オリザニン“抗神経炎性ビタミン”(第七報)

オリザニン結晶の效力と国際標準単位

農學博士 大 嶽 了 , 農學士 山 岸 鼎 吉

(東京帝國大學農學部農藝化學科生物化學研究室)

昭和 13 年 7 月 27 日 受 理

1931年倫敦に於て開催せられし國際聯盟主催第一回ビタミン標準統一委員會⁽¹⁾に於てビタミンB₁の國際標準品として現今使用せらるゝ“抗神経炎性ビタミンBの標準吸着品”採用され其 10 mg の有する抗神経炎性效力を以て國際單位とせり。然るに其後ビタミンの研究進歩し米糠及び酵母等よりビタミン B₁ 結晶抽出せらるゝに及び 1934 年第二回同委員會⁽²⁾に於てはビタミン B₁ 結晶を國際標準品に採用せん爲に Prof. Jansen, Prof. Peters, Dr. Seidell, Dr. Williams, Prof. Windaus, 及び鈴木教授の六氏を副委員に任命し、各自抽出せる所のビタミン B₁ 結晶の效力をは先に制定せる標準吸着品と比較試験せられん事を求められたり。

現今迄之れに關し報告せられしもの少なからず。其成績を總括すれば次表に示すが如し。

第 1 表 ビタミン B₁ 結晶の國際單位

研 究 者 名	ビタミンB ₁ 結晶の國際 單位相等量 (mg)	試 験 方 法
Ohdake & Yamagishi ⁽³⁾	0.0015 *	鳩の Day-dose 及び白鼠の生長試験
Waermann & Ammerman ⁽⁴⁾	0.005	白鼠の生長試験
Kinnersley & Peters ⁽⁵⁾	0.002	鳩の Day-dose 及び Catatorulin 試験法
Jansen ⁽⁶⁾	0.003	白鼠の治癒試験
Leong & Harris ⁽⁷⁾	0.0029 (抽出品) 0.0028 (合成品)	白鼠の徐脈試験 (Bradycardia)

然るに 1935 年以來ビタミン B₁ の化學的研究長足の進歩を遂げ其化學構造闡明せられ、遂に合成品を見るに至れり。茲に於てビタミン標準統一委員會の中央機關なる英國醫學研究所 (The National Institute of Medical Research, London) に於ては昨年に至り四個所 即ち I. G. Farbenindustrie Aktiengesellschaft, Merck & Co. Inc., E. Merck, Hoffmann-la Roche & Co. 等より其合成品を得混和再結し融點 246~247°C の純粹なるビタミン B₁ 鹽酸鹽結晶の多量を得たるを以て之れを國際

(1) League of Nations, Health Organisation (1931). Report of the Permanent Commission of Biological Standardisation (Geneva).

(2) League of Nations, Health Organisation (1934). Report of the Permanent Commission of Biological Standardisation (Geneva).

(3) 大嶽, 山岸:- Bull. Agric. Chem. Soc. Japan, **11**, 50, (1935); Ibid., **11**, 111, (1935).

* 當時使用せる國際標準吸着品は 1931 年英國醫學研究所より我内務省に配布せられしものなるが、開封後既に數年を経過し貯藏當を得ざりし爲に其効力や、低減したるを以て B₁ 結晶の効力比較的高き値を示せるものなるべし。

(4) Waterman & Ammerman:- J. Nutrition., **10**, 85, (1935).

(5) Kinnersley & Peters:- Bioch. J., **30**, 985, (1936).

(6) Jansen:- Z. Vitamin Forsch., **5**, 254, (1936).

(7) Leong & Harris:- Bioch. J., **29**, 972, (1937).

準標品に採用せん爲に吸着品と共に頒布し重ねて其效力の比較試験を求められたり。依つて著者は(1) 國際標準吸着品, (2) 合成ビタミン B_1 結晶, (3) 米糠より抽出せるオリザニン鹽酸鹽結晶, (4) 三共製拾倍強力オリザニン注射液の4種類に就き同一條件を以て(A) 白鼠の生長試験を行ひ亦, (B) 鳩の Day-dose, (C) 鳩の治癒量等を檢し, 得たる成績をば國際標準吸着品 10 mg の效力即ち國際單位と比較せり。

