

Jatropha curcas と *Jatropha integerrima* における
発がんプロモーション活性物質フォルボールエステル類の分布

大池 達矢¹, 松川 哲也¹, 岡南 政宏¹, 阿野 貴司¹, 梶山 慎一郎¹

要旨

トウダイグサ科の落葉低木である *Jatropha curcas* は、種子の仁に 40-60% の中性脂質を含んでおり、乾燥地域や貧栄養土壌などの荒廃地でも生育可能であるため、現在、東南アジア諸国で使用され、バイオディーゼル燃料 (BDF) となる資源として注目されている。しかし、*J. curcas* の種子中からは、発がんプロモーション活性物質であるフォルボールエステル類が検出されており、BDF 生産者の健康や環境への影響が懸念されている。その一方で、*Jatropha* は、観賞用植物としても親しまれており、街路樹に利用されるなど現在でも多くの種が流通している。しかしながら、観賞用の *Jatropha* は、BDF 用の *Jatropha* に比べると商業的な価値が低いいため、種子や各器官に関する基礎的な知見が乏しい。そこで本研究では、*Jatropha integerrima* におけるフォルボールエステル類の分布を *Jatropha curcas* を元に、種子油の脂肪酸組成分析を行なった。その結果、*Jatropha integerrima* の種子および葉においてフォルボールエステル類の存在が見出され、種子油に含まれる脂肪酸の組成は、両植物では大きく異なることが分かった。本研究の結果は、観賞用 *Jatropha* におけるフォルボールエステル類のリスク評価と、BDF 植物の優良品種開発に寄与すると期待される。

1. 緒論

現在、世界のエネルギー需要の多くは、石炭・石油・天然ガスなどの化石燃料を中心に賄われており、化石燃料を用いたエネルギー生産は、その副産物として硫黄酸化物や、窒素酸化物、二酸化炭素が大気中に排出され、環境問題のひとつとして取り上げられている。それらの問題を改善する方法のひとつとしてバイオ燃料と呼ばれる代替燃料が近年注目され、カーボンニュートラルという理念を基にした循環型のエネルギー利用の開発が進んできた。しかし、バイオ燃料の原料植物が食用植物である場合、バイオ燃料としての生産と食糧品としての生産の間に競合が起こる可能性が懸念されている。すなわち、バイオ燃料が食糧と競合すると原料植物に対する需要が増え、価格が急激に高騰することが危惧されている。そのため食糧と競合しないバイオ燃料の原料植物が求められており、現在脚光を浴びている植物が *Jatropha curcas* である。

J. curcas は、干ばつや病害に強く、貧栄養な土壌環境下でも生育可能なため、世界中の多くの地域で栽培でき、工業排水などによって重金属汚染された土壌の再生など、環境浄化にも利用できると考えられる⁽¹⁾⁽²⁾。本植物の種子は 40 - 60 % の油脂を含んでおり⁽³⁾⁽⁴⁾、この 1 粒あたりの油脂量は、ナタネ、ゴマ、オリーブなどの食用油の原料植物と近いことが分かっている。バイオディーゼル原料植物として有用であると考えられる。特に政府の支援を受けて生産に積極的なインドでは、*J. curcas* 種子の生産において、1 ha あたり 2,500 kg の種子が収穫されており、抽出される油脂量が 1,000 - 1,500 kg/ha と見積もられている⁽⁵⁾。*J. curcas* の油脂は、いくつかの毒性物質を含んでおり、食糧として利用することが難しい。そのため、

原稿受付 2010 年 11 月 22 日

本研究は近畿大学生物理工学部戦略的研究 No.02-IV-9, 2009 の助成を受けた。

1. 近畿大学生物理工学部 医用工学科, 〒649-6493 和歌山県紀の川市西三谷 930

他の食用植物の場合のように食糧原料と競合することがなく、その価格が高騰するといった問題も起こりにくい。このようにバイオディーゼル生産において、*J. curcas* は、非常に多くの利点を持っているが、食用原料植物の種子とは異なり、*J. curcas* の種子には、フォルボールエステル類などの発がん促進物質を含んでいる⁽⁶⁾。これまでの研究により、フォルボールエステル類を継続的に被曝したマウスでは、腫瘍形成が促進されることが報告されており、このことから生産者への長期的な暴露は発がんのリスクを高めると考えられている⁽⁷⁾⁽⁸⁾。また、フォルボールエステル類の発がん促進活性は、プロテインキナーゼ C の活性化に起因するものであると明らかになっており⁽⁹⁾フォルボールエステル類は、発がん促進活性の他にも様々な生理反応を起こすことが知られている⁽¹⁰⁾。以上のことより、フォルボールエステル類の環境中への放出は、自然環境や人体への毒性影響などを考慮する必要があると考えられる。また、*J. curcas* には、毒性物質の他に、種子の低い発芽率、低温による未生育の問題もある。種子の発芽率の問題においては、挿し木による対処法が存在するが、*J. curcas* の生育温度は、平均気温が 25°C 以上でなければならず、熱帯・亜熱帯地域以外の生育は難しくなる。それらの問題を解決する方法として考えられるのは、交雑による優良品種の開発、または、毒性自体を分解する技術の開発などが挙げられる。

