

健康食品に配合される*Cassia*属植物の鑑別

鈴木 幸子, 荒金 眞佐子, 吉澤 政夫, 北川 重美,
塩田 寛子, 岸本 清子, 森 謙一郎, 荻野 周三

Discrimination of *Cassia* Species in Health Teas and Dietary Supplements

Yukiko SUZUKI, Masako ARAGANE, Masao YOSHIZAWA, Shigemi KITAGAWA,
Hiroko SHIODA, Kiyoko KISHIMOTO, Ken'ichiro MORI and Shuzo OGINO

健康食品に配合されるCassia属植物の鑑別

鈴木幸子^{*1}, 荒金眞佐子^{*1}, 吉澤政夫^{*1}, 北川重美^{*1},
塩田寛子^{*2}, 岸本清子^{*3}, 森 謙一郎^{*3}, 荻野周三^{*4}

健康食品に配合されているCassia属植物カシア・アラタ (*C.alata*), カシア・コリンボサ (*C.corymbosa*) 及び医薬品のセンナ (*C.angustifolia*) の葉の粉末試料での鏡検による鑑別方法を検討した. この3種は次のような特徴的な要素で鑑別できる. すなわちカシア・アラタの短く真直ぐな単細胞毛, 表皮細胞の突起, 分岐のある葉脈断片, カシア・コリンボサの多細胞毛, 葉緑体のない縁の細胞, センナの厚膜の曲がった単細胞毛, 表皮細胞の形状, 分岐のない葉脈の断片等である. なお, カシア・アラタとセンナの葉からはセンノシドA, Bが検出されるが, カシア・コリンボサからは検出されない.

また, センナの葉, 茎, 果実各部位の粉末試料について, 鏡検による鑑別方法を検討したところ, 部位ごとにセンナ特有の単細胞毛の数に明らかな差を認める. よって, この単細胞毛の数と, 各部位に特徴的な組織を確認することは, 食品として認められているセンナ茎と医薬品であるセンナ葉, 果実の鑑別に有効である.

キーワード: 健康食品, 鏡検, 鑑別, カシア・アラタ *Cassia alata*, カシア・コリンボサ *C. corymbosa*, センナ *C.angustifolia*, センノシドA, センノシドB, 単細胞毛

はじめに

市販健康食品の茶剤からセンノシドA (以下SAと略す) 及びB (以下SBと略す) が検出され, センナ (小葉, 葉軸, 葉柄, 果実) やダイオウが認められる事例がある¹⁾. これらは医薬品の範囲に関する基準²⁾で「専ら医薬品として使用される成分本質 (原材料) 」 (以下「専ら医薬品」と略す) に該当し, 該当すれば医薬品とみなされ, 「無承認無許可医薬品」となる.

センナの小葉, 葉軸, 葉柄, 果実は「専ら医薬品」に該当するが, センナ茎は効能効果を標榜しない限り食品とされている. 健康食品の茶剤においてはセンナ茎と原材料表示がされていながら, センナ葉が混入されている場合が数多く報告されている³⁻⁴⁾. 粗い刻みの茶剤においては, センナ葉とセンナ茎は容易に鑑別できるが, 粉末状の茶剤等においては, 含有する成分特性の違いによる部位の特定も試みられている⁵⁻⁶⁾が, 難しいのが現状である.

今回, 「専ら医薬品」のリストに該当しないカシア・アラタ (以下アラタと略す), カシア・コリンボサ (以下コリンボサと略す) の表示がある茶剤や錠剤からSA, SBが検出された. これらにセンナが配合されている可能性も考えられるため, アラタとコリンボサの葉のSA, SB含量を分析すると共にセンナ葉との鑑別点を検討した.

また, 粉末状の茶剤等におけるセンナ葉・果実とセンナ茎の鏡検による鑑別方法も検討したので, 合わせて報告する.