實 験 の 部

[A] 白鼠の生長試験

體重約 40 g の健全なる幼白鼠を選び之れにビタミン B_1 を缺く配合飼料即ち精製澱粉⁽⁸⁾ 60 分, 精製カゼイン⁽⁹⁾ 20 分, 落花生油 15 分及びマツカラム氏配合鹽 No. 185⁽¹⁰⁾ よりなる基本飼料に加ふるに肝油各頭毎日 3 滴宛及び加壓熱酵母⁽¹¹⁾ 同しく 0.4 g 宛を補給する時は 7~10 日にして其生長を停止し, 次で漸次體重を減少し烈しき B_1 缺乏症狀を現して 4~5 週間にして斃死するに至る(第1圖對照試験)。然るに其生長停止期に達したる時一定量の供試品を毎日給與して5週間に互り其生育度即ち體重の増加を檢し其成績をば同時に施行せる國際標準品の效力と比較せり。

(1) 國際標準吸着品:— ビタミン B_1 を缺く前記配合飼料のみを給與して豫め 7~10 日間豫備試験を行ひ生長停止期に達したる幼白鼠に毎日 5 mg 宛の國際標準吸着品を給與せるに健全に生長せるも5週間の體重増加平均一週間に付き 4.1 g なりしも, 毎日 10 mg 宛を給與せるものは良好なる發育を示し5週間の平均體重増加1週間に付き 8.8 g を示せり。更に 15 mg を給與せるものは尙良好なる生育を示せり。(第2表, Chart 1.)。

之等の成績より本試験を通し標準生長率は5週間の平均體重増加1週間に付 8~9 g なる事を知る。普通 10~15 g を以て白鼠の正常生長率とせらるゝも之れに比し稍や劣れるは試験當時恰も嚴寒の候にして, 設備不完全なりし爲室温をして 17~24°C 以上に保つ事能はざりしに基因す。然れ共總て同一條件を以て同時に施行せる故成績の比較は正鵠を得たり。

(2) 合成ビタミン B_1 結晶:— 同様にして合成 B_1 結晶 0.001 mg 宛を毎日給與する時は白鼠は5週間以上に涉り健全なりしも, 其體重の増加平均一週間に付き 6 g にして吸着品 5 mg の場合に匹敵し 0.002 mg を給與して始めて 8.7 g を示し吸着品 10 mg の場合と略ぼ同一成績を得たり。

亦 0.0025 mg 及 0.003 mg を給與せるものは其成績, 吸着品の 15 mg を與へたる場合に相等せり。(第2表, Chart. 2.)。依りて合成 B_1 結晶 0.002 mg は國際標準單位に相當するものと認めらる。

(3) オリザニン鹽酸鹽結晶:— 前記同様に試験の結果 0.001 mg を給與せるものは5週間の體重増加平均一週間に付き 5 g にして吸着品 5 mg を給與せる場合に相等し 0.002 mg を與へて始めて平均體重増加一週間に付 8.8 g を示し吸着品 10 mg の場合及び合成 B_1 結晶 0.002 mg を給與せる場合と略ぼ同一成績を示せり。亦 0.003 mg を給與せるものは吸着品 15 mg の成績に一致せり(第

(8) 日本藥局方澱粉を先づ 80% のアルコールを以て溫浸する事2回, 次でエーテルを以て浸出後乾燥粉碎す。

(9) 市販カゼインを約 0.5% 苛性曹達液に溶解, 布を以て濾過し醋酸を加へてカゼインを沈澱せしめ上澄液を傾斜し去り, 更に醋酸を以て微酸性となせる水を用ひて洗滌する事約一週間の後濾過して沈澱を集め, アルコール次でエーテルを以て浸出後乾燥粉碎す。

(10) McCollum: J. Biol. Chem., **33**, 55, (1918). NaCl 0.173, $MgSO_4$ 0.266, $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ 0.347, K_2HPO_4 0.954, $CaH_4(PO_4)_2 \cdot H_2O$ 0.540, Fe-Citrate 0.118, Ca-lactate 1.3.

(11) 壓搾酵母を pH 7.0 となし 125°C に3時間加熱せる後乾燥粉碎す。

2表, Chart. 3.). 依りて抽出オリザニン結晶の 0.002 mg は國際單位に相等し合成品と其效力略ぼ相等しき事を認む.

(4) 拾倍強力オリザニン注射液:— 同様にして其 0.004 cc (=0.002 mg 鹽酸鹽結晶) を給與する時は5週間の平均體重増加 10 g を示し稍や良好なりしも前後の成績より推定して國際單位相等量と認めらる.(第2表, Chart. 4.). 即ち拾倍強力オリザニン注射液 1 cc 中には 250 國際單位を含有す.

