その他で御指導御鞭撻を与えられた松川泰三博士、試料の採集に協力された木方勤之助、松原 繁、岸野憲逸の諸氏、終始実験に協力された後藤 実、石川一郎、野口友昭の諸氏に深謝する。

武田薬品工業株式会社研究所

Summary

In order to follow the course whereby acetylcholine appears in honey, honey bees were fed with sugar solution free from acetylcholine (glucose:fructose:water=3.5:3.5:3.0) and one added with 10 γ /cc. of acetylcholine chloride, shut off from outside influence. Honey that accumulated in a new comb was collected and the presence of acetylcholine was examined by the Magnus method in both cases. The honey from bees fed on simple sugar solution clearly indicated contraction of guinea pig intestine, the amount of contraction being equal to about 0.2 γ /cc. of acetylcholine. The one from bees fed on sugar solution containing acetylcholine showed a slightly stronger contraction than the former. From the present experimental results and those recorded in Part VIII of this series, it became clear that acetylcholine in honey is not derived from nectar of flowers or the pollens but is biogenetically formed in the honey bee itself and secreted into honey. Determination of acetylcholine in three different kinds of domestic Royal jelly by the paper chromatography and the Magnus method showed the content to be 1250~1625 γ /g., an average of 1500 γ /g., which is almost 100 times more than that in the honey. It was also confirmed that Royal jelly does not contain histamine and other factors which effects contraction of small intestine, acetylcholine being almost the only factor present.

(Received October 11, 1954)

26. 渡邊 武：生薬中の微量成分の研究（第10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4

Takesi Watanabe: Minute Constituents of

Crude Drugs. X. On Acetylcholine and Related Substances in Honey. (4).

(Research Laboratory, Takeda Pharmaceutical Industries, Ltd.)

前報で日本産蜂蜜ならびに王乳中のアセチルコリン（以下 AC）をマグヌス法でしらべた結果、これらの中の含量は一般に多く、特に女王蜂幼虫の餌である王乳中に極めて多く、幼虫の発育と AC との間に何等かの栄養的關係があるのではないかということとを推察したが、さらにこれらの関係を追究する目的で、ミツバチの幼虫と成虫との中の AC 様物質について検討した。産卵後 5~7 日の発育中の働き蜂幼虫、雄蜂幼虫を蜂房から取出し、流水中で良く洗った後、直ちに 94%エタノール中に浸漬し、氷室中に保存した後、乳鉢中ですりつぶし吸引濾過して抽出液を濾し取る。抽出液に 94%エタノールを加え、前と同様に処理しこの処理を数回繰返した後全部の抽出液を合せ減圧下に蒸留してエタノールを除き、エーテルで処理して脂肪分を除き 24 時間氷室中に置いた後、遠心分離して析出物を除き上澄液を減圧下に濃縮して検液とした。同じ方法でミツバチの成虫、スズメバチの成虫を処理しそれぞれ抽出液を得た。以上 4 種の抽出液すなわち、(1) 働き蜂幼虫抽出液 (2) 雄蜂幼虫抽出液 (3) 働き蜂成虫抽出液 (4) スズメバチ成虫抽出液について AC ならびにヒスタミンをマグヌス法でしらべた。

働き蜂幼虫中の AC ならびにヒスタミン 働き蜂幼虫 1g を上記の方法で処理し抽出液 9 cc を得た。この抽出液はリンゲル液中で明らかにモルモット小腸を収縮させ、その収縮度を AC クロリッドの標準液の収縮度にくら

べると 500 倍溶液 1 cc は 0.04 γ の AC クロリッドに相当し、又ヒスタミンの標準液の添加による収縮度にくらべると抽出液の 500 倍溶液 1 cc は 0.1 γ のヒスタミンに相当する。即ちこの抽出液中のモルモット小腸に対する収縮作用物質を全部 AC とすれば、抽出液 1 cc 中 20 γ の AC が含まれることになり、またヒスタミンと仮定すれば、抽出液 1 cc 中 50 γ のヒスタミンが含まれることになる。AC とヒスタミンのモルモット小腸に対する関係は第 4 報に述べた通りリンゲル液中では両者ともにモルモット小腸を収縮させるが、このリンゲル液にアトロピンの一定量を加えると AC の作用は一定の濃度ではあられわれず一方ヒスタミンの作用は失われない。上記の抽出液をアトロピン 3 γ /cc を加えたリンゲル液の中に加え、モルモット小腸の収縮をしらべたところ、500 倍溶液、100 倍溶液のいずれも小腸の収縮を起さず、10 倍溶液で僅かに収縮しその収縮はヒスタミンの 0.05 γ に相当する。この量から換算すると上記の抽出液 1 cc 中にヒスタミンが 0.5 γ 含まれていることになる。この定量に使った小腸は AC クロリッド 2 γ /cc 溶液をアトロピン添加のリンゲル液の中に加えると僅かながら収縮させる。