実験方法

1. 供試材料

植物材料および生薬: Table 1に示した. H, M, K, L, N

はセンナ部位の鑑別のため鏡検に用いた. また, 当園で栽培した植物材料の花と葉の形態はFig. 1, Fig. 2に示した. 市販健康食品: 原材料に「カシア・アラタ」と表示がある茶剤, 「C. コリンボサ」と表示がある茶剤及び「対葉豆末」と表示がある錠剤 各1検体.

Table 1. Plant Materials and Crude Drugs

Scientific name	Part	Code	Origin
<i>Cassia alata</i>	Leaflet	A	Our Medicinal Plant Garden
		B	Market (Pot plant)
		C	Botanic Gardens of Indonesia
		D	Medicinal plant garden of Nihon university
		E	Medical Plant Garden of Hoshi University
<i>Cassia corymbosa</i>	Leaflet	F	Kyoto Medicinal Plant Garden of Takeda Pharmaceutical Company
<i>C. corymbosa</i> cv. <i>Andesu-no-otome</i>	Leaflet	G	Market (Pot plant)
<i>Cassia angustifolia</i>	Leaflet	H	Our Medicinal Plant garden
	JP Senna Leaf	I	Tokyo Market
	JP Powdered Senna Leaf	J	Tokyo Market
		M	Tokyo Market
	Stem	K	Our Medicinal Plant Garden
		L	Tokyo Market
	Fruits	N	Tokyo Market

2. 標準品及び試薬

SA及びSB標準品は, いずれも日本薬局方標準品を用いた. フォトダイオード・アレイ検出器付 (以下PDAと略す) LCの移動相にはHPLC用を, その他の試薬及び溶媒は特級品を用いた.

3. 装置

粉碎機は, サンプルミルTI-100 平工製作所製, HPLC/PDAは, 植物材料等にはACQUITY UPLC Waters社製, 健康食品にはAlliance HPLC System Waters社製, 実体顕微鏡は, 型式C-DSD115 Nikon製を, 光学顕微鏡は, 型式

^{*1} 東京都健康安全研究センター医薬品部医薬品研究科薬用植物園 187-0033 東京都小平市中島町 21-1

^{*2} 東京都健康安全研究センター医薬品部微量分析科 169-0073 東京都新宿区百人町 3-24-1

^{*3} 東京都健康安全研究センター医薬品部医薬品研究科, ^{*4} 東京都健康安全研究センター医薬品部

ECLIPSE80i Nikon製を用いた。

4. 鏡検による鑑別

1) 試料の調製

粉碎機で15秒間粉碎し、粉末試料とした。

2) 鏡検

(1) *Cassia*属植物の鑑別

植物材料や生薬の葉、茎、果実の表面の形状は実体顕微鏡8-80倍で観察した。

表皮細胞については、葉の表皮を剥ぎ取り、サフラニンで染色後同様に観察した。

粉末試料については、柄付き針の先ですくい取った試料約0.5 mg をスライドガラス上で精製水と混ぜた後、カバーガラスをかけ、100~400倍の顕微鏡で観察した。

(2) センナ部位の鑑別

センナ小葉H, 日局センナ末J, M, センナ果実N及びセンナ茎K, Lを(1)と同様に観察し、組織の違いを検討した。

次いで、単細胞毛の数を比較するため、(1)と同様にプレパラートを作成し、1枚のプレパラート上に見られる単細胞毛の形をスケッチし、長さを計測して同じものを数えないように注意しながら、観察可能な限りの単細胞毛の数を数えた(各試料10枚)。

5. SA, SBの定量

1) 標準溶液：SA及びSBの70%メタノール溶液。

2) 植物材料及び生薬等

試料溶液：粉末試料0.1~0.2 gを精秤し、70%メタノール12 mLを加え、30分振とう抽出する。遠心分離後上澄み液を取り、残渣に70%メタノール10 mLを加えて同様に操作し上澄み液をあわせたところへ、70%メタノールを加えて正確に25 mLとする。その一部を取り、孔径0.2 μ mのフィルターでろ過し、試料溶液とする。

