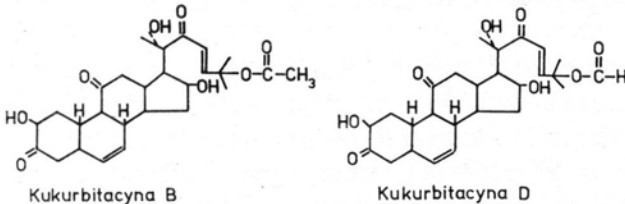


BOGUMIŁ LESZCZYŃSKI, SEWERYN NIRAZ

WYSTĘPOWANIE, BIOGENEZA I FIZJOLOGICZNA ROLA KUKURBITACYN

Kukurbitacyny są to gorzkie, drugorzędne substancje występujące w rodzinie dyniowatych — *Cucurbitaceae* (Enslin, Rehm i Joubert (1965) i Hegnauer (1956—57). Po raz pierwszy wyodrębniono je z roślin rodzaju przestęp *Bryonia*, Enslin i Mitrarbeiter (1954). W początkowej fazie badań odkryto 14 kukurbitacyń różniących się budową i właściwościami chemicznymi, które Enslin i Rehm (1954) oznaczyli kolejnymi literami A—N. Kuphan, Smith i Maruyama (1970) wyizolowali z *Brandegea bigelaria* kukurbitacyny O, PiQ, Rahman (1973) otrzymał z *Cucumis prophetarum* kukurbitacyne Q₁, a Seifert (1976) odkrył kukurbitacyne R w ekstrakcie z owoców *Cucurbita lundelliana*. Tak więc dotąd znamy 19 związków należących do tej klasy. Budowę chemiczną tych substancji ustalili Lavie (1958) i Ripperger (1976). Zaliczamy je do grupy czterocyklicznych trójterpenów. Nenitescu (1969) stwierdza, że w/w terpeny są alkoholami drugorzędowymi o szkieletcie C₃₂ lub C₃₀. Ilość węgla uzależniona jest od obecności lub braku grupy acetylowej —COCH₃. Kukurbitacyny A, B, C zawierają grupę acetylową i dlatego są związkami C₃₂, inne zamiast grupy acetylowej posiadają grupę —H. Niżej przedstawiamy przykładowe wzory obu grup. Jak podaje Nenitescu (1969) reakcją grupową



czterocyklicznych trójterpenów jest reakcja odwodorowania selenem, w wyniku której powstaje 1, 2, 8-trójmetylofenantren. Rahman (1973) stwierdził, że dają one również pozytywne reakcje w testach Salkowskiego i Liebermanna-Burcharda. Kukurbitacyny dają także barwne reakcje z chlorkiem żelazowym, Rodaminą 6G, chlorkiem antymonu, chlorkiem trójfenylotetrazoliowym i kwasem fosfomolibdenowym (Enslin 1954, Andweg 1959, Kintia 1974, Konopa 1974b, Pohlmann 1975). Chambliss (1966a) wykazał, że „goryczki” dobrze rozpuszczają

się w chloroformie, słabiej w wodzie, są natomiast zupełnie nierozpuszczalne w pentanie. Główną metodą stosowaną w badaniach nad tymi związkami jest chromatografia podziałowa. Do identyfikacji tych substancji służą w/w reakcje barwne, fluorescencja pod wpływem UV i widma absorpcyjne kukurbitacyń. (Enslin i Rehm (1957), Kintia (1974), Maszczenko (1976), Lazurewskii (1976)).

Występowanie kukurbitacyń

Jak podaje Andweg (1959) kukurbitacyny występują w ok. 90 gatunkach rodziny *Cucurbitaceae*, są więc szeroko rozpowszechnione. Występuje duże zróżnicowanie w ilościowej jak i jakościowej zawartości poszczególnych kukurbitacyń w różnych gatunkach. Dane te obrazują tabele przedstawione w kilku publikacjach (Enslin, Joubert 1956; Enslin, Rehm 1957; Andweg 1959). Uogólniając je można stwierdzić, że pod względem jakościowym najbardziej zasobne są w te związki następujące gatunki: *Citrullus ecirrhosus* Cogn., *C. naudinianus* Hook., *Cucurbita pepo*, *Lagenaria mascarena* Naud., *I. siceraria* Standl., *Telfaria pedata* Hook.,

