、 α -グルコシダーゼ阻害活性の構造活性相関について調べた。

B. 研究方法

1) 抽出・単離方法

独立行政法人医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター種子島研究部で栽培されたスズメノナスビの果実を 55~60°C で乾燥し、50g の乾燥果実

を調整した。これを 50%メタノール水溶液で抽出後濃縮した。この粗抽出物をダイアイオン HP20 に供し、非吸着成分を除去後、メタノールにて吸着成分を溶出し濃縮した。濃縮物を水-酢酸エチルで分配クロマトグラフィーを行い、水層と酢酸エチル層に分け、酢酸エチル層を濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム-メタノール系を使用）に供した。スクラーゼ阻害活性は、クロロホルム-メタノール（4:1v/v）の移動層で最も活性の高い画分を得た。この画分を更に分取 HPLC（Inertsil PREP-ODS, 20x 250 mm、移動層アセトニトリル-水系を使用）により活性成分を単離した。

2) α -グルコシダーゼ活性の測定方法

α -グルコシダーゼは、市販のラット小腸 α -グルコシダーゼ（Sigma-Aldrich Japan）を用い、マルターゼ活性は 0.7 u/mL、スクラーゼ活性は 0.34 u/mL の酵素液を調製し使用した。この際、マルターゼ阻害活性の測定には基質としてマルトースを、スクラーゼ阻害活性の測定には基質としてショ糖を用いた。両者の活性測定は、0.1M リン酸カリウム緩衝液（pH 6.3）に溶解した酵素液（マルターゼでは 50 μ l、スクラーゼでは 200 μ l）と基質（マルターゼでは 3.5mM マルトース 350 μ l、

スクラーゼでは 56mM ショ糖 200 μ l) に活性測定用試料を 50%濃度のジメチルスルフォキシド水溶液に溶解したものを 100 μ l 加え全量を 500 μ l とし、37°C、15 分間反応させ、750 μ l の 2M Tris-HCl 緩衝液(pH 7.0)を加え反応を停止した。この反応液をアルミナカラムに通してフェノール性成分を除去し、生成したブドウ糖量を Glucose B-test (和光純薬工業(株))を用いて測定した。なお、単離過程における阻害活性の測定は、植物試料 0.1g を 1 mL に溶解させたものに相当する量を反応液に加えて測定を行った。

3) 13 種類の類縁化合物の合成

13 種類の類縁化合物の構造式を図 1 に示した。化合物 2~7 と 10~12 は、既報に従い合成・精製した。一方、化合物 8 と 9 は市販品を使用した。また、化合物 13 は、2,3,4-tri(methoxymethoxy)benzaldehyde と (methoxycarbonylmethyl) triphenylphosphonium chloride を原料として合成後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した。14 は、2,4,5-tri(methoxymethoxy)benzaldehyde と (methoxycarbonylmethyl) triphenylphosphonium chloride から 13 と同様に合成・精製した。

4) 機器分析

単離した成分の化学構造の決定は、機器分析(主に NMR)により行った。NMR の測定には Bruker AMX (¹H, 500 MHz) を、MS の測定には JEOL SX102A により測定を行った。

C. 研究結果

1) スズメノナスビ果実の活性成分

スズメノナスビの果実が α -グルコシダーゼ阻害活性(スクラーゼ阻害活性とマルターゼ阻害活性)を示したので、果実から活性成分を単離・同定することとした。

スズメノナスビの果実 50 g から各種クロマトグラフィーにより α -グルコシダーゼ阻害活性成分として 16 mg の methyl caffeate (1) を単離・同定することができた。この活性成分の強さは、スクラーゼに対する IC₅₀ は 1.5 mM、マルターゼに対する IC₅₀ は 2.0 mM であった。

2) Methyl caffeate 類縁化合物

Methyl caffeate とその類縁化合物 13 種類の α -グルコシダーゼ阻害活性について比較を行った(表 1)。その結果、スクラーゼ阻害活性では、methyl 3,4,5-tri(methoxymethoxy)cinnamate (14) が、化合物 1 より強い阻害活性を示し、その IC₅₀ は 1.0 mM であった。一方、マルターゼ

阻害活性では、*n*-butyl caffeate (4) が、化合物 1 より強い阻害活性を示し、その IC₅₀ は 1.8 mM であった。

これら 14 種類の類縁化合物から構造活性相関を調べたが、相関は観察されなかった。

D. 考察

スズメノナスビの果実から α -グルコシダーゼ阻害活性を持つ成分 methyl caffeate (1) を単離し、この類縁化合物から構造活性相関を検討したが、エステルの側鎖部分(アルコール基の側鎖)についての構造活性相関は観察されなかった。また、ベンゼン環に付加した水酸基の数に関しても構造活性相関は観察されなかった。

