

# ユウガオの苦味物質ククルビタシンの同定

玉那覇康二・大城善昇・山城興博・城間博正・玉城宏幸

## Identification of Cucurbitacin from Bitter Bottie Gourd

Koji TAMANAHA, Zensho OSHIRO, Okihiro YAMASHIRO,  
Hiromasa SHIROMA and Hiroyuki TAMAKI

**Abstract:** A bitter gourd is known a cause of food poisoning. Cucurbitacins were extracted from bitter gourd. Mouse assay and estimate structure of mass analysis were conducted on bitter substance. As result, Cucurbitacin B was detected from bitter bottle gourd.

**Key words:** 苦味物質, ククルビタシン, ウリ科, ユウガオ

### I はじめに

ユウガオは、ウリ科の1年生植物で沖縄ではその実は汁物、煮物として料理され食される。ユウガオによる食中毒は沖縄では過去に2件（昭和60年、平成6年）報告<sup>1)</sup>されている。この中毒物質はククルビタシンというトリテルペン構造の苦味物質で、ウリ科植物から数多く分離されており<sup>2)</sup>、毒性の強いものは致死量1.0mg/kg（マウス腹腔内）のものもあり猛毒である。

中毒症状は嘔吐、下痢、腹痛、けいれんの症状を示し、4日間入院して快復した事例がある。今回、苦味のあるユウガオが持ち込まれ苦味物質であるククルビタシンが検出され、その質量分析の結果、構造の推定を行ったのでその概要を報告する。

検体を図-1によりククルビタシンのフローチャートに従い、抽出を行った<sup>3)</sup>。次に抽出した油状物質をカラムクロマトグラフを用い図2のとおり精製処理を行った。紫外線を通す石英製ガラスカラムを使用し、蛍光剤入りシリカゲルの充填剤を詰め、試料を入れる。クロロホルムとヘキサンの混合液で不純物質を除いた後、暗室で紫外線を照射し、吸収帯を観察しながらクロロホルムで分画した。検体1より3つの吸収体（バンド）を分離した。それぞれ1・1-B・1-Cとした。

さらに、検体2より2つのバンド2・2-Bを分離した。この5つのバンドの検体を薄層クロマトグラフで呈色反応・味・Rf値・UV測定を行なったのち、マウスの毒性試験を行った。

### II 方法

#### 1. 検査試料（ユウガオ）

- (1) 実（大半分）全量 964g 試料採取量 460g
- (2) 実（小2個）全量 300g 試料採取量 140g

#### 2. 検査項目

官能検査 味・臭い

定性検査 (1) 薄層クロマトグラフィー

(HPTLC Kieselgel F254 10X10)

UVランプ

Lieberman-Burchard反応

リントングステン酸反応<sup>4)</sup>

(2) 紫外外部吸収 極大吸収228nm(EtOH)

(3) 毒性試験（マウスの経口・腹腔内）

確認試験 質量分析(マススペクトル)による構造確認

定量検査 抽出後精製して定量

#### 3. 苦味物質の分離精製

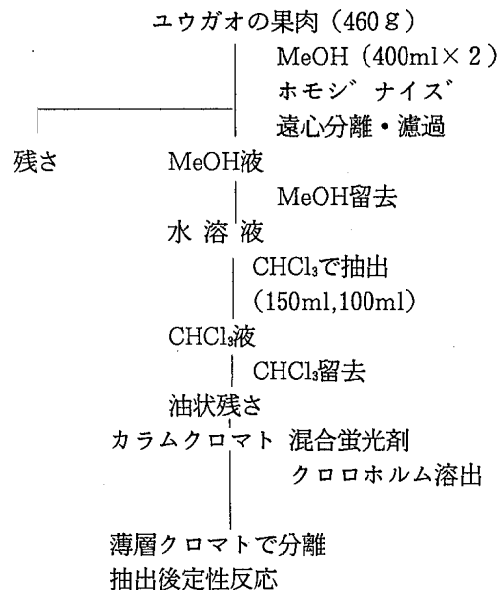


図1. 苦味物質の抽出.