HPLC条件：カラム ACQUITY UPLC[®] BEH-C18 (2.1 mm i.d.×50 mm, 1.7 μ m, Waters社製), カラム温度 40°C, 移動相 A液；水/アセトニトリル/リン酸 (900:100:1), B液；水/アセトニトリル/リン酸 (100:900:1), グラジエント条件；A:B=24:1 (0-2.8分)→A:B=4:1 (3.4分)→A:B=7:3 (3.8分)→A:B=1:24 (4.3分), 流量；0.6 mL/min, 保持時間；SA=3.3分, SB=2.4分, 注入量；3 μ L, 測定波長；200 - 400 nm, 定量は347 nmによる。

3) 市販健康食品

試料溶液：粉末試料1日当たりの摂取量の1/2~1/3を精秤

し、70%メタノール25 mL及び20 mLを加えて、植物材料と同様に操作し上澄み液をあわせたところへ、70%メタノールを加えて正確に50 mLとする。その一部を取り、孔径0.45 μ mのフィルターを通した溶出液を試料溶液とする。

HPLC条件：カラム *L-column* ODS (4.6 mm i.d.×250 mm, 5 μ m, 化学物質評価研究機構製), カラム温度；40°C, 移動相 A液；B液=93:7, 流量；1.0 mL/min, 保持時間；SA=39分, SB=17分, 注入量；10 μ L, 測定波長；200 - 400 nm, 定量は270及び347 nmによる。

結果及び考察

1. 鏡検による*Cassia*属植物の鑑別

センナH, I, アラタA, B, コリンボサF, コリンボサの品種アンデスの乙女Gの鏡検による鑑別点をFig.3に示した。センナでは葉表の表皮上にやや湾曲した単細胞毛が多数観察された (Fig.3 - 1) が、葉裏の表皮上には葉表より短い単細胞毛が密生していた。表皮細胞の観察では細胞の縁が直線的で、気孔が多数観察された (Fig.3 - 4)。センナ小葉Hの粉末やセンナ末J, Mでは、第15改正日本薬局方¹⁾の医薬品各条(生薬等)センナ末²⁾に記載されているように、多数の厚膜でやや湾曲し、表面にいぼ状のはん点がある単細胞毛や表皮細胞の断片が観察された。また、葉脈の断片には分岐が見られなかった。

アラタでは葉脈上や葉の縁に、基が太く先端に向かって急に細くなる鋭尖頭の短い単細胞毛 (Fig.3 - 2) があり、葉裏の表皮細胞の縁は波型であった。アラタの表皮細胞には気孔以外の円形のものが多数見られた (Fig.3 - 5) が、これは高梨ら⁸⁾が報告している葉肉部の乳頭状突起が表皮細胞上で円形にみえるものでアラタに特徴的であり、鑑別の指標となるものであった。アラタの粉末からも鋭尖頭の短い単細胞毛と気孔の間に多数の円形の突起が観察されるとともに、葉脈の断片に分岐が見られることがわかった。これはアラタの葉脈が強靱であり、粉碎したときに葉脈の分岐部分が残り易いと推測される。

また、コリンボサは品種により、葉の縁に長い多細胞毛 (Fig.3 - 1) がある系統と「アンデスの乙女」のように全く無毛の系統があった。表皮細胞の縁は直線~波型であり、気孔の形が他の2種より円形に近かった (Fig.3 - 6, 7)。また、コリンボサの葉の縁は白く見えるが、これは葉緑体のない細胞列がある (Fig.3 - 3) ため、鑑別の指標となることが分かった。

植物材料及び生薬のSA, SB含量はTable 2に示した。

Table 2. Contents (mg/g) of Sennoside A and Sennoside B in Leaves of Plant Materials and Crude Drugs