一方、前述した BDF 原料として用いられている *J. curcas* とは異なり、観賞用としての *Jatropha* 属も多く存在し、*Jatropha integerrima* などの数種類の *Jatropha* 属は、日本でも鉢植えや街路樹として親しまれている。しかしながら、このような観賞用 *Jatropha* 属は、商業的価値が低く、これまで学術的な対象として注目を浴びることがなかったため植物体に対する知見が乏しいのが現状である。

本研究では、BDF 原料となる *J. curcas* と、現在は観賞用として親しまれているが毒性や油脂の研究が行われていない *J. integerrima* について、種間のフォルボールエステル類の分布調査を行い、フォルボールエステル類が *Jatropha* 属を特徴付ける代謝産物であるのかを検討した。また、両種子に含まれる脂肪酸組成を分析し、油脂としての違いを検証した。本研究の成果は、将来バイオディーゼル原料植物である *J. curcas* と観賞用植物である *Jatropha* 属の優良品種開発に向けて、基礎的な知見となる。

2. 材料および方法

植物材料

J. curcas 種子は、2008 年 4 月にフィリピンミンダナオ島南コタバト州ジェネラルサントスで栽培、収穫された hybrid No.2 を用いた。また、*J. integerrima* 花卉および葉は、2009 年 8 月に、種子については、2009 年 10 月に、鹿児島県沖永良部島で採取されたものを用いた。

フォルボールエステル類の抽出

外殻を除去した *J. curcas* 種子 200 g をホモジナイザーにて粉碎した。次に、種子重量の 5 倍量のヘキサンにて懸濁し、種子中の油脂を除去した。ヘキサン抽出後の種子残渣に、5 倍量のアセトンを加えて懸濁し、一晚静置した後、上清をロータリーエバポレーターにて減圧留去した。アセトン抽出工程を 6 回を行い、これによって得られた粗抽出物をオープンカラムクロマトグラフィーに供した。

J. integerrima 種子は、外殻を除去し、種子 1 粒を破砕助剤(Lysing Matrix A, MP-Biomedicals)を入れたチューブに入れ、Fast Prep (MP-Biomedicals)を用いて 6.5 M/S にて 40 秒振盪破碎した。これにアセトン 1 ml を加えて懸濁し、その後、懸濁液を 10,000 rpm 10 分で遠心分離した。残渣に、同様の操作を 3 回を行い、得られた上清を合一し、それを粗抽出液とした。この得られた抽出物をシリカゲルカートリッジカラム (BOND ELUT JR-SI 500 mg, VARIAN)に供した。

花卉 7.4 g と葉 4 g は、5 mm 角に切断後、メタノールに一晩浸漬した。この粗抽出液をロータリーエバポレーターにて減圧留去し、残渣を得た。花卉は 3 回、葉は 5 回この操作を繰り返し、得られた各残渣を

オープンカラムクロマトグラフィーに供した。

LC/MS 供試試料の調製

シリカゲルカラムクロマトグラフィー

J. curcas 種子粗抽出物 10 g に 25 g のシリカゲル (Wakogel C-100, Wako) を加え懸濁した。懸濁液は、ロータリーエバポレーターを用いて乾燥し、抽出物をシリカゲルに吸着させた。吸着後のシリカゲルを、あらかじめヘキサンで平衡化させたシリカゲルカラム(25 g)に重層し、ヘキサン、ヘキサン:酢酸エチル=7:3、ヘキサン:酢酸エチル=3:7、メタノール 溶出液を各 400 ml に分画し、10 画分を得た。