以上の実験結果からミツバチの働蜂幼虫中のモルモット小腸収縮作用物質は大部分 AC 様物質によるものであり、AC クロリッドに換算すると幼虫 1 g 中約 16 γ で、ヒスタミンはほとんど含まれず、アトロピン添加のリンゲル液中の作用物質を全部ヒスタミンとして換算しても 1 g 中 0.4 γ である。

ミツバチ雄蜂幼虫中の AC ならびにヒスタミン 雄蜂幼虫 35 g を前記の方法で処理し抽出液 16 cc を得た。この抽出液もリンゲル液中で明らかにモルモット小腸を収縮させ、その収縮度を AC クロリッドを標準にして換算すると、抽出液 1 cc 中 AC クロリッド 40 γ が含まれることになり、ヒスタミンを標準にして換算すると抽出液 1 cc 中 100 γ のヒスタミンが含まれることになる。この抽出液を働蜂幼虫の抽出液の場合と同様アトロピン添加のリンゲル液中で小腸の収縮をしらべると、小腸の収縮はほとんど起らず、抽出液の 10 倍溶液 1 cc の添加による収縮はヒスタミン 0.2 γ の収縮と同じである。以上の実験の結果雄蜂の幼虫においても、働蜂の幼虫と同様モルモット小腸を収縮させる物質はその大部分が AC 様物質によるもので、その含量は AC に換算して幼虫 1 g 中約 18 γ で働蜂幼虫中の含量と大差なく、またヒスタミンは幼虫 1 g 中 0.9 γ 以下である。

ミツバチ働蜂成虫中の AC ならびにヒスタミン 働蜂成虫 6.7 g を幼虫の場合と同様に処理して抽出液 4 cc を得た。この抽出液はリンゲル液中で明らかにモルモット小腸を収縮させ、その収縮度は AC クロリッドを標準にして換算すると 1 cc 中 40 γ となり、またヒスタミンに換算すると抽出液 1 cc 中 200 γ のヒスタミンが含まれていることとなる。この抽出液を前と同様アトロピン添加のリンゲル液中でしらべると、前記 2 種の幼虫の場合ともがつてアトロピンの添加によつてモルモット小腸の収縮は消失せず、2,000 倍溶液 1 cc の添加による収縮度は 0.07 γ のヒスタミンに相当する。この定量値から換算すると抽出液 1 cc 中には 140 γ のヒスタミンが含まれ、働蜂成虫 1 g 中のヒスタミン含量は 84 γ となり、幼虫の場合と異なり小腸収縮作用物質としてヒスタミンと AC 様物質の両者が含まれ、且つその割合はヒスタミンの方が遙かに多いと考えなくてはならない。

スズメバチ成虫中の AC ならびにヒスタミン スズメバチ成虫 1.2 g を前記の方法で処理し抽出液 2.2 cc を得た。この抽出液について (3) と同様の方法でしらべ、AC クロリッドに換算して 1 cc 中 30 γ 、ヒスタミンに換算して 1 cc 中 75 γ の値を得た。またアトロピン添加のリンゲル液中で定量して 1 cc 中 55 γ のヒスタミンを得た。即ちスズメバチ成虫の場合もミツバチ成虫と同様、ヒスタミン、AC 様物質の両者が含まれその割合はヒスタミンの方が多く考えられる。

以上 4 種の試料各 1 g 中の AC 様物質、ヒスタミンを表に示せば Table I の通りである。

このように幼虫中の小腸収縮物質はいずれも AC 様物質でヒスタミンの含量は AC にくらべて極めて少量である。これに反し成虫中の小腸収縮物質はヒスタミンと AC 様物質であるがヒスタミンの方が AC 様物質より多い。

