

センノシドが検出された健康食品の植物鑑別及び理化学試験結果 (2017年度～2021年度)

茂木 友里^a, 鈴木 淳子^a, 清水 聖子^a, 丸山 祐可^a, 高橋 美佐子^a, 浦出 朋子^a, 中村 耕^a,
斎藤 巖利^a, 瀬戸 隆子^a, 塩田 寛子^a, 中嶋 順一^b, 鈴木 俊也^a, 守安 貴子^c, 猪又 明子^d

2017年度から2021年度にかけて市場に流通していた健康食品について、センナの植物鑑別及びその含有成分であるセンノシドA (SA) 及びセンノシドB (SB) の試験を行った結果を報告する。SA及びSBが検出された製品は13製品であった。このうち、センナ茎あるいはハネセンナに係る表示がある製品は12製品であった。一方、センナあるいはハネセンナに係る表示がない製品は1製品であった。これら13製品について、実体顕微鏡及び低真空走査電子顕微鏡による植物鑑別試験並びにフォトダイオードアレイ検出器付液体クロマトグラフィー (LC/PDA) による定性及び定量試験を行った。必要に応じて薄層クロマトグラフィー、LC/PDA及び質量分析計付液体クロマトグラフィーによるセンナ葉の確認試験を行った。その結果、センナ茎あるいはハネセンナに係る表示のある12製品においてはセンナの薬用部位を認めなかった。一方、センナあるいはハネセンナに係る表示のない1製品において医薬品に該当するセンナ葉を認めた。

キーワード：健康食品，センナ葉，センノシド，植物鑑別，LC/PDA，TLC，LC/MS

はじめに

日本薬局方 (JP) センナはチンネベリ・センナ (*Cassia angustifolia* Vah) またはアレキサンドリア・センナ (*C. acutifolia* Delile) の小葉であり、センノシドを含有する。センノシドは、医薬品であるダイオウにも含有され、瀉下作用を有する成分である。食薬区分¹⁾においては、センナの果実・小葉・葉柄・葉軸は医薬品と規定され、健康食品に使用することは禁止されている。一方で、センナの茎は非医薬品とされている。しかし、センナの茎にもセンノシドが含まれることが明らかになっている²⁾。

センナの同属植物であるハネセンナ (学名：*C. alata*, 別名：カシア・アラタ、キャンドルブッシュ、ゴールデンキャンドル) は食薬区分において医薬品に分類されていないが、センナと同様にセンノシドを含有し³⁾、独立行政法人国民生活センターから、ハネセンナを含む健康食品の過剰摂取に関する注意喚起がされている⁴⁾。

東京都では健康食品の流通実態調査を行っており、瘦身効果等を示唆する茶葉状の健康食品については、センナ及びダイオウの植物鑑別試験並びにセンノシドA (SA) 及びセンノシドB (SB) の定性及び定量試験を行っている。本報では、2017年度から2021年度までの5年間に市場に流通していた健康食品の中から、SA及びSBを検出した茶葉状の健康食品について、試験結果を報告する。

実験方法

1. 試料

2017年度から2021年度までの5年間に当センター健康危

機管理情報課が試買した健康食品の中から、SA及びSBを検出した茶葉状の健康食品13製品を対象とした。

2. 標準品

植物鑑別には、チンネベリ・センナ及びハネセンナ (いずれも東京都薬用植物園所有の生薬標本) を用いた。フォトダイオードアレイ検出器付液体クロマトグラフィー (LC/PDA) 及び質量分析計付液体クロマトグラフィー (LC/MS) には、SA及びSB (いずれも一般財団法人医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団製) を用いた。薄層クロマトグラフィー (TLC) には、チンネベリ・センナ及びアレキサンドリア・センナ (いずれも当センター所有の生薬標本) 並びにJPセンナ末 (株式会社栃本天海堂製) を用いた。

3. 試薬

試料溶液の調製には、メタノール (HPLC 用) を用いた。LC/PDA の移動相には、アセトニトリル (HPLC 用)、臭化テトラ-*n*-ヘプチルアンモニウム (イオンペア-クロマト用、ナカライテスク株式会社製)、酢酸及び酢酸ナトリウム (いずれも特級試薬) を用いた。LC/MS の移動相には、0.1%ギ酸水溶液及び0.1%ギ酸アセトニトリル溶液 (いずれもLC/MS 用) を用いた。TLC の展開溶媒には、酢酸エチル (特級試薬) 及びメタノール (HPLC 用) を用いた。TLC の検出にはアンモニア水 (医薬品試験用) 及び2,6-ジクロロキノロン-4-クロロイミド (東京化成工業株式会社製) を用いた。以上の試薬は、付記したものを除き、富士フイ