J. integerrima 花卉及び葉抽出物は、各粗抽出物 0.33 g、0.18 g の 100 倍のシリカゲルを用意し、15 g、9 g のシリカゲルを加えて、*J. curcas* 種子粗抽出物同様、シリカゲルに粗抽出物を吸着させた。吸着後のシリカゲルを、あらかじめヘキサンで平衡化させたシリカゲルカラム(18 g, 9 g)に重層し、ヘキサン、ヘキサン:酢酸エチル=7:3、ヘキサン:酢酸エチル=3:7、メタノール 溶出液を各 200 ml と 150 ml に分画し、12 画分を得た。

J. integerrima 種子抽出物は、アセトン 3 ml に溶解し、シリカゲルカートリッジカラム(BOUND ELUT JR-SI, 500MG, VARIAN) を用いて分画を行った。粗抽出液をシリカゲルカートリッジカラムに吸着させ、1 時間デシケーターにてアセトンを減圧留去した。乾燥後のカラムをヘキサン、ヘキサン:酢酸エチル=7:3、ヘキサン:酢酸エチル=3:7、酢酸エチル、メタノール各 3 ml を用いて分画し、5 画分を得た。

薄層クロマトグラフィー

薄層クロマトグラフィーには、シリカゲル TLC (シリカゲル 60F₂₅₄, Merck)を用い、展開溶媒には、ヘキサンと酢酸エチル 3:7 の割合で混合したものを用いた。展開後の TLC プレートは、アニスアルデヒド硫酸発色法で発色し、観察を行なった。

LC/MS による分析

LC/MS 分析

得られた *J. curcas* と *J. integerrima* の LC/MS 供試試料を用いて LC/MS 分析を行った。溶出条件は、逆相系カラム Inertsil ODS-3 (2.1×150 mm, GL Science)を使用し、流速は 0.2 ml/min、0.05%ギ酸を含む 50%アセトニトリル水溶液を溶媒とし 50%から 100%になるよう直線溶出を 20 分を行い分析した。検出条件は、QTRAP-ESI システム(Applied Bioscience)、プロダクトイオンモードを使用し、イオンソースボルテージ 500 V、イオンソース温度 500°Cで行った。また、スキャンイオンは、フォルボールエステル類 の分子量 710 にアンモニウムイオンが付加した m/z 728 を Q1Mass として選択し、それが開裂して生成されるプロダクトイオンを検出した。

MRM (Multiple Reaction Monitoring) 分析

MRM 分析は、前節の LC/MS 分析と同様のシステムを使用し、MRM Positive モードにて行った。フォルボールエステル類の検出は、precursor ion にフォルボールエステル類由来のイオン質量 m/z 728 を用い、product ion には、前節で得られた m/z 293 を選択して検出を行った。

J. integerrima の脂肪酸分析

分析試料の抽出

J. integerrima 種子の脂質抽出物は、フォルボールエステル類の抽出時に得た、ヘキサン、ヘキサン:酢

酸エチル= 7 : 3の画分を合一したものを使用した。

脂肪酸のメチルエステル化

脂質抽出物を脂肪酸メチル化キット(nacalai, code 06482-04)およびメチル化脂肪酸精製キット(nacalai, code 06483-94)を使用し、取扱説明書に従いメチルエステル化を行なった。まず、脂質抽出物にメチル化用ヘキサンを3ml 加え、抽出用ヘキサン試薬2 mlを加えた。脂肪酸メチルエステル化試薬Bを200 μ l 加え、30–37°Cで2分間静置した。メチル化用酢酸20 μ lと蒸留水2 mlを加え懸濁し、上層を得た。メチル化用カラムを洗浄用メタノール3 mlで洗浄し、上層を添加した。不純物洗浄液3 mlで不純物を除去後、抽出液3 mlにて脂肪酸メチルエステルの抽出を行った。得られた脂肪酸メチルエステル2 μ lをGC分析に供した。

ガスクロマトグラフィー(GC)分析

ガスクロマトグラフィーには、島津GC-1700システムを用いた。供試試料1 μ lを260°C、スプリット比1:100に設定したインジェクターに注入した。キャリアガスにはヘリウムガスを用い、流量は20 cm/secに設定した。カラムは、SP-2560 (100 m \times 0.25 ID 0.20 μ m film, Spelco)を用い、最初の5分間は140°Cで維持し、次の25分間は4°C/minで240°Cまで昇温し、その後10分間240°Cで維持することにより、試料を分離した。検出にはFIDを用い、検出温度260°Cで試料を検出した。