Niezwykle istotnym problemem z punktu widzenia fizjologicznego i ekonomicznego jest występowanie kukurbitacyń w poszczególnych organach roślinnych w okresie wegetatywnego i generatywnego rozwoju rośliny. Jak podaje Rehm (1970), badania nad liśćmi i pędami wykazały, że występują tu niewielkie ilości tych substancji. Liście okazały się bardziej zasobne w goryczkę. Ogólny wniosek z tych badań jest następujący — starszy liść zawiera większe ilości kukurbitacyń np. młode liście *Citrullus ecirrhosus* zawierają ok. 0,01% gorzkich substancji, a starsze 0,1—0,3%. Liście gorzkich gatunków można podzielić na dwie grupy, do pierwszej zaliczamy liście zawierające wyłącznie kukurbitacyny pierwotne (patrz biogeneza), np. *Citrullus vulgaris* Schrad., *C. ecirrhosus* Cogn. i *Cucurbita cylindrata*, do drugiej zawierające wyłącznie lub w przeważających ilościach kukurbitacyny wtórne *Cucurbita palmata*. Stwierdzono również (Rehm 1970), że w różnych organach roślin tego samego gatunku goryczki mogą występować w różnych proporcjach np. u *Cucurbita andreana* owoce zawierają 88% kukurbitacyny B i 12% D, a liście 30% B i 70% D.

Korzeń jest organem zasobnym w gorzkie substancje. Podobnie jak liście i inne organy starsze korzenie zawierają również duże ilości kukurbitacyń. Enslin i Rivett (1957) stwierdzili, że starsze korzenie mogą być miejscem akumulacji kukurbitacyń. Często korzeń jest jedynym gorzkim organem rośliny. Rehm, Enslin i Meeuse (1957 b) podają przykłady takich gatunków jak *Coccinia adoensis*, *C. hirtella*, *C. quinqueloba* i *Cucumis Kalahariensis*, Rehm (1970) stwierdza, że młode korzenie zawierają wyłącznie kukurbitole pierwotne (patrz biogeneza), a starsze zawierają również inne goryczki (zarodki korzeni *Bryonia dioica* tylko małe ilości E, trzymiesięczne korzenie E i B, natomiast osiemnastomiesięczne korzenie 20% D i 20% I obok B i E).

Najlepiej poznanym i najciekawszym obiektem badań są owoce. Jak podaje Meeuse (1958) znany jest tylko jeden gatunek *Cucumis anguria* Hook, którego

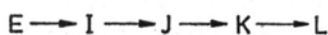
związek owocu nie zawiera goryczki. U większości gatunków pojawia się ona przed zapłodnieniem, następnie zawartość jej szybko wzrasta wraz ze wzrostem wielkości owocu i osiąga maksimum w momencie dojrzewania. W żółtych dojrzałych owocach kukurbitacyny występują już w mniejszych ilościach. Owoce w porównaniu z innymi organami zawierają duże ilości kukurbitacyn B i E, natomiast niewielkie ilości pozostałych. W kilku przypadkach poznano zmiany zawartości kukurbitacyn podczas wzrostu owoców *Cucumis sativus*, zawiązki owoców zawierają tylko pierwotne goryczki, później zawierają tylko C i niewielkie ilości kukurbitacyny B. *C. myriocarpus* zielone owoce 70% B i 30% A, dojrzałe 25% B i 75% A. Rehm (1970) przemiany te tłumaczy działalnością odpowiednich układów enzymatycznych w plazmie komórkowej.

Ostatnio obiektem zainteresowań badaczy stały się kukurbitacyny występujące w nasionach. Badania te zostały zapoczątkowane niedawno. Dotychczas, jak podaje Rehm (1970), udało się stwierdzić, że nasiona gatunków *Luffa acutangula* i *L. sicyos* są zupełnie pozbawione kukurbitacyn.

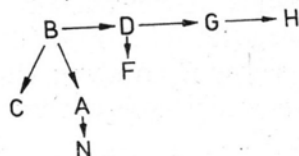
Jak podają Rehm (1970) i Enslin (1975b), kukurbitacyna A występuje w owocach *Cucumis leptodermis* i *C. myriocarpus*, B — w owocach *C. longipes*, *C. africanus*, *Lagenaria siceraria* i w młodych roślinach *C. sativus*, C — w owocach, liściach i łodygach *C. sativus*, D — owoce *C. angolensis* i korzenie *Ecballium elaterium*, E — owoce *Citrullus ecirrhosus* i *Cucurbita pepo*, F — liście *Cucumis angolensis*.