^a 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部医薬品研究科

169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部環境衛生研究科

^c 当時：東京都健康安全研究センター薬事環境科学部

^d 東京都健康安全研究センター薬事環境科学部

ルム和光純薬工業株式会社製を用いた。

4. 試料溶液の調製

1) SA及びSBの定性及び定量試験

試料は粉碎機 T1-100 (平工製作所製) を用いて粉碎し粉末とした。粉末にした試料を精密に量り、薄めたメタノール (7→10) 25 mLを加え20分間振とうした後、10分間超音波処理により抽出をした。この液を遠心分離機 H-40α (株式会社コクサン製) を用いて遠心分離 (毎分3000回転, 5分間) し、上澄液を分取した。さらに残渣について、薄めたメタノール (7→10) 20 mLを加えて、振とう抽出以降と同じ操作を行った。2つの上澄液を合わせ、薄めたメタノール (7→10) を加えて正確に50 mLとした後、0.45 μmのメンブランフィルターでろ過して試料溶液とした。

2) センナ葉の確認試験

センナ葉を検出した製品について行った。

(1) TLC 試料からセンナ葉のみを取り出し、乳棒乳鉢を用いて粉碎した。これにメタノール0.5 mLを加え15分間振とうした後、さらに15分間超音波処理により抽出をした。抽出液を遠心分離 (毎分3000回転, 5分間) し、上澄液を試料溶液とした。

(2) LC/PDA及びLC/MS 試料からセンナ葉のみを取り出し、乳棒乳鉢を用いて粉碎した。これに薄めたメタノール (7→10) を加え5 mLとし、20分間超音波処理により抽出した。抽出液を適宜、薄めたメタノール (7→10) で希

釈し、0.20 μmのメンブランフィルターでろ過した液を試料溶液とした。

5. 試験方法

1) 植物鑑別

試料を18号 (目開き850 μm) のふるいに通し、ふるい上に残留した画分について組織ごとに分類した。その外部形態を目視、実体顕微鏡 Nikon SMZ18 (株式会社ニコンソリューションズ製) 及び低真空走査電子顕微鏡 (低真空SEM) Miniscope TM3000 (株式会社日立ハイテクノロジーズ製) で観察した。

2) SA及びSBの定性及び定量試験

LC/PDAにより、表1に示す装置及び条件で行った。

3) センナ葉の確認試験

(1) TLC Lemliらの方法⁵⁾に基づき行った。酢酸エチル/メタノール/水混液 (100 : 17 : 10) を用いて展開した後、2,6-ジクロロキノロン-4-クロロイミドのメタノール溶液 (1→1000) を噴霧し、アンモニアガス中に1分間放置して、呈色スポットの有無を確認した。薄層板はSilica gel 60 F254 (MERCK株式会社製) を用いた。

(2) LC/PDA 表1に示す装置及び条件で行った。

(3) LC/MS 表2に示す装置及び条件で行った。

結果及び考察

1. 製品の原材料名の表示及び植物鑑別の結果

各製品の原材料名の表示及び植物鑑別の結果について表3に示す。

表1. LC/PDAによる分析条件

装置	LC-20A (株式会社島津製作所製) Alliance e2695 (Waters株式会社製)
カラム	L-column ODS (4.6×250 mm, 5 μm) L-column2 ODS (4.6×150 mm, 5 μm) (一般財団法人化学物質評価研究機構製)
移動相	A 水/アセトニトリル/酢酸混液 (95 : 5 : 1) B 水/アセトニトリル/酢酸混液 (5 : 95 : 1) C 薄めたpH 5.0の1 mol/L酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 (1→10) /アセトニトリル混液 (8 : 2) 1000 mLに臭化テトラ- <i>n</i> -ヘプチルアンモニウム2.45 gを加えて溶かした液 D 薄めたpH 5.0の1 mol/L酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液 (1→10) /アセトニトリル混液 (6 : 4) 1000 mLに臭化テトラ- <i>n</i> -ヘプチルアンモニウム2.45 gを加えて溶かした液 条件1 A/B混液 (9 : 1) 条件2 C/D混液 (2 : 3) 条件3 C/D混液 (3 : 2)
測定波長	200-400 nm
解析波長	268 nm
カラム温度	40°C
流速	1 mL/min
注入量	10 μL