3. 結果

J. curcas と *J. integerrima* におけるフォルボールエステル類の検出

始めに、本研究で使用した、*J. curcas* 種子および*J. integerrima* 種子、葉、花弁においてフォルボールエステル類が含まれていることを確認するために、各サンプルからフォルボールエステル類を抽出し、シリカゲルカラムを用いた順相クロマトグラフィーに供した。得られた画分をTLCにより分析した結果、*J. curcas* 種子および*J. integerrima* 種子からは、代表的なフォルボールエステル類であるPMAのRf値0.59と近いRf値を示すスポットを、ヘキサン：酢酸エチル=3:7の溶出画分において確認することができた。このことより、本画分にフォルボールエステル類が含まれていると推測された。しかしながら、花弁と葉については、スポットが検出されず、TLCの分析ではフォルボールエステル類の存在は確認できなかった。

次に、これらの画分をイオンスプレーLC-MS/MS分析に供した。

LC-MS/MS 分析

LC-MS/MSにて分析を行った結果、*J. curcas* 種子のUVクロマトグラムにおいて保持時間15分から20分にピークが検出され、このピークのMS/MSスペクトルを解析するとm/z 293とm/z 311にフラグメントイオンが検出された(図1)。*J. integerrima*の種子、花弁、葉のUVクロマトグラムにおいても保持時間15分から20分にピークが検出され、MS/MSスペクトルを解析すると、種子、葉については*J. curcas*と同様なフラグメントパターンが検出された(図2)。しかしながら、花弁については同様のフラグメントパターンが検出されなかった。これらのことから、*J. curcas* 種子、*J. integerrima* 種子および葉において、類似したフラグメントパターンをもつ化合物の存在が示唆され、検出されたフラグメントイオンは、フォルボールエステル類が開裂し、m/z 293と311において脂肪族側鎖部分及び水分子が脱離したと考えられる。

両植物から得られたピークm/z 293を用いて、更に詳しいフォルボールエステル類を解析するためにマルチプルリアクションモニタリング分析を行った。

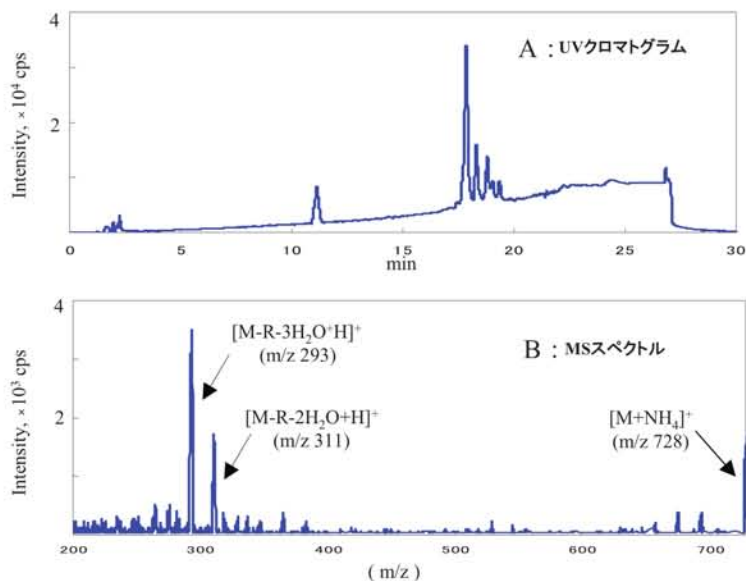


図 1. *J. curcas* 種子に含まれるフォルボールエステル類の LC-MS/MS 分析

J. curcas 種子抽出液を順相クロマトグラフィーにて分画し、LC-MS/MS 分析に供した。A, フォルボールエステル類の紫外吸収 254 nm における UV クロマトグラム。B, 保持時間 15 分から 20 分における MS/MS スペクトル。

