9. 渡邊 武, 後藤 實, 石川一郎: 生薬中の微量成分の研究 (第4報*) 蜂蜜並びに
蜂蜜関係物中のアセチルコリンについて その1

Takesi Watanabe, Minoru Goto, and Ichiro Ishikawa: Minute Constituents
of Crude Drugs. IV. On Acetylcholine in Honey and
their Related Substances. (1).

(Research Laboratory, Takeda Pharmaceutical Industries, Ltd.**)

蜂蜜は栄養剤として広く用いられるが欧州では心臓病, 循環器疾患にも用いられる. 東洋医学でもこれらの疾患に対する蜂蜜の効果が神農本草経¹⁾, 名医別録²⁾ 等に記されている. Marquardt 等³⁾ は蜂蜜中に心臓に対する作用物質が含まれていることを認め, この物質がアセチルコリン (以下 AC) であると報告した.

著者等は日本産蜂蜜中に, 果して AC が含まれるかどうかをしらべる為めマグヌス法を用い蜂蜜溶液の添加によるリングル液中のモルモット小腸の収縮をしらべた. 数種の日本産蜂蜜についてこの実験を試みた結果, 同じ希釈率で比較的強く収縮を起すもの, 又は全く収縮を起させないものが存在し, 蜂蜜の種類によつてモルモット小腸の収縮度に相当大きな差のあることを認めた. この実験法では AC 以外にヒスタミン等数種の物質もモルモットの小腸を収縮させることが報告されている. 著者等は小腸収縮物質が果して AC によるものであるかどうか, 特にこの際混在が考えられるヒスタミンは含まれていないかどうかをしらべる為め, アトロピンの添加実験並びにペーパー・パーティションクロマトグラフィー (以下 PPC) による分離を試みた. 即ち比較的強く収縮を起させるレンゲサウを蜜源植物とする蜂蜜を試料とし, これらの実験を行つたところリングル液にアトロピンを添加した際には蜂蜜を加えても全く収縮は起らず, また PPC で蜂蜜の展開を行つた後 AC, ヒスタミンの Rf 値に相当する部分の収縮因子をしらべたところ AC の Rf 値に相当する部分にはリングル液中で小腸を収縮させる因子が存在するが, ヒスタミン及びその他の物質の Rf 値に相当する部分には収縮因子の存在は認められなかつた. これらの実験成績から日本産蜂蜜希釈液中のリングル液中におけるモルモット小腸収縮物質は AC 様物質でヒスタミン様物質は混在しないと考える. そこでそれぞれ条件のことなつた 1952 年採集の日本産蜂蜜 13 種についてマグヌス法で AC 様物質をしらべ平均含量 (AC 換算値) 10.3 γ /g を得た. 同じ方法で米国産の蜂蜜についてしらべたところ日本産蜂蜜中含量の多いものとほぼ等しい値を示した. AC 様物質の含量は蜜源植物の違いによつてそれぞれ異なつた値 (0~15 γ /g) を示すが同じ種類の植物から採集した蜂蜜中の含量は採集地が異なつても殆んど同じ値を示した. シナノキ, トチノキを蜜源とする蜂蜜には AC 様物質が殆んど含まれていないのは興味あることである.