Name	Alata					Corymbosa		Senna	
Scientific name	<i>Cassia alata</i>					<i>Cassia corymbosa</i>		<i>Cassia angustifolia</i>	
Code	A	B	C	D*	E*	F	G	I	J
SA	6.2	3.0	4.9	3.4	2.1	ND	ND	5.2	4.3
SB	10.4	4.6	9.5	5.7	3.5	ND	ND	8.4	5.9
Total	16.6	7.6	14.4	9.1	5.6	ND	ND	13.6	10.2

* : 1 year-old -plant, ND: not detected

センナ及びアラタの葉からはいずれもSA, SBが検出された。アラタの葉からはTotal 5.6~16.6 mg/g が検出され、A及びC系統では日局センナと同程度の含量であったが、コリンボサ2系統からはSA, SBが検出されなかった。

植物材料、生薬の鏡検による鑑別法を市販健康食品に適用した結果及びSA, SB含量はTable 3に示した。市販健康食品のすべてからSA, SBが検出されたが、センナの特徴的な組織は認められず、すべてにアラタの単細胞毛 (Fig.4 - 1, 3, 6), 分岐のある葉脈 (Fig.4 - 4), 表皮細胞の突起 (Fig.4 - 2, 5) 等特徴的な組織が認められ、アラタの刻みまたは粉末が混合されていることが分かった。

また、今回検査した錠剤には、1錠当たりの含量は低い、表示の1日摂取目安量に従うと、下剤としてのセンノシド製剤1日量に該当するSA, SBが含有されていた。

Table 3. Results of Microscope Examination and Contents of Sennoside A and Sennoside B in Commercial Health Teas and Dietary Supplements

Materials name	<i>Cassia alata</i>	<i>C. corymbosa</i>	Tuibamame powder
Form	Mixture health tea (tea bag)	Mixture health tea (tea bag)	Tablet
Observation of components under a microscope	Leaves of Alata in strips (unicellular hairs of Alata, branching vein)	Unicellular hairs of Alata, papilla of epidermal cell, branching vein in powder	Unicellular hairs of Alata, papilla of epidermal cell, branching vein in powder
SA	2.2 mg/Pack	0.7 mg/Pack	0.1 mg/Tab.
SB	1.9 mg/Pack	0.9 mg/Pack	0.2 mg/Tab.
Total	4.1 mg/Pack	1.6 mg/Pack	0.3 mg/Tab.
Recommended intake/1day	1~2 Pack	No comment	30~60 Tablets

2. センナ部位の鑑別

センナの葉H, 茎K, L, 果実Nの粉末試料の鏡検の結果、葉には日局センナ末の条に記載されている単細胞毛 (Fig.5 - 4), 気孔が多い表皮細胞 (Fig.5 - 5), 葉脈の結晶細胞列 (Fig.5 - 6) が観察されたが、茎には葉に見られない厚膜組織 (Fig.5 - 3) や多量のデンプン粒 (Fig.5 - 2) が観察された。果実には葉や茎で見られない内果皮の繊維 (Fig.5 - 8) や種皮の断片 (Fig.5 - 9) が観察された。

また、単細胞毛は葉、茎 (Fig.5 - 1), 果実 (Fig.5 - 7) に見られるが、部位によりその数が異なることが分かった。そこで、葉H、茎K, L, 果実Nの粉末試料及びセンナ葉の粉碎物である日局センナ末J, Mの各々プレパラート当たりの部位別単細胞毛数を計測し、最小と最大の数と平均値をTable 4に示した。

茎K, Lでは平均0.7本であったのに対し、葉Hでは16.1本、センナ末J及びMでは17.0本及び20.6本と明らかな違いがあることが分かった。果実Nでは3.5本と茎と葉の中間的な数であった。

健康食品として市販されている茶剤は数種から十数種の植物の混合物の場合が多いので、葉と茎の組織に違いがあ

っても他の植物に普遍的な組織では鑑別が難しいが、センナの単細胞毛はセンナに特有な組織のため、混合物内でも鑑別は可能である。単細胞毛数計測と特徴的な組織の鏡検を組み合わせることで、粉末状の健康食品においてもセンナ葉とセンナ茎の鑑別が可能になると思われる。また、石井ら⁵⁻⁶⁾が報告しているaloe-emodinを指標とする方法やLC/PDAによるパターン分析を併用して成分面からの検討を加えることにより、更に精度を高めて鑑別できると考えている。