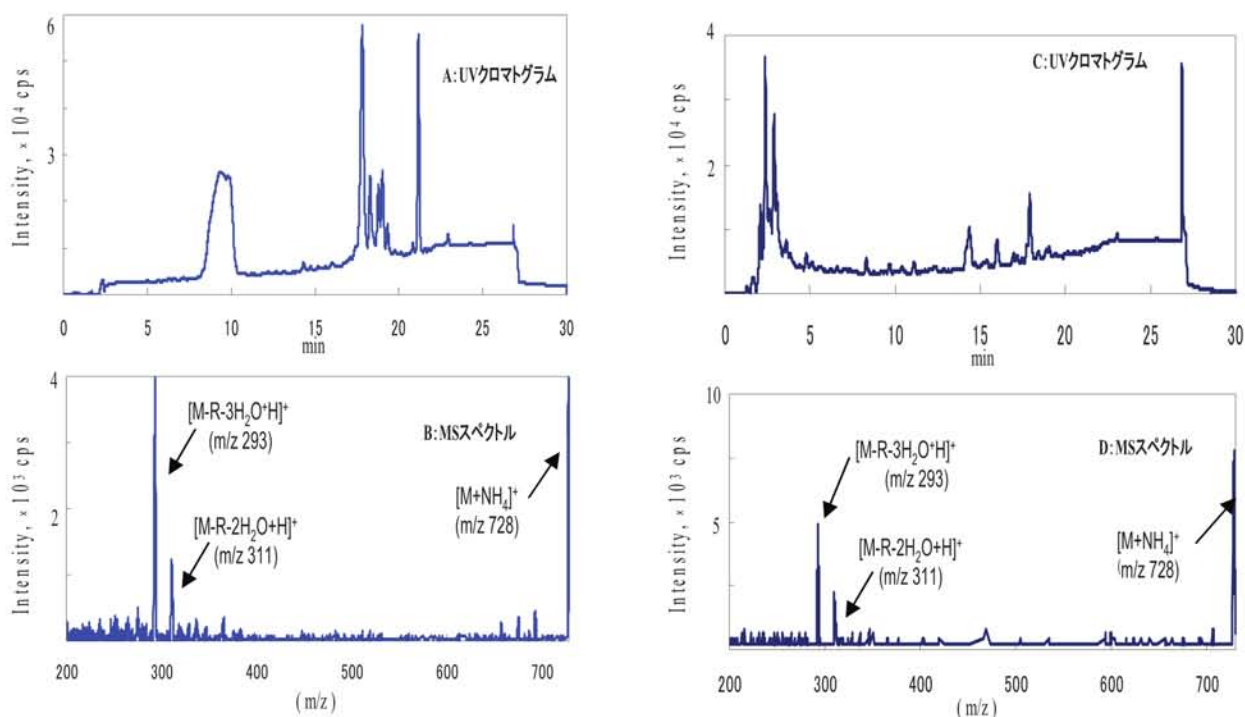


図 2. *J. integerrima* 種子及び葉に含まれるフォルボールエステル類の LC-MS/MS 分析

J. integerrima 種子および葉の抽出液を順相クロマトグラフィーにて分画し、LC-MS/MS 分析に供した。A B, *J. integerrima* 種子、C D, *J. integerrima* 葉の分析結果。A C, フォルボールエステル類の紫外吸収 254 nm における UV クロマトグラム。B D, 保持時間 15 分から 20 分における MS/MS スペクトル。

MRM 分析

MS/MS スペクトルの分析結果から、 m/z 293 を product ion とし、 m/z 728 を precursor ion に設定して、MRM 分析を行った。その結果、*J. curcas* 種子の MS クロマトグラムでは、保持時間が 15 分から 20 分にお

いて、ピークが検出された。*J. integerrima* 種子および葉においても、多少クロマトグラムパターンが異なるが、UV クロマトグラムと同様の時間帯にピークが確認された(図 3)。しかしながら、*J. integerrima* の花弁から同様のピークは、検出されなかった。