蜂蜜の栄養的意義が蜂蜜中の微量成分にも基因すると考える時, 精製その他の加工による微量成分の損失が問題となる. 著者等は精製蜂蜜が1種の栄養剤として日本薬局方に収載されており, 且つ粗悪蜂蜜の精製が局方規定の吸着剤以外の吸着剤 (主として活性炭) で精製されていることから, ナタネナを蜜源植物とする蜂蜜を原料とし, 3種の吸着剤 (酸性白土, 白陶土, 活性炭) を用いそれぞれ精製蜂蜜を調製し, 原蜂蜜中の AC 様物質と精製蜂蜜中の AC 様物質の含量を比較した. その結果酸性白土を用いると AC 様物質の減少率は殆んど 100%, 白陶土は 50%, 活性炭は 91%を示した. この成績は AC に対する減少率を示すが, 精製による他の B 群の変化をニコチン酸, パントテン酸についてしらべたところ, どの方法を用いてもこれらの微量成分の損失はまぬがれず, ニコチン酸は 18~78%, パントテン酸は 14~18%の減少率を示した. これらの実験の結果どの吸着剤を用いても精製処理による微量成分の損失は免れないことが証明されたが, 精製処理による栄養的効果の増大は殆んど望まれず反つて効果的な微量成分が減少している精製蜂蜜を薬局方蜂蜜と別個に薬局方に収載することの可否は考慮すべきであると考ええる.

終りに本研究に御指導御鞭撻を与えられた朝比奈泰彦博士, 所長桑田 智博士に謹謝する. 野口友昭氏は終始本

* 第3報: 本誌 73, 841 (1953).

** Juso-nishino-cho, Higashiyodogawa-ku, Osaka.

1) 雷公 (集註) 神農本草経 (300).

2) 陶 公景: 名医別録 (500).

3) P. Marquardt, C. Vogg: Arzneimittel-Forschung 152 (1952).

研究に協力され, 大村栄之助氏, 乗田光郎氏, 今井京子氏等は生物実験に御指導御協力を与えられた。試験材料の大部分は岐阜市木方, 岸野, 松原の諸氏の協力によるものである。以上の方々に厚く感謝する。

実 験 の 部

マグヌス法による AC 様物質の検索 24 時間絶食させた正常発育モルモットを撲殺放血し小腸を取り出し, 盲腸上方 15 cm 附近のところを 2~3 cm 切り取りその両端に綿糸をつけ一方の端をマグヌス管の下方に固定し, 上端を杜撰に固定しリンゲル液 9 cc をマグヌス管に入れた際小腸の上端が液面の下 3 cm にあるようにし, リンゲル液 9 cc を入れ酸素を通じながら 20~30 分間自発運動を煤紙上に描記する。小腸の自発運動が一定になった後, 標準 AC クロリド溶液 ($0.02 \gamma/cc$, $0.03 \gamma/cc$, $0.1 \gamma/cc$) 1 cc を加え, ここに起る小腸の収縮度を記録する。次に蜂蜜 1.0 g を精秤し, リンゲル液で 300~1,000 倍に薄めたもの 1 cc を検液として加え, の溶液の添加による小腸の収縮度を標準 AC クロリドの添加による収縮度と比較して AC クロリド換算量を求める。その成績は Fig. 1 の通りである。

添加検液 1 cc 0~0.05 γ ...AC

No. 1	ナタネナ蜂蜜 (500 倍希釈)	No. 3	白陶土処理精製蜂蜜 (500 倍希釈)
No. 2	ジギタリス // (//)	No. 5	酸性白土 // (//)
No. 4	ミカン // (//)	No. 6	シナノキ蜂蜜 (//)

Fig. 1

アトロピンの添加による AC とヒスタミンの分離 先ずリンゲル液中に於ける AC, ヒスタミンの添加によるモルモット小腸の収縮度をしらべた後, リンゲル液にアトロピン $0.3 \gamma/cc$ を加え, 再び AC, ヒスタミンを加え AC の添加による収縮が消滅し且つヒスタミンによる収縮は起ることを確めた後, 蜂蜜の 10~100 倍希釈液 1 cc を加えた際の収縮度をしらべたがどの蜂蜜の添加によつても収縮は起らなかった。