Table I

	リンゲル液中の AC 換算値 γ /g	リンゲル液中の ヒスタミン換算値 γ /g	アトロピン添加リンゲル液 中のヒスタミン換算値 γ /g
1 働蜂幼虫	16.3	41.0	0.45
2 雄蜂幼虫	18.3	45.7	0.90
3 働蜂成虫	47.0	120.0	84.00
4 スズメバチ成虫	55.0	137.0	100.0

本研究に際し終始御指導御鞭撻を賜った朝比奈泰彦先生、武田研究所長桑田智博士、ならびに松川泰三博士に深謝する。滋賀県横山太作氏には試料の提供を受け、後藤 実氏、野口友昭氏は終始協力を得た併せて感謝する。

実 験 の 部

働蜂幼虫の処理 滋賀県大津市大石で飼育のミツバチについて 7 月中旬産卵发育中の幼虫をビンセットで取り出し、充分水洗ししたもの 11 g に 94%エタノール 30 cc を加え氷室中に 1 ケ月置いた後乳鉢中ですりつぶし、吸引濾過し抽出液を取り、抽出滓に 94%エタノール 15 cc を加え乳鉢中でりつぶし抽出液を取る。この操作を繰り返して抽出液が全くモルモット小腸を収縮させなくなる迄行う。全部の抽出液を合せ、減圧蒸留してエタノールを除き氷室中に置き、析出物を遠心分離して除き少量のエーテルで処理して脂肪分を除き減圧蒸留して 9 cc とする。

雄蜂幼虫の処理 働蜂と同じ巣箱で发育中の雄蜂幼虫 35 g を取り出し 94%エタノール 105 cc を加え、働蜂と同じ方法で処理して抽出液 16 cc を得た。

働蜂成虫の処理 8 月中旬大阪府吹田市千里山で飼育している成虫 6.7 g を取り、94%エタノール 20 cc を加え、幼虫と同じ方法で処理して抽出液 4 cc を得た。

スズメバチの成虫処理 8 月中旬千里山で得たスズメバチ 1.2 g に 94%エタノール 5 cc を加え幼虫と同様に処理して抽出液 2.2 cc を得た。

マグヌス法による定量 AC, ヒスタミンの定量ならびに AC とヒスタミンの分離定量は第 4 報の方法と同様に行つた。

武田薬品工業株式会社研究所

Summary

In connection with the presence of acetylcholine in honey and Royal jelly, the acetylcholine-like substance in the larvae and adult working and male bees was examined by the Magnus method. In the larvae, the majority was an acetylcholine-like substance, the amount being approximately 16 γ /g. as acetylcholine chloride in working bees and 40 γ /g. in male bees, practically without the presence of histamine. On the other hand, the amount of histamine in the adult working honey bee was 84 γ /g. and 100 γ /g. in the adult *Vespa mandarinia* Smith, the amount being larger than that of acetylcholine.

(Received October 11, 1954)

27. 渡邊 武：生薬中の微量成分の研究 (第 11 報*)

王乳中のビタミン B 群

Takesi Watanabe: Minute Constituents of Crude Drugs. XI.

On Vitamine B Group in Royal Jelly.

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

先に著者等は日本産花粉ならびに蜂蜜中の B 群について報告したが、蜂蜜中のビタミンがどのようにして含まれて来るかについては完全に解決し得なかつた。現在までにしらべた結果は通常花粉中の B 群は蜂蜜中の含量にくらべて著しく高いが、アセチルコリンは花粉にはほとんど含まれず王乳 (Royal jelly) には多量含まれていて、蜜蜂の生態において王乳は栄養上極めて重要な意義を持つものと考えられる。ミツバチは数千〜数万匹で一群を構成するが、群の大小を問わず一匹の女王蜂と多数の働蜂、少数の雄蜂とからなつていて、女王蜂、働蜂はいずれも雌性卵から発生し、雄蜂のみは雄性卵から発生する。産卵は一匹の女王蜂のみによつて行われ、働蜂は通常産卵しない。その発生状態を見るに巣箱中の巣脾 (Fig. 1) の各蜂房で産卵されると、働蜂房 (Fig. 1 b) 中に生み

* 第 5 回日本ビタミン学会総会講演 (1953 年)。