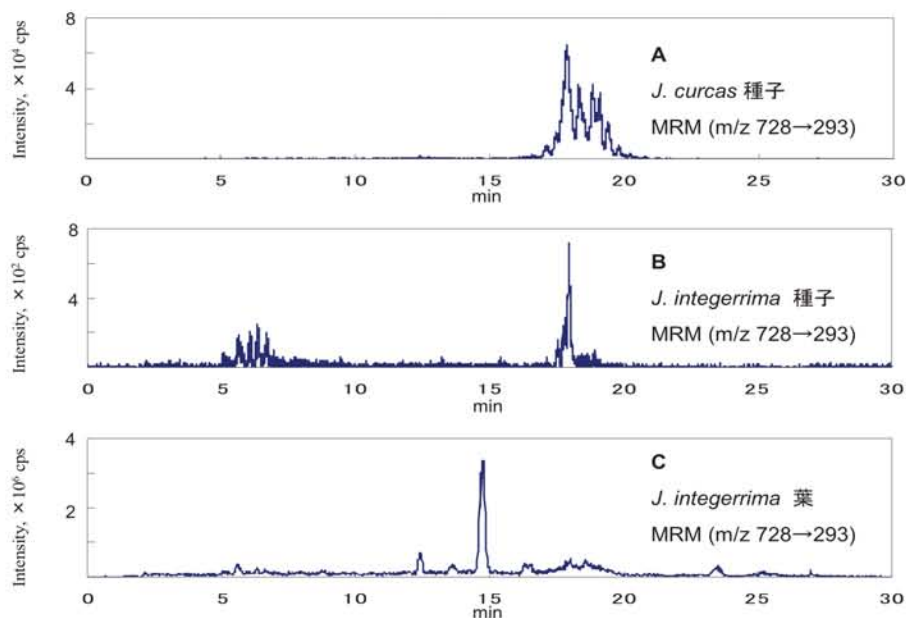


図 3. m/z 728→293 で検出した各サンプルの MRM 分析

各サンプルの抽出液を順相クロマトグラフィーにより分画し、MRM 分析に供した。A, *J. curcas* 種子; B, *J. integerrima* 種子; C, *J. integerrima* 葉の MRM。

J. integerrima の脂肪酸分析

粗抽出液を濃縮乾固し、仁の質量と得られた脂質抽出物を比較した。その結果、仁の平均質量 96.3 mg に対し、脂質抽出量は平均 53.4 mg となり、仁の質量の約 52% が油脂成分であることが確認できた。また、*J. integerrima* 種子が生産する脂肪酸の組成分析を行なうため、GC にて脂肪酸分析を行った。その結果、6 つのピークを検出することができ、保持時間を脂肪酸標品と比較により *J. integerrima* 種子の含有脂肪酸は、Myristic: 0.5%、Palmitoleic: 7.3%、Stearic: 5.2%、Oleic: 10.9%、Linoleic: 75.4% であることが分かったが(表 1)、26.5 min に検出されたピークは今回用いた脂肪酸標品では特定できなかったため、Unknown とした(図 4)。

表 1. *J. integerrima* 種子油に含まれる脂肪酸含量

¹ 脂肪酸	飽和炭素数	² 平均含有量(%)
Myristic	14:0	0.5
Palmitoleic	16:1	7.3
Stearic	18:0	5.2
Oleic	18:1	10.9
unknown		0.6
Linoleic	18:2	75.4

¹脂肪酸標品(Supelco™ 37 Component FAME Mix)を使用し、各ピークと照合し脂肪酸を特定した。

²平均含有量は、全脂肪酸とのピーク面積比により概算した。

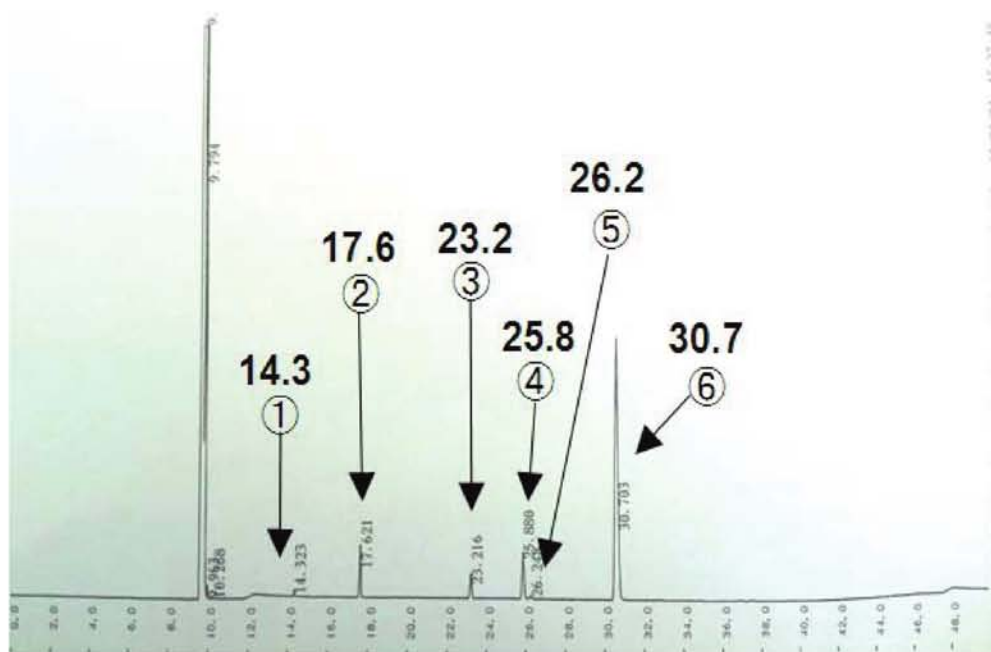


図4. *J. integerrima* 種子油に含まれる脂肪酸の GC 分析

J. integerrima 種子から得られた粗油をメチルエステル化し、GC 分析に供した。矢印と番号及び数値は、各脂肪酸名とその保持時間を示している。①ミリスチン酸(14.3 分)、②パルミチン酸(17.6 分)、③ステアリン酸(23.2 分)、④オレイン酸(25.8 分)、⑤unknown (26.2 分)、⑥リノール酸(30.7 分)