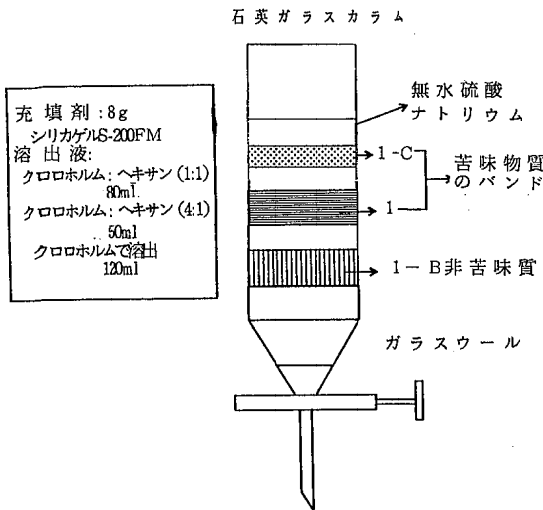


図2. カラムクロマトグラム

### III 結果

抽出した各バンドにおける検査の結果を表1に示す。味、苦みはそれぞれのバンドで強弱があった。

Lieberman-Burchard反応 (L-B反応) はステロイドの呈色反応の一つで赤褐色に呈色する。リンタングステン酸反応は血液中のコレステロールの定量に用いられクルビタシンは黄褐色に呈色する。薄層クロマトグラフのRf値は、バンド1と2が0.45で同じ位置にあり、1-Bと1-Cは0.66で2-Bが0.26であった。

それぞれの検査結果より検体1, 2のバンド1と2をクルビタシンと推定し、紫外外部吸収スペクトルで測定した結果、バンド1は228nm, バンド2は227.6nmの極大吸収を示した。

表1. 検査結果一覧表。

項目	定量値	味	L-B	リンタング	薄層
バンド	(mg)	苦味	反応	ステン反応	Rf値
1	360	強い	赤褐色	黄褐色	0.45
1-B	40	弱い	なし	なし	0.66
1-C	190	中強	赤褐色	なし	0.66
2	220	強い	赤褐色	黄褐色	0.45
2-B	10	中強	赤褐色	なし	0.26

マウスに対する毒性を試験するため検体1の1バンドから抽出した白色結晶をTween-60を1%の割合で加えた生理食塩水で希釈し、100ppmの試験液を調製した。

体重20gから27gの雄のマウスにそれぞれの量を用いて腹腔内注射を行った。その結果を表-2に示す。

クルビタシン含量1.6mg/kg以上腹腔内注射したマウスはすべて死亡した。毒性試験により毒量と死亡時間にはかなりの相関がある。その相関図を図3に示す。

相関係数は-0.946でクルビタシン含量と死亡時間と

表2. 試料液 (100ppm) におけるマウスの毒性試験。

試料液 (100ppm)	マウスのクルビタシン	死亡時刻
注射量ml	含量 mg	体重 (g) 含量mg/kg (分)
1	1	コントロール 24 0
2	0.25	0.025 24 1
3	0.25	0.025 27 0.9
4	0.4	0.04 24.4 1.6 389
5	0.5	0.05 24 2.1 250
6	0.5	0.05 26 1.9 250
7	0.6	0.06 22.3 2.7 194
8	0.75	0.075 27 2.8 190
9	0.75	0.075 20 3.8 162
10	0.8	0.08 23.2 3.5 122
11	1	0.1 23 4.3 140
12	1	0.1 21.4 4.7 73
13	1	0.1 20 5.0 90
14	1.2	0.12 23.3 5.2 74
15	1.2	0.12 24.6 4.9 75
16	1.25	0.125 27 4.6 125