Biogeneza

Wszystkie kukurbitacyny możemy podzielić na pierwotne i wtórne. Do pierwotnych zaliczamy E i B, pozostałe są wtórnymi. Kukurbitacyny pierwotne tworzą się w kielkujących nasionach. Wg Enslina (1956), kukurbitacyny są częścią aglikonową glikozydu elaterynidyny. Pierwotne goryczki powstają poprzez rozszczepienie elaterynidyny przy pomocy specyficznego enzymu elaterazy β -glukozydaza. Kukurbitacyny E i B mogą wzajemnie przechodzić jedna w drugą oraz są punktami wyjściowymi do powstania innych tego typu związków. Enslin (1956, 1957), Rehm (1970), Pohlman (1975) stwierdzili, że wśród goryczek można wyróżnić dwie serie substancji E i B, które powstają na drodze odpowiednich przemian (np. przejście E \rightarrow I i B \rightarrow D związane jest z odszczepieniem grupy $-\text{COCH}_3$). Niżej przedstawiamy schemat tych procesów. W/w serie mogą występować równocześnie w roślinie. Np. *Kedrostis africana* zawiera kukurbitacyny B, D, C, H oraz E, I, J, K. Są rośliny zawierające wyłącznie E—serię *Citrullus ecirrhosus* lub B—serię *Colocynthis naudiniana*.



Seria E



Seria B

Rehm (1970) podaje, że po upływie godziny od rozpoczęcia kiełkowania w zarodku pojawiają się goryczki i ich ilość gwałtownie wzrasta. Maksimum goryczkowego koncentratu występuje w zarodku korzenia. Przy długości zarodka 2—5 cm kukurbitacyny stają się dostępne innym wykształcającym się organom. Synteza goryczki przebiega gwałtownie podczas początkowego stadium kiełkowania i trwa u większości roślin bardzo krótko. Zarodki większości roślin zawierają tylko jedną pierwotną kukurbitacynę.

Mechanizm powstawania pierwotnych kukurbitacyń oraz przekształcanie ich w goryczki wtórne można wytłumaczyć w oparciu o prawidłowości genetyki. Rehm i Enslin (1970) twierdzą, że za tworzenie goryczek są odpowiedzialne pewne grupy genów. Dzielą je oni na 5 niżej podanych grup:

- a) Geny główne umiejscowione w zarodku rośliny, odpowiedzialne za tworzenie goryczki. Posiadają je wszystkie rośliny wytwarzające te związki.
- b) Geny odpowiedzialne za powstawanie kukurbitacyń wtórnych. Znalezione je w owocach, nie wyklucza się, że istnieją w innych organach.
- c) Geny ilościowe, odpowiadające za ilość powstających związków.
- d) Geny jakościowe, odpowiadające za powstawanie określonej goryczki.
- e) Geny odpowiadające za powstawanie elaterazy (enzym rozkładający elaterynidynę).

Rehm (1970) wykazał, że za tworzenie goryczki odpowiedzialny jest gen dominujący. Wytłumaczył również, dlaczego jedna część rośliny może być gorzka, a inna nie. Stwierdził mianowicie, że niegorzkie owoce i liście mogą występować wtedy, gdy występuje w roślinie gen supresor tłumiący transport goryczki. Andweg (1959) i Rehm (1970) odnośnie do powstawania goryczek pierwotnych i wtórnych zbudowali hipotezę: za wykształcenie serii produktów odpowiada pewna grupa genów. W roślinach występuje wiele serii takich systemów genów, które mogą być biochemicznie przełączane na produkcję innych substancji.

Fizjologiczna rola kukurbitacyń

Fizjologiczne znaczenie goryczek jest do tej pory poznane w słabym stopniu ze względu na trudności związane z ich izolacją. Stwierdzono, że odgrywają one rolę w odporności roślin na choroby i szkodniki. Rehm (1970) wykazał, że warunkują one odporność ogórków *Cucumis sativus* na *Peronoplasmopora cubensis* i *Colletotrichum lagenarium*. Chambliss (1966 b) stwierdził, że gorzkie odmiany *Cucumis* są bardziej odporne na przedziorka chmielowca *Tetranychus urticae* Koch niż odmiany zawierające mniejsze ilości kukurbitacyń lub ich pozbawione. Fakt ten ma duże znaczenie, ponieważ szkodnik ten powoduje bardzo duże straty w uprawie ogórków *Cucumis sativus*. Andweg (1959) i Kintia (1974) wykazali, że rośliny te zawierają niewielkie ilości kukurbitacyń C. Andweg (1959) i de Ponti (1977) udowodnili, że jednym z czynników powodujących odporność ogórków na przedziorka chmielowca jest kukurbitacyna C.