Table 4. Number of Unicellular Hairs in Powder of Each Parts of Senna

Part	Senna Leaf	JP Powdered Senna Leaf	Senna Stem	Senna Fruits
Code	H	J M	K L	N
Average (n=10)	16.1	17.0 20.6	0.7 0.7	3.5
Min.-Max.	11-22	8-25 12-35	0-4 0-2	2-8

ま と め

市販健康食品の試験検査を行い、SA, SBが検出された場合、これまで医薬品のセンナ、ダイオウまたは食品のセンナ茎が想定されたが、今回、アラタからもSA, SBが検出されたことにより、鏡検による原材料植物の鑑別が更に重要であることがわかった。

鏡検により、アラタ、コリンボサ及びセンナは単細胞毛または多細胞毛、表皮細胞の形状等を指標とすることで鑑別でき、本指標は粉末状の健康食品を鑑別する際にも応用できることが明らかとなった。

センナの部位別による鑑別では、プレパラート（粉末試料約0.5 mg）当たりに観察される単細胞数を計測したところ、部位によりその数に大きな差があり、葉（センナ末を含む）では平均16.1本以上、センナ茎では1本以下であった。この単細胞毛はセンナ特有の組織であり、他の植物との混合物でも鑑別が可能であった。この単細胞毛数と茎に見られる厚膜組織、葉に見られる気孔の多い表皮細胞や葉脈の結晶細胞列、果実に見られる繊維や種皮の断片等各部位に特徴的な組織の観察を組み合わせることで原材料中のセンナの部位を鑑別することが可能であった。

謝辞 植物材料を提供していただいた日本大学薬学部、星薬科大学、(株)武田薬品工業の各薬用植物園とアラタの鏡検についてご指導いただいた昭和薬科大学高野昭人准教授に深謝いたします。

(本研究の概要は第45回全国衛生化学技術協議会年会平成20年11月において口頭発表した。)



Fig.1. Flowers of Plant Materials Cultivated in Medicinal Plant Garden, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

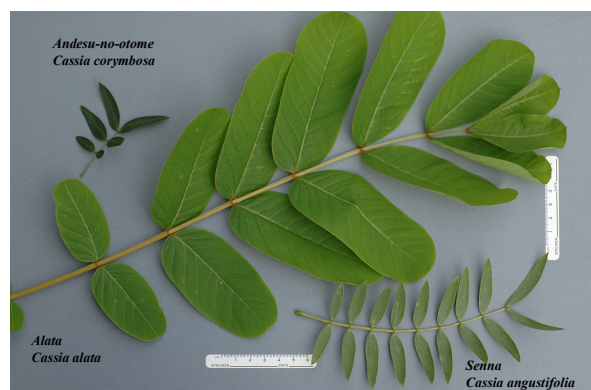


Fig. 2. Leaves of Plant Materials Cultivated in Medicinal Plant Garden, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