表2. LC/MSによる分析条件

LC条件	
装置	ACQUITY UPLC (Waters株式会社製)
カラム	ACQUITY UPLC HSS C18 (2.1×150 mm, 1.8 μm, Waters株式会社製)
移動相	A 0.1%ギ酸水溶液 B 0.1%ギ酸アセトニトリル溶液 グラジエント条件 (0 min→0.5 min : A99%) → (0.5 min→6.85 min : A99%→10%) → (6.85 min→8.85 min : A10%→1%)
カラム温度	40°C
流速	0.6 mL/min
注入量	1 μL
MS条件	
装置	ACQUITY TQD (Waters株式会社製)
イオン化法	ESI (-)
ソース温度	150°C
デゾルベーション温度	400°C
ガス流量	N ₂ 550 L/hr
コーンガス流量	N ₂ 50 L/hr
コーン電圧	60 V
マスレンジ	<i>m/z</i> 100-1000

表3. 製品の原材料名の表示及び植物鑑別の結果^{a)}

製品No.	原材料名の表示	鑑別結果 ^{b)}
1	バンシヤクキ (食用センナの茎)	—
2	バンシヤクキ (食用センナの茎)	センナ茎
3	センナ茎エキス (センナ茎エキス、デキストリン)	—
4	センナの茎	センナ茎
5	ゴールデンキャンドル	ハネセンナ
6	キャンドルブッシュ	ハネセンナ
7	キャンドルブッシュ	ハネセンナ
8	キャンドルブッシュ (インド・イントネシア)	ハネセンナ
9	カッシア・アラタ	ハネセンナ
10	センナ太茎 (食用部位), カッシーア・アラタ	センナ茎, ハネセンナ
11	センナ太茎 (食用部位), カッシーア・アラタ	センナ茎, ハネセンナ
12	センナ太茎 (食用部位), カッシーア・アラタ	センナ茎, ハネセンナ
13	表示なし	センナ茎, センナ葉