このスズメナスビは、葉を生食および煮食に、半熟果実を魚やヤム等の食品とともに煮食に、若果は茹でてカレーや薬味に用いられている。従って、果実がデンプン分解酵素の作用を抑制することにより、食後の急激な血糖値の上昇を抑制することにより糖尿病疾患や肥満防止対策としての利用可能性が考えられる。

E. 結論

スズメノナスビ果実から α -グルコシダーゼ阻害活性を示す成分 methyl caffeate (1) を単離・同定した。その阻害活性の強さは、スクラーゼに対する IC₅₀ は 1.5 mM、マルターゼに対する IC₅₀ は 2.0 mM であった。

次に、1 の類縁化合物 13 種類を合成し、その構造活性相関を調べたが、顕著な相関は観察されなかった。しかし、スクラーゼ阻害活性では、1 より強い活性を持つ化合物として、methyl 3,4,5-tri(methoxy-methoxy)cinnamate (14, IC₅₀=1.5 mM) を、一方、マルターゼ阻害活性では、1 より強い活性を持つ化合物として、*n*-butyl caffeate (4, IC₅₀=1.8 mM) を見出すことができた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 論文発表

Takahashi, K., Y. Yoshioka, E Kato, S. Katsuki, O. Iida, K. Hosokawa and J. Kawabata (2010) α -Glucosidase inhibitor from *Solanum torvum*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry (投稿中)

2) 学会発表

該当なし

H. 知的財産権

1) 特許取得
該当なし

2) 実用新案登録
該当なし

3) その他
該当なし

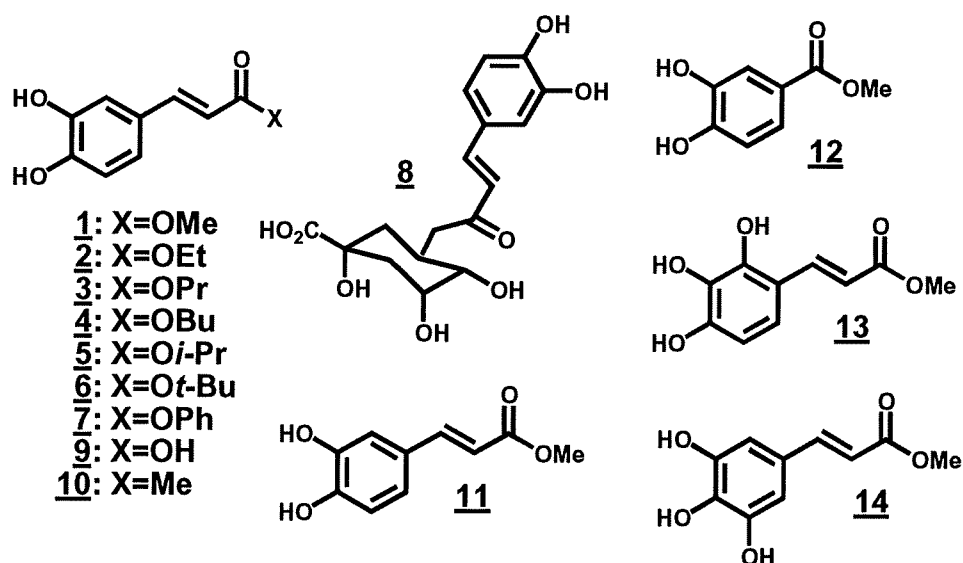


図1. スズメノナスビ果実のから単離した成分 (1) と類縁化合物 (2~14) の構造

表1. 2種類の α -グルコシダーゼに対する
化合物1-14の阻害活性

compound	IC ₅₀ (mM)	
	sucrase	maltase
<u>1</u>	1.5	2.0
<u>2</u>	1.8	1.9
<u>3</u>	3.1	2.2
<u>4</u>	3.2	1.8
<u>5</u>	2.0	1.9
<u>6</u>	2.7	2.2
<u>7</u>	1.3	2.1
<u>8</u>	7.6	6.3
<u>9</u>	2.9	5.2
<u>10</u>	2.7	7.2
<u>11</u>	7.5	12.2
<u>12</u>	6.5	16.9
<u>13</u>	5.1	4.9
<u>14</u>	1.0	2.8