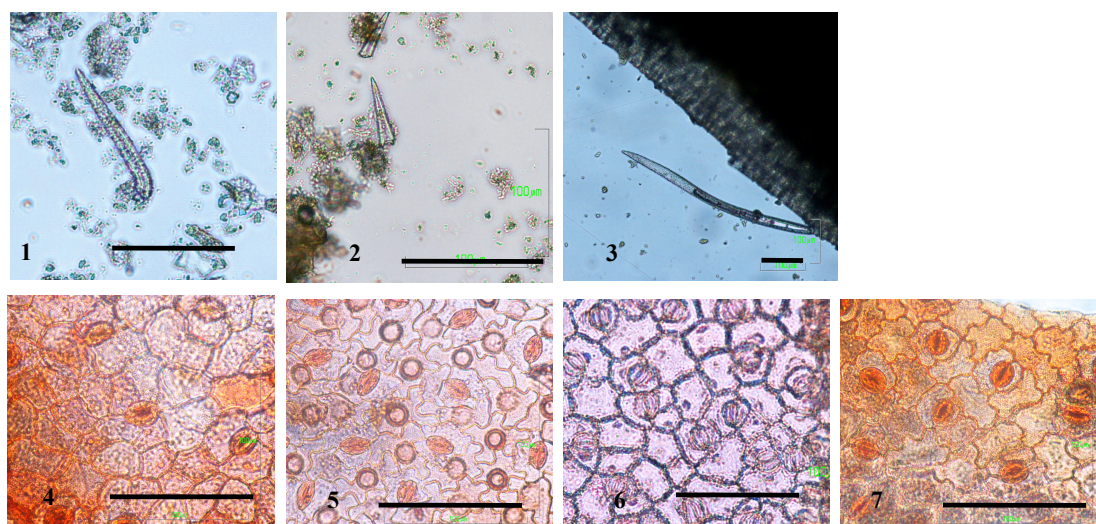
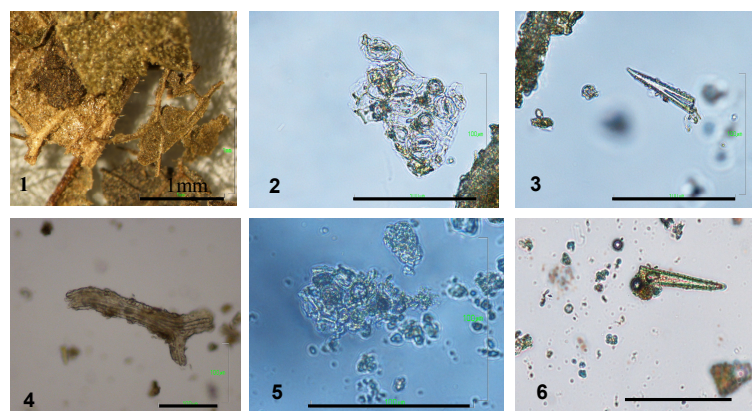


Fig.3. Characteristic tissues of Alata, Corymbosa, and Senna of Leaves under a Microscope

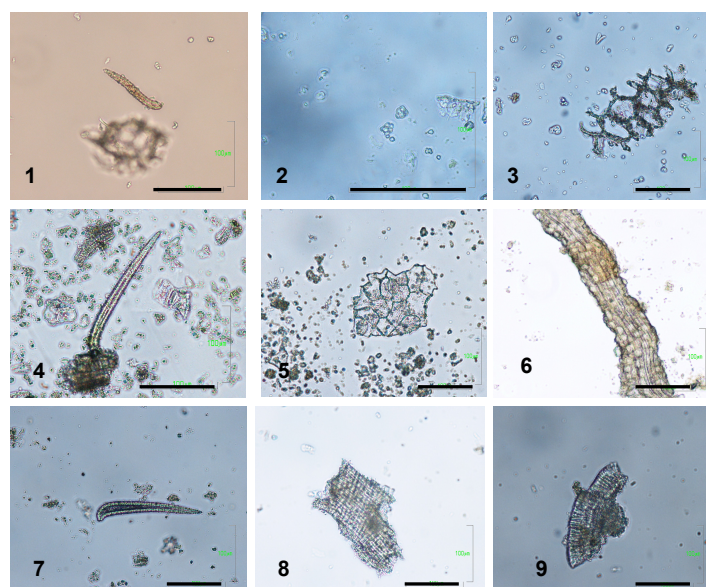
1 A unicellular of Senna, 2 A unicellular of Alata, 3 A multicellular of Corymbosa, 4 Epidermal cells of Senna, 5 Papillae of epidermal cells of Alata, 6 Epidermal cells of Corymbosa, 7 Epidermal cells of Corymbosa Andesu-no-otome