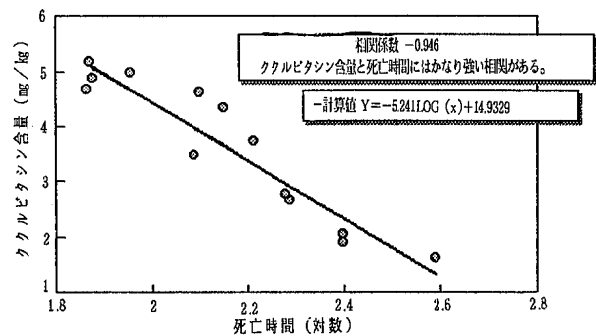


図3. 毒量と死亡時間の相関図

相関係数は-0.946でクルビタシン含量と死亡時間との間には負の強い相関がある。回帰直線は $Y = -5.241 \log (X) + 14.9329$ となり、喫食したユウガオの残りの検体からマウスの致死時間を求めることによりクルビタシンの含量を求めることが出来る。経口投与による毒性試験は、毒量と死亡時間に個体差があり相関を得ることができなかった。試験液で得られた白色結晶を、質量分析による構造式の推定を行った。クルビタシンは、脱離し易い-O-C-O-C-H基や複数のOH基を有している。そのため分子イオンが安定に検出されないため、アルカリ金属イオンの電荷あるいは親和性による分子イオンの安定を図るため、m-Nitorobenzyl alcoholをマトリックスに用いNaclを添加してイオンモードFAB(+)で測定したのが図4のスペクトルである。

このスペクトルからm/z581イオン強度が高く微弱ながら検出されているm/z559のイオンを [M+H]<sup>+</sup>と

[ Mass Spectrum ]

Data= 22

Sample= [ Cucurbitacin ]

Note=Accel V=10KV, Matrix=m-Nitrobenzyl alcohol (mNBA) +NaCl ※ : NBA およびそのNa<sup>+</sup>クラスター由来のノイズ

Inlet= Direct Ion Mode:FAB+

Spectrum Type= Regular [ MF-Linear ]