第2表 白鼠の生長試験による B₁ 效力の比較

品 名	給與量 (mg)	試験頭數	白鼠の體重増加率		
			5週間の平均 (1週間に付) (g)	第1週間 (1週間に付) (g)	第5週間 (1週間に付) (g)
(1) 國際標準吸着品	5.0	3	4.1	8.3	2.5
	10.0	6	8.8	10.8	8.6
	15.0	2	9.7	10.8	8.8
(2) 合成ビタミンB ₁ 結晶	0.0010	3	6.0	10.3	5.3
	0.0015	3	7.8	10.0	7.0
	0.0020	4	8.7	10.8	6.2
	0.0025	5	9.5	7.5	9.5
	0.0030	1	13.2	8.0	16.0
(3) 抽出オリザニン結晶	0.0010	3	5.0	10.3	1.5
	0.0015	3	7.0	11.7	4.0
	0.0020	4	8.8	11.4	9.7
	0.0025	4	9.2	9.8	6.0
	0.0030	2	10.5	11.5	9.5
(4) 三共製“拾倍強力 オリザニン注射液”	0.003 cc (=0.0015 mg 鹽酸鹽結晶)	4	6.7	9.1	1.8
	0.004 cc (=0.002 mg 鹽酸鹽結晶)	4	10.1	8.6	9.6
	0.005 cc (=0.0025 mg 鹽酸鹽結晶)	2	10.4	13.0	6.3
	0.006 cc (=0.003 mg 鹽酸鹽結晶)	3	11.7	8.0	16.3

(室溫……17~24°C)

[B] 鳩の“Day-dose”

體重約 300 g の鳩を白米にて飼養し B₁ 缺乏症, 特に頸部の牽縮症狀著しきに至りしものに付 Kinnersly & Peters⁽¹²⁾ の方法に従ひ供試品の一定量を経口或は注射により給與し, 其病徴恢復せるものが再び發病同一症狀を呈するに至る迄の日數を検し, 之れを以て其供試量を除したる商數を底にて表す所の所謂鳩の“Day-dose”を求め國際標準品の成績と比較せり. 其成績を總括表示すれば次の如し.

(12) Kinnersley & Peters: Bioch. J., 19, 820. (1925).

第3表 鳩の“Day-dose”による B₁ 效力の比較

鳩 No.	體 重 (g)	發病迄 の日數 (days)	發病時の體重 (g)	供 試 量 (mg)	治癒日數 (days)	Day-dose (mg)
(1) 國際標準吸着品 (經口給與);						
1) 904	294	27	220	75	6	12.5
2) 918	335	11	267	75	6	12.5
3) 955	342	27	204	75	7	10.7
4) 956 (ii)	382	32	200	75	6	12.5
5) 906	305	32	208	50	7	7.2
6) 908 (i)	285	22	192	50	4	12.5
7) 919	305	18	173	50	5	10.0
8) 956 (i)	382	27	214	50	5	10.0
Average "Day-dose"						11.0
(2) 合成ビタミン B ₁ 鹽酸鹽結晶 (注射);						
1) 901	282	16	179	0.01	2.5	0.0040
2) 916	310	28	205	0.01	6	0.0016
3) 908 (ii)	285	26	190	0.01	3	0.0033
4) 909 (i)	325	19	216	0.01	5	0.0020
5) 909 (ii)	325	24	169	0.01	3	0.0033
6) 915	312	18	207	0.01	4	0.0025
7) 920	290	28	198	0.01	5	0.0020
8) 922 (i)	290	18	204	0.01	3	0.0033
9) 936 (ii)	324	23	217	0.01	4	0.0025
10) 940	300	24	225	0.01	4	0.0025
11) 933 (i)	310	18	239	0.008	3	0.0026
12) 933 (ii)	310	21	220	0.008	3	0.0026
13) 907	310	36	169	0.008	3	0.0026
14) 427 (i)	345	31	196	0.008	5	0.0016
15) 927 (ii)	345	36	160	0.008	5	0.0016
16) 929	320	19	252	0.008	2	0.0040
17) 934	306	21	227	0.008	4	0.0020
18) 936 (i)	324	19	237	0.008	4	0.0020
Average "Day-dose"						0.0026
(3) 抽出オリザニン鹽酸鹽結晶 (注射);						
1) 911	330	19	269	0.01	5	0.0020
2) 922 (ii)	290	21	192	0.01	4	0.0025
3) 948 (ii)	230	21	190	0.01	3	0.0033
4) 953	302	15	214	0.01	3	0.0033
5) 935 (i)	308	16	229	0.009	5	0.0018
6) 935 (i)	308	21	180	0.008	4	0.0020
7) 945 (i)	334	18	230	0.008	4	0.0020
8) 945 (ii)	334	22	218	0.008	3	0.0026
9) 946	349	12	242	0.008	3.5	0.0023
10) 948 (i)	330	17	218	0.008	4	0.0020
Average "Day-dose"						0.0024
(4) 三共“拾倍強力オリザニン”注射液 (注射);						
1) 954	320	22	218	0.02 cc (= 0.01 mg)	4	0.005 cc (= 0.0025 mg)
2) 951	358	32	208	0.02 cc (= 0.01 mg)	5	0.004 cc (= 0.002 mg)
3) 947	353	32	238	0.02 cc (= 0.01 mg)	5	0.004 cc (= 0.002 mg)
4) 944 (i)	343	14	267	0.016 cc (= 0.008 mg)	3	0.0052 cc (= 0.0026 mg)
5) 944 (ii)	343	17	250	0.016 cc (= 0.008 mg)	3	0.0052 cc (= 0.0026 mg)
6) 952	300	17	234	0.016 cc (= 0.008 mg)	3	0.0052 cc (= 0.0026 mg)
7) 949	347	19	243	0.016 cc (= 0.008 mg)	3.5	0.0046 cc (= 0.0023 mg)
Average "Day-dose"						0.0048 cc (= 0.0024 mg)