- 1 Strips in a health tea of materials name “*Cassia alata*”
- 2 Papillae of epidermal cells in a health tea of materials name “*C. corymbosa*”
- 3 A unicellular in a health tea of materials name “*C. corymbosa*”
- 4 A branching vein in tablets of materials name “*Tuibamame powder*”
- 5 Papillae of epidermal cells in tablets of materials name “*Tuibamame powder*”
- 6 A unicellular in tablets of materials name “*Tuibamame powder*”

Scale: 1=1 mm, 2-6= 100 µm

Fig.4. Components of Alata in Commercial Health Tea and Dietary Supplements under a Microscope



- 1 A unicellular of Senna stem (L)
- 2 Starch grains of Senna stem (L)
- 3 Sclerenchyma of Senna stem (L)
- 4 A unicellular of Senna leaf (H)
- 5 Epidermal cells of Senna leaf (H)
- 6 A vein tissue accompanied with crystal cell rows of Senna leaf (H)
- 7 A unicellular of Senna fruits (N)
- 8 Fibers of endocarp of Senna fruits (N)
- 9 A fragment of seed-coat of Senna (N)

Scale: 100 µm

Fig.5. Characteristic Components in Powdered Senna Leaves, Stems, and Fruits under a Microscope

文 献

- 1) 瀬戸隆子, 塩田寛子, 佐藤かな子, 他: 衛生化学, **44**, 195-203, 1998.
- 2) 厚生省薬務局長通知 “無承認無許可医薬品の指導取り締まりについて” 薬発第476号, 昭和46年6月1日.
- 3) 小島尚, 岸美智子, 関田節子, 他: 食薬誌, **41**, 303-306, 2000.
- 4) 石井俊靖, 宮元文雄, 長谷川貴志, 他: 千葉衛研報告, **27**, 6-13, 2003.
- 5) 石井俊靖, 宮元文雄, 長谷川貴志, 他: 生薬学雑誌, **60**, 32-38, 2006.
- 6) 石井俊靖, 西條雅明, 長谷川貴志, 他: 第45回全国衛生化学技術協議会年会講演要旨集, 205-206, 2008.
- 7) 第15改正日本薬局方解説書, D-394-396, 2006.
- 8) 高梨真樹, 酒井英二, 飯沼宗和, 他: 日本生薬学会第55回年会講演要旨集, 198, 2008.

Discrimination of *Cassia* Species in Health Teas and Dietary Supplements

Yukiko SUZUKI*, Masako ARAGANE*, Masao YOSHIZAWA*, Shigemi KITAGAWA*,
Hiroko SHIODA**, Kiyoko KISHIMOTO**, Ken'ichiro MORI** and Shuzo OGINO**

We performed a microscopic examination of the morphological differences among powdered leaves of *Cassia alata* (Alata), *C. corymbosa* (Corymbosa), and *C. angustifolia* (Senna) mixed with health teas and dietary supplements. It was possible to distinguish these three species by their following characteristics: short straight unicellular hairs, papillae of epidermal cells, and branching vein tissue in Alata; multicellular hairs and edge cells without chloroplasts in Corymbosa; and thick-walled-bent-unicellular hairs, straight epidermal cell wall, and non-branching vein tissue in Senna. Sennoside A and B were detected in Alata and Senna leaves.

Using a microscope, we were able to detect clear differences in the number of unicellular hairs among powdered Senna parts (leaves, fruits, and stems). Furthermore characteristic components were found in each Senna part. Stems (a food part) are distinguished from leaves and fruits (medicinal parts) by the number of unicellular hairs and characteristic components.

Keywords: health tea, dietary supplement, microscopic examination, discrimination, *Cassia alata*, *Cassia corymbosa*, *Cassia angustifolia*, Sennoside A, Sennoside B, unicellular hair

* Medicinal Plant Garden, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
21-1, Nakajima-cho, Kodaira-shi, Tokyo 187-0033 Japan

** Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073 Japan