W naszych badaniach, Leszczyński, Niraz (1977), znaleźliśmy również korela-

cje pomiędzy koncentracją kukurbitacyny C w różnych odmianach ogórka *Cucumis sativus* a ich stopniem odporności na *Tetranychus urticae* Koch. Dlatego też celowe wydają się efektywniejsze badania nad wyhodowaniem odmian roślin uprawnych zawierających duże ilości goryczki.

Również Soans (1972) wykazał (in vitro), że kukurbitacyna B jest bardzo atrakcyjna dla przędziorka chmielowca, E i D w mniejszym stopniu, natomiast I zupełnie nieatrakcyjna.

Howe (1976) badając wpływ kukurbitacyn na *Diabrotica virgifera* i *D. udencimpunctata* wykazał, że *D. virgifera* preferowały gorzkie gatunki kserofilne *C. digitata*, *C. cylindrata* i *C. palmata* oraz mezofilne *C. lundelliana*, *C. okei choseensis* i *C. ecuadroensis*, natomiast *D. udencimpunctata* nie wykazywały żerowania na gatunkach mezofilnych *Cucurbita*. Dane te wskazują na ścisłą zależność rozmnażania i rozwoju szkodnika od warunków panujących w określonym biotopie.

Konopa (1974b) stwierdził, że goryczki są związkami toksycznymi o działaniu antynowotworowym. Wszystkie kukurbitacyny były aktywne w kulturach komórek KB i Hela przy stężeniu goryczek od 1—0,005g/ml. Najbardziej aktywne goryczki in vitro (I, B, D, E) przejawiały również działanie antynowotworowe in vivo. Wykazano, że powodują one zahamowanie wzrostu tkanki nowotworowej do 56% w porównaniu z 80% wzrostu kontroli. U myszy z ubogą formą tkanki nowotworowej Erlicha po podaniu kukurbitacyn nastąpiło zwiększenie przeżywalności od 30—60%.

Enslin (1957b) podaje, że z wyciągów *Citrullus colocynthis*, gatunków rodzaju *Bryonia* i *Ecballium elaterium* wykonano preparaty farmaceutyczne znajdujące zastosowanie w medycynie.

Rehm (1970) twierdzi, że rośliny z rodziny dyniowatych *Cucurbitaceae* już od dawna były wykorzystywane w ludowej medycynie (zwłaszcza tzw. „ośli ogórek” zawierający duże ilości kukurbitacyn), wykazując silne działanie bakteriobójcze.

Duże znaczenie kukurbitacyn w biologicznej walce ze szkodnikami i jako środków farmakologicznych w medycynie otwiera szerokie możliwości dla dalszych badań nad tymi substancjami.

LITERATURA

- Andweg J. M., Bruyn J. W., 1956. *Breeding of non bitter cucumbers*. Euphytica. 8: 13—20.
- Chambliss O. L., Jones C. M., 1966. *Chemical genetic basis for insect resistance in cucurbits*. Am. Soc. Hort. Sci. 89: 394—405.
- Chambliss O. L., Jones C. M., 1966. *Cucurbitacins: Specific insect attractants in Cucurbitaceae*. Am. Soc. Hort. Sci. 153: 1392—3.
- Enslin P. R., 1954. *Bitter principles of the Cucurbitaceae I. Observations on the chemistry of cucurbitacin A*. J. Sci. Fd. Agric. 5: 410—16.
- Enslin P. R., Joubert F. J., Rehm S., 1954. *Bitter principles of the Cucurbitaceae II. Paper chromatography of bitter principles and some applications in horticultural research*. J. Sci. Afr. Chem. Inst. 7: 131—8.
- Enslin P. R., Joubert T. C., Rehm S., 1956. *Bitter principles of the Cucurbitaceae III. Elaterase an active enzyme for the hydrolysis of bitter principle glycosides*. J. Sci. Fd. Agric. 7: 646—55.