RT= 0.17min Scan#: (3.6) Temp= 1.0 deg.C

BP= m/z 581.0000 Int. : 1.76

Output m/z range= 0.0000 to 702.0600

Cut Level= 0.00%

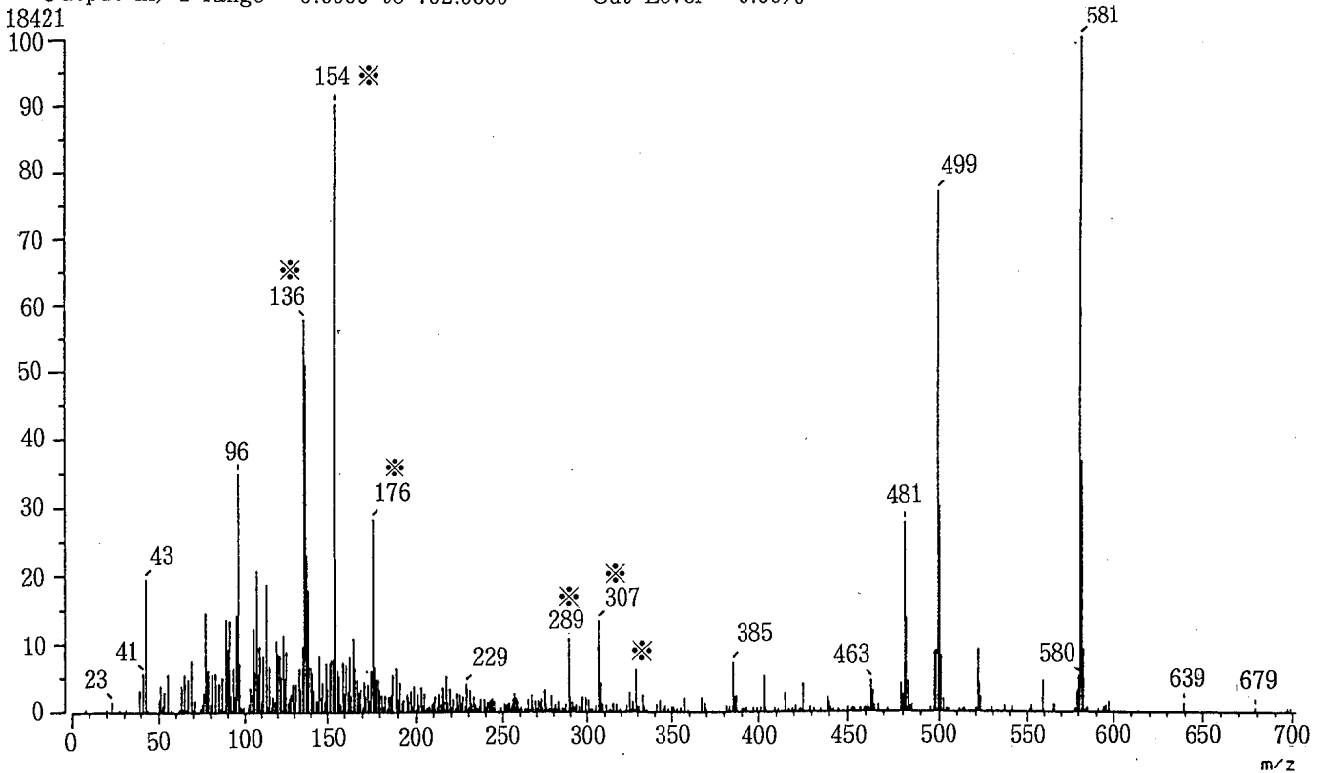


図4. マトリクス (m-nitrobenzyl alcohol)にNaClを添加した (+)FABスペクトル.

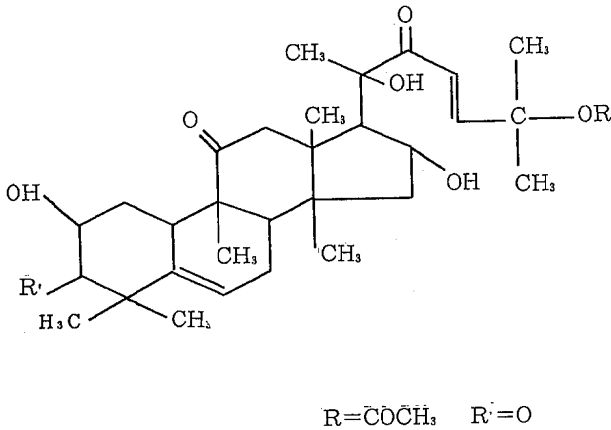


図5. Cucurbitacin Bの構造式

帰属することでm/z581=[M+Na]<sup>+</sup>すなわち MW558とする結論が導かれる。尚, m/z154(136), 307(289)及び176, 329等はm-Nitrobenzyl alcohol及びそのNa<sup>+</sup>クラスターに由来するノイズである。

m/z559及びm/z581各イオンの元素組成の解析を行いククルピタシンの構造に見合った元素数の範囲で検討した結果, ±0.2×10<sup>-3</sup>muの誤差でMW558 C<sub>22</sub>H<sub>46</sub>O<sub>8</sub>が得られた。この組成式はCucurbitacin Bと思われる。

Cucurbitacin Bの構造式を図5に示す。

IV 考 察

ユウガオ (うり科) の植物の中にはまれに、苦味を有する実を生じることもあるが、これを食することによっておこる食中毒の苦味物質であるククルピタシンについて検査を行い、その物質 Cucurbitacin Bを確認した。

ククルピタシンは強い苦味を有し、嘔吐、腹痛、下痢等を生じることが報告されている。マウスの毒性試験は、約1.6mg/kg以上の腹腔内注射によってすべて死亡した。したがって、Cucurbitacin Bはマウスに対して約1.6 mg/kgの致死性を有する猛毒である。

ユウガオの苦味を有する遺伝子は優性といわれ、この遺伝子を持った株は苦味のない果実に交じって突然苦い実をつけることがある。このような場合は果実を個々に味見する以外に予知法はない。

<謝辞>

稿を終るにあたり、Cucurbitacinの質量分析の構造解析にご協力いただきました(株)トロピカルテクノセンター研究開発部、伊波匡彦氏及び九州大学薬学部の諸

先生方に深謝いたします。

#### V 参考文献

- 1) 大城善昇・池間次郎・仲宗根民男・金城毅・金城永三・大城隆 (1987) 苦いユウガオによる食中毒事例. 沖縄県公害衛生研究所報, 20 : 113-115.
- 2) 刈米達夫 (1979) 最新植物化学. 広川書店, pp. 189-190.
- 3) 山口一孝(1963)植物成分分析法上巻. 南江堂, pp. 704-705.
- 4) 手塚洋子他 (昭58年) 食品衛生研究, 33(4) : 385-387.
- 5) 田村行弘他(1983)化学物質及び自然毒による食中毒事件例. 東京都立衛生研究所年報, 34 : 171-177.