前表試験成績の示すが如く合成ビタミン B₁ 結晶の平均値は 0.0026 mg 亦抽出オリザニン結晶にありては 0.0024 mg にして其效力略ぼ同等なり。亦國際標準吸着品にありては 11 mg なるを以て合成 B₁ 結晶 0.0024 mg 及び抽出オリザニン結晶 0.0022 mg は國際單位に相等す。三共製拾倍強力オリザニン注射液に於ては 0.0044 cc (鹽酸鹽結晶 0.0022 mg) なりとす。

〔C〕 鳩 の 治 癒 試 験

體重約 300~350 g にして白色乃至灰白の健全なる鳩を選び B₁ を缺除せる配合飼料を以て飼養する時は 3~4 週間にして B₁ 缺乏症狀を現して遂に斃死するに至るも其死に先ち B₁ 缺乏症狀の顯著なる時供試品の一定量を経口或は注射により給與し、其恢復狀態を觀察し一日以内に症狀消失し且毎日同一量を給與して 1 週間に互り體重を検し確實に體重増加を示す時の最低治癒量を求め、其結果を標準吸着品と比較せり。

元來鳩の治癒試験は B₁ の検出には適するも B₁ 鹽酸鹽結晶の如き精密を要する測定には應用し得ざるものなり。従而其成績は極めて概略に過ぎざるも古くより施行せられしを以て其成績と比較便宜の爲特に茲に使用せり。

(1) 國際標準吸着品:— 配合飼料を以て飼養し B₁ 缺乏症狀著しきに至りし鳩に吸着品 10 mg を経口給與する時は病徵輕減するも恢復に至らず同一量を毎日給與するも體重漸次減少し斃死するに至れり。15 mg を給與するも尙體重の減少を伴ひて 20 mg を與へて始めて完全に恢復し、體重の増加を示すを以て鳩の治癒量は 20 mg なる事を認めらる。(第 4 表, Chart. 5.)

(2) 合成ビタミン B₁ 結晶:— 同様にして檢せるに 0.0025 mg を注射する時は 2~3 時間にして其症狀より恢復するも、體重の増加確實ならず 0.004 mg を注射して始めて完全に恢復し且毎日同一量を給與せるに一週間に互り漸次體重の増加を示せるを以て其治癒量は略ぼ 0.004 mg なる事を知る。(第 4 表, Chart. 6.)

(3) 抽出オリザニン鹽酸鹽結晶:— 同様にして 0.003 mg を給與せるものは注射後數時間にして病徵輕減するも 0.0035~0.004 mg を注射して始めて完全に恢復し、且確實に體重の増加を示す。(第 4 表, Chart. 7.)