PPC とマグヌス法とによる AC, ヒスタミンの分離 AC クロリド, ヒスタミンの一定量を東洋汙紙 No. 131 (40×2 cm) に塗布し, 酢酸・水・ブタノール (1:5:4) を展開溶剤として PPC を行つた後, AC はドラゲンドルフ試液で, ヒスタミンはコンヒドリン試液でそれぞれ呈色させ, AC クロリドの Rf 0.45, ヒスタミンの Rf 0.16 を得た。次にマグヌス法による試験の結果明らかに小腸の収縮を起させるレンジ蜜に 5 倍量のエタノールを加え, -40° に 48 時間冷却し, 大部分の糖類を析出させ取り除いた溶液を濃縮したものを汙紙に塗布し, 前記の条件で PPC を行つた後汙紙を Rf 0.1 毎に切り取り, 各切片を蒸留水で抽出して得た検液についてマグヌス法でしらべた所 AC の Rf に相当する部分の抽出液の添加によつては明らかに収縮を起すが, ヒスタミンの Rf に相当する部分或いはその他の部分には小腸の収縮をおこさせる因子の存在は認められなかった。

日本産蜂蜜中の AC 含量 以上の実験成績から蜂蜜中のモルモット小腸収縮因子は AC 様物質によると考えられるが, マグヌス法による定量成績 (AC 換算値) は Table I の通りである。

Table I

	主な蜜源植物	採集地	採集期	比重	AC 換算含量 (γ/g)
1	ナタネナ	岐阜市	1952年	1.371	12.5
2	レンゲサウ	市場品	"	1.381	12.5
3	ミカン	和歌山	"	1.436	15.0
4	ジギタリス	京都	"	1.40	12.5
5	アカシヤ	北海道	"	"	12.0
6	レンゲサウ	滋賀	"	"	12.0
7	トチノキ	岐阜	"	1.37	2.5
8	ミカン・カキ	大阪	"	1.39	10.0
9	ソバ	新潟	"	1.36	7.5
10	シナノキ	北海道	"	1.36	0.1
11	ホトツジ	長野	"	1.41	12.0

12	ナ タ ネ ナ	市 場 品	1 9 5 2 年	1.39	14.0
13	レ ン ゲ サ ウ	市 場 品	"	1.33	12.0
	平 均				10.3
14	シ ナ ノ キ	北 海 道	1 9 4 8 年		0
15	ト チ ノ キ	岐 阜	1 9 4 9 年		0
16	ク ロ ー バ (?)	米 国	不 明		14.0

精製蜂蜜の調製並びに B 群の検討

1. 吸着剤：酸性白土 第六改正日本薬局方記載の方法により調製した。
2. 吸着剤：白陶土 1 と同じ方法で調製した。
3. 吸着剤：活性炭 蜂蜜 4 分、水 6 分に活性炭 0.05 分を加え 5 分間振りまぜた後、活性炭を濾し去り以下 1 と同じ方法で調製した。

以上の精製蜂蜜について AC 様物質はマグヌス法で、パントテン酸、ニコチン酸様物質は microbiological assay でしらべ Table II の成績を得た。但し精製蜂蜜調製に用いた原蜂蜜中の AC 12 γ /g, パントテン酸 0.84 γ /g, ニコチン酸 1.0 γ /g である。

Table II

吸 着 剤	AC γ /g	減少率 %	パントテン酸 γ /g	減少率 %	ニコチン酸 γ /g	減少率 %
酸性白土	0	100	0.72	14.3	0.52	48
白陶土	6	50	0.69	18	0.32	18
活性炭	11	9.1	0.72	14.3	0.22	78

武田薬品工業株式会社研究所

Summary

Some acetylcholine-like substances from several kinds of domestic honey were examined by the Magnus method and by paper partition chromatography, and calculated value of 0.1~15 γ /g. (average, 10.3 γ /g.) was obtained. Honey with its source from *Tilia japonica* Sink. was found to contain practically no acetylcholine-like substance. The content of such substance in honey collected in different parts of the country was found to be approximately the same when the plant source of honey was of similar species. The content of vitamin B group in honey purified by Japanese acid clay, kaolin, or activated carbon was found to be extremely smaller than in the original honey.

(Received October 15, 1953)