4. 考察

本研究では、*J. curcas* と *J. integerrima* におけるフォルボールエステル類の分布調査と種子油における脂肪酸組成分析を行なった。これまでの研究より、*J. curcas* の種子から *Jatropha factor* C1-C6 が単離されており、これらは分子量 710 の構造異性体であることが報告されている⁽¹¹⁾。本研究の LC-MS/MS 分析結果でも、同じように *Jatropha factor* であろうフォルボールエステル類が UV クロマトグラム上で確認され、その MS/MS スペクトルでもフォルボールエステル類が開裂したと思われるフラグメントイオン m/z 293 と 311 を検出することができた。*J. integerrima* の種子および葉においても、同様なフラグメントパターンを持つイオンが検出されたことから、フォルボールエステル類類の存在が示された。MRM 分析結果もこのことを強調する結果になった。

フォルボールエステル類の一種である、PMA による発がんプロモーション活性は、以前から研究されている。マウスに発がんイニシエーターである DMBA(7,12-dimethylbenz[a]anthracene)を 100 μg 塗布し、発がんプロモーターである PMA を 1 μg 、週 2 回塗布を 2 週間に渡って行う実験において、一匹のマウスに最大 20 ヶ所の腫瘍が形成されたという報告があり、このことからフォルボールエステル類は、少量でも長期間被曝すると皮膚がん発症の危険があると考えられる⁽⁷⁾⁽⁸⁾。前述の結果から、観賞用の *Jatropha* である *J. integerrima* の種子、葉においてもフォルボールエステル類の存在が示された。前述した通り、フォルボールエステル類は、長期間の暴露で発がんの危険性が高まることから、本植物の生産に関わる人や消費者にも皮膚がんの可能性があると示唆される。

J. curcas 種子油の脂肪酸組成は、以前から報告されており、その組成は、パルミチン酸 14%、パルミトレイン酸 0.8%、ステアリン酸 7.1%、オレイン酸 40.4%、unknown 1.2%、リノール酸 36.0%で、不飽和脂肪酸であるオレイン酸とリノール酸で全脂肪酸の約 76%を占めていることが分かっている。今回の *J. integerrima* 種子油における脂肪酸組成分析では、リノール酸が 75%、オレイン酸が 11%を占めていること

が分かった。*J. curcas* と同様に不飽和脂肪酸が多くを占めているが、その割合は大きく異なり、リノール酸が高い割合で含有されているという特徴をもっていた(図 5)。ヒトを含む哺乳類においてリノール酸は、体内で合成できず、食餌からの摂取が不可欠なため必須脂肪酸として知られている。その他にも、リノール酸は、アラキドン酸カスケードと呼ばれる代謝経路により、プロスタグランジン合成の原料としても利用され様々な生理活性に関係する。また、*Jatropha* 種子残渣は、他の植物のものに比べて栄養価が高いことが国際連合食糧農業機関 (FAO) により報告されており、*J. integririma* に含まれるフォルボールエステル類などの毒性物質を軽減することができれば、家畜の飼料としての利用が期待される。本研究における結果は、*Jatropha* 属における低毒性品種開発などの優良品種開発に大きく寄与するかもしれない。