- Enslin P. R., Rehm S., Rivett D. A. E., 1957. *Bitter principles of the Cucurbitaceae VI. The isolation and characterization of six new crystalline bitter principles*. J. Sci. Fd. Agric. 8: 673—8.
- Enslin P. R., Rehm S., 1957. *The distribution and biogenesis of the cucurbitacins in relation to the tuxo*. Proc. Lin. Soc. Chem. 11: 230—8.
- Enslin P. R., Rivett D. E. A., 1957. *The cucurbitacins an interesting new group of natural products*. J. Afr. Ind. Chem. 11: 75—8.
- Hegnauer F., 1956—57. *The taxonomic significance of primary and secondary metabolites*. Proc. Lin. Lond. 288.
- Howe W. L., Sanborn J. R., Rhodes A. M., 1976. *Western corn rootworm adult and spotted cucumber beetle associations with Cucurbita cucurbitacins*. Environ. Entomol. 5(6): 1043—8.
- Kintia P. K., Wojciechowski Z. A., Kasprzyk Z., 1974. *Biosynthesis and metabolism of cucurbitacins and sterols at early stages of development of Cucumis sativus plant*. A. Bioch. Pol. 21/3: 263—9.
- Konopa J., Zieliński J., Matuszkiewicz A., 1974. *Cucurbitacins, cytotoxic and antitumour substances from Bryonia alba L. Part I: Isolation and identification*. Arz-For. 24/10: 1554—7.
- Konopa J., Onoszka K., 1974. *Cucurbitacins cytotoxic and antitumour substances from Bryonia alba L. Part II. Biological studies*. Arz-For. 24/11: 1741—3.
- Lavie D., Szinai S., 1958. *The constituents of Ecballium elaterium*. J. Am. Chem. Sci. 80: 707—10.
- Lavie D., Shro Y., 1961. Tetrahedron Letters. 615.
- Lavie D., Willer D., 1964. *Constituents of Citrullus colocynthis L.* Schard. Phytochemistry. 3: 51—6.
- Lazurewski G. V., Kintia P. K., Dragalin I. P., Gusera L. I., 1976. *Jakościowe określanie gorzkich składników (kukurbitacyń) w ogórkach*. Otkrytija Izobret. Prom. Obratzy, Towarnyje Znaki. 53 (v) 47: 5.
- Leszczyński B., Niraz S., 1977. Materiały nie opublikowane.
- Maszczenko H., Kintia P. K., Dragalin I. P., 1976. *Metody analiza kukurbitacyn w ogórkach*. Chimija prirod. sidin. 2: 265—6.
- Nenitescu C. B., 1969. *Produkty naturalne o szkieletie poliizoprenowym. Terpenoidy*. Chemia organiczna. T. 2, PWN, W-wa: 774—827.
- de Ponti O., 1977. Materiały nie opublikowane.
- Pohlmann J., 1975. *Die Cucurbitacine in Bryonia alba und Bryonia dioica*. Phytochemistry. 14: 1587—9.
- Rahman A., 1973. *Isolation and structure of cucurbitacin Q₁*. Phytochemistry. 12: 2741—3.
- Rehm S., Meeuse A. D. J., 1957. *Bitter principles of the Cucurbitaceae VII. The distribution of bitter principles in this plant family*. J. Sci. Fd. Agric. 8: 679—86.
- Rehm S., Wessels J. J., 1957. *Bitter principles of the Cucurbitaceae VIII. Cucurbitacins in seedlings occurrence, biochemistry and genetical aspects*. J. Sci. Fd. Agric. 8: 687—91.
- Rehm S., 1970. *Die Bitterstoffe der Cucurbitaceen*. Ergebnisse der Biologie, XXII Band; Springer Verlag, Berlin—Göttingen—Heidelberg: 108—36.
- Ripperger H., 1976. *Isolation and structure of cucurbitacins from Bryonia dioica*. Tetrahedron. 32 (13): 1567—9.
- Scifert K., Budzikiewicz, Schreiber K., 1976. *Triterpens of Cucurbita lundelliana*. Pharmazie 31 (11): 816—7.
- Soans A. B., Pimentel D., 1972. *Resistance in cucumber to the two spotted Spider mite*. J. Ec. Ent. 66: 380—2.
- Zielinsky J., Konopa D., 1968. *Thin layer chromatography of cucurbitacins — a group of tetracyclic triterpens*. J. Chromat. 36: 540—3.