(4) 拾倍強力オリザニン注射液:— 前記配合飼料を以て發病せる鳩に付き毎日 0.006 cc (=0.003 mg 鹽酸鹽結晶), 0.007 cc (=0.0035 mg), 0.008 cc (=0.004 mg), 0.01 cc (0.005 mg) 宛を夫々注射し、一週間に互り其效力を檢せるに 0.008 cc を以て鳩の最低治癒量と認めらる。(第 4 表, Chart. 8.) 依つて其 0.004 cc は國際單位に相等す。

第 4 表 鳩の治癒試験による B₁ 效力の比較

供 試 量 (mg)	鳩羽數	體 重 (g)	發病迄の 日數	體 重 (發病時) (g)	治癒狀態 (恢復迄 の日數)	體 重 (試驗最終 七日目)	再發病迄 の日數	體 重 (再發時) (g)
(1) 國際標準吸着品 (經口給與);								
10.0	3	363	26	247	稍輕減	232	2	213*
15.0	2	383	28	256	3 days	250	5	231
20.0	1	373	27	260	1 days	281	7	246
30.0	1	395	28	291	½ days	332	7	299

(2) 合成ビタミン B₁ 結晶 (注射);

0.002	2	326	27	245	不 足	5 日後死	...	..
0.0025	3	332	31	238	稍輕減	244	4	224*
0.003	3	376	35	309	1 days	285	2	282
0.0035	3	371	32	273	4 hrs	289	2	270
0.004	3	343	32	272	3 hrs	294	5	274

(3) 抽出オリザニン結晶 (注射);

0.0025	3	371	29	278	輕 減	285	2	264
0.0035	3	317	31	240	$\frac{1}{2}$ days	268	7	254
0.004	2	376	32	280	3 hrs	299	3	273
0.005	3	356	28	262	3 hrs	279	5	250

(4) 拾倍強力オリザニン注射液 (注射);

0.006 cc (=0.003 mg 鹽酸鹽結晶)	3	316	30	227	1 day	239	4	222
0.007 cc (=0.0035 mg 鹽酸鹽結晶)	2	348	32	256	$\frac{1}{2}$ day	279	3	235
0.008 cc (=0.004 mg 鹽酸鹽結晶)	3	350	29	257	3 day	274	3	255
0.01 cc (=0.005 mg 鹽酸鹽結晶)	2	325	29	255	3 day	283	7	250

*……………死。

總 括

上記比較試験の成績を總括すれば次の如し。

第 5 表 抗神経炎性效力の比較

品 名	白鼠の生長量 (mg)	鳩の Day-dose (mg)	鳩の治癒量 (mg)	國際單位 (mg)
(1) 國際標準吸着品;	10.000	11.000	20.000	10.000
(2) 合成ビタミン B ₁ 結晶;	0.002	0.0026	0.004	0.002
(3) 抽出オリザニン結晶;	0.002	0.0024	0.004	0.002
(4) 拾倍強力オリザニン注射液;	0.004 cc (=0.002 mg 鹽酸鹽)	0.0048 cc (=0.0024 mg 鹽酸鹽)	0.008 cc (=0.04 mg 鹽酸鹽)	0.004 cc (=0.002 mg 鹽酸鹽)

即ち合成ビタミン B₁ 鹽酸鹽結晶は米糠より抽出せる オリザニン鹽酸鹽結晶と略ぼ同一效力を有し、其 0.002 mg は國際標準吸着品 10 mg の有する效力即ち國際單位に相等す。亦拾倍強力オリザニン注射液 1 cc 中には 250 國際單位 (I. S. U.) を含有す。

終りに臨み懇篤なる指導を給はりたる鈴木梅太郎教授に感謝し、併て本試験材料を供給せられし三共株式會社に謝意を表す。尙鎌田勝氏早川隆雄氏は鳩の治癒試験に際し助力を與へられたるを以て茲に深謝す。(昭和十三年三月廿五日)。

Chart 1. The rat growth test with the adsorption product.

Chart 2. The rat growth test with the synthetic B_1 , proposed new standard.

Chart 3-a. The rat growth test with the natural B_1 ,
"Oryzanin" crystals isolated from rice polishings.

Chart 3-b. The rat growth test with the natural B₁, "Oryzanin" crystals isolated from rice polishings.

Chart 4. The rat growth test with the "Injectio Oryzanin Fortior" of Sankyo & Co.

Chart 5. The curative test with the standard adsorption product for pigeons, on the artificial diet (orally).

Chart 6. The curative test with the synthetic B_1 crystals for pigeons, on the artificial diet (by injection).

Chart 7. The curative test with the natural B_1 "Oryzanin" for pigeons, on the artificial diet (by injection).

Chart 8. The curative test with Injectio Oryzanin Fortior of Sankyo & Co. for pigeons, on the artificial diet (by injection).