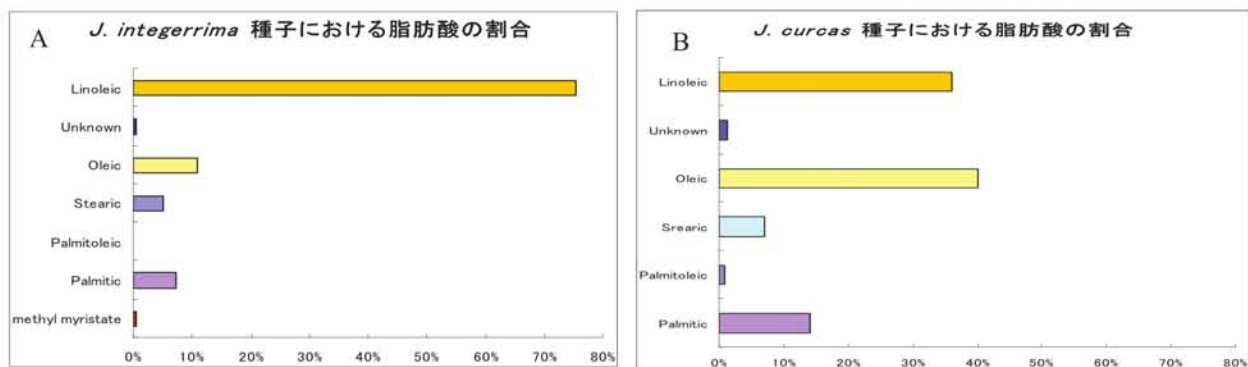


図 5. 種子油に含まれる脂肪酸組成

A : *J. integririma* 種子油に含まれる脂肪酸。 B : *J. curcas* 種子油に含まれる脂肪酸。

参考文献

- (1) K.Y. Santosh, A.J. Asha, K. G.Phani, K. Phani, R.T. Prashant, K.S. Sanjeev, Singh, and C. Tapan, (2009) Bioaccumulation and phyto-translocation of arsenic, chromium and zinc by *Jatropha curcas* L.: Impact of dairy sludge and biofertilizer. *Bioresource Technology* 100, 4616-4622
- (2) K. Becker, and H.P.S. Makkar, (2008) *Jatropha curcas* : A potential source for tomorrow's oil and biodiesel. *Lipid Technol.* 20, 104-107
- (3) K. Becker, and H.P.S. Makkar, F. Sporer, and M. Wink (1997) Studies on Nutritive Potential and Toxic Constituents of Different Provenances of *Jatropha curcas*. *J. Agric. Food Chem.* 45, 3152-3157
- (4) M. Nilkamal, G. Anshu, and S.K. Khare (2008) Production of protease and lipase by solvent tolerant *Pseudomonas aeruginosa* PseA in solid-state fermentation using *Jatropha curcas* seed cake as substrate. *Bioresource Technology* 99, 1729-1735
- (5) F. Stirpe, A. Pession-Brizzi, E. Lorenzoni, P. Strocchi, L. Montanaro, and S. Sperti (1975) Studies on the Proteins from the Seeds of *Croton tiglium* and of *Jatropha curcas*. *Biochem. J.* 156, 1-6
- (6) H. Wilhelm, S. Heinz, and M. Martin (2002) Novel 12-Deoxy-16-hydroxyphorbol Diesters Isolated from the Seed Oil of *Jatropha curcas*. *J. Nat.Prod.* 65, 1434-1440
- (7) B. L. Van Duuren, L. Langseth, A. Sivak, and L. Orris (1965) The Tumor-enhancing Principles of *Croton tiglium* L. *Cancer Res.* 25, 1871-1875
- (8) W.M. Baird, and R.K. Butwell, (1971) Tumor-promotion activity of phorbol and four diesters of phorbol in mouse skin. *Cancer Res.* 31, 1074-1079.
- (9) M. Wink, C. Koschmieder, M. Sauerwein, and F. Sporer (1997) Biofuel and Industrial Products from

Jatropha curcas. 160-166, Dbv-Verlag University of Graz.

(10) A. Aitken (1986) Naturally Occurring phorbol esters. 271-288, CRC Press.

(11) M. Hirota, M. Suttajit, H. Sygyri, Y. Endo, K. Shudo, V. Wonngchai, E. Hecker, and H. Fujiki (1988) A new tumor promoter from the seed oil of *Jatropha curcas* L., an intramoleculardiester of 12-Deoxy-16-hydroxyphorbol. Cancer Res. 48, 5800-5804.

英文抄録

Distributional Analysis of Phorbol Esters in *J. curcas* and *J. integerrima*.

Tatsuya Ohike¹, Tetsuya Matsukawa¹, Masahiro Okanami¹, Takashi Ano¹, Shin'ichiro Kajiyama¹

Jatropha curcas, a member of Euphorbiaceae family, has recently been attracted the considerable attention as a potential source of bio-diesel due to the high adaptability to arid and oligotrophic soil and oil concern (40-60%) in seed kernel. The seed, however, contains toxic compounds including phorbol esters, well known as a tumor promoting agent, and thus influence of these compounds on environment and people engaged in the production should be concerned. In contrast, *J. integerrima*, widely distributed for ornamental use, has not been focused, and little is know about phorbol esters contained in this species. In this study, we performed phorbol esters analysis and comparison of fatty acid composition between *J. curcas* and *J. integerrima*. Phorbol esters were detected in *J. integerrima* seeds and leaves as well as *J. curcas*, while profiles of fatty acids were different among these species.

1. Department of Biotechnological Science, Kinki University, Wakayama 649-6493, Japan