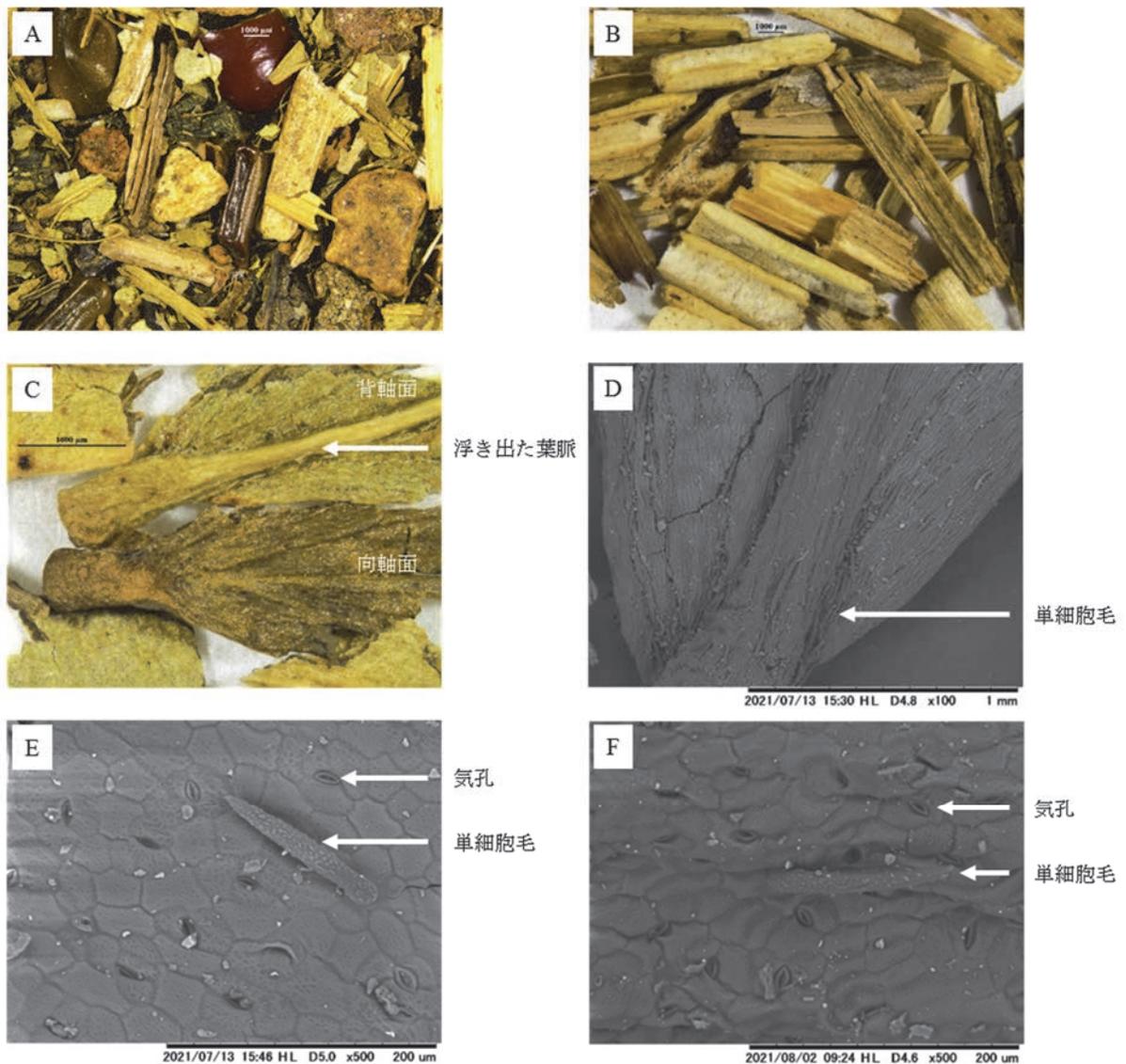


図1. 製品 No.13 の顕微鏡写真

A: 植物片の混合物, B: センナ茎, C: センナ葉, D, E: センナ葉の背軸面の表皮, F: センナ葉の向軸面の表皮

1) 製品の原材料名の表示

13製品すべてにおいて、原材料名の表示があった。このうち、センナ茎あるいはハネセンナ（別名を含む）に係る表示がある製品は12製品（製品No.1～12）であった。センナあるいはハネセンナに係る表示がない製品は1製品（製品No.13）であった。すべての製品において、センナの薬用部位（小葉，果実等）及びダイオウを表示する製品はなかった。

2) 植物鑑別

センナ茎あるいはハネセンナに係る表示があった12製品では、製品No.1, 3を除く製品において、表示どおりにセンナ茎及びハネセンナを認めた。製品No.1, 3ではセンナ茎に係る表示があったが、センナ茎を認めなかった。製品No.3ではセンナ茎エキスとの表示であることから、センナ茎の浸出液を加えている可能性が考えられる。また、12製品すべてにおいて、18号のふるい上に残留する植物片からはセンナの薬用部位を認めなかった。

センナあるいはハネセンナに係る表示がない製品No.13の顕微鏡写真を図1に示す。内容は細かく刻まれた数種の植物片の混合物であった（図1, A）。外部形態を詳細に観察した結果、センナ茎を認めた（図1, B）。また、淡灰黄色～淡灰黄緑色を呈し、浮き出た葉脈を伴うセンナ特有の形態を持つ葉片が認められた（図1, C）。さらに、この葉片について低真空SEMを用い観察した結果、表皮上にやや湾曲した単細胞毛（図1, D-F）及び多数の気孔（図1, E-F）が観察された。単細胞毛は特に小葉の基部付近に多く見られた（図1, D）。これは、センナ葉の特徴^{3,6)}と一致

し、比較に用いた標準品の特徴とも一致した。以上の結果から、製品No.13には食薬区分において医薬品に該当するセンナ葉が含有されることが明らかとなった。

センナと同様にSA及びSBを含むダイオウは、18号のふるい上に残留する植物片において、いずれの製品にも認められなかった。

2. SA及びSBの定性及び定量試験

1) 分離条件の検討

SA及びSBと夾雑物との分離条件について検討した。フローチャートを図2に示す。まず、条件1で分析を行った結果、5製品においてSA及びSBともに他成分と分離できることを確認できたが、他製品では夾雑物が重なり分離できなかった。次に、条件1で分離できない製品について、条件2で分析を行った。さらに、条件2でも分離できない製品について、条件2から移動相の比率を変更した条件3で分析を行った。条件2及び3では、JPセンナの定量法⁹⁾の条件を参考に、装置内で混合して有機溶媒の比率を検討した。製品によっては夾雑物が重なり分離できないことがあるため、条件1～3の方法を組み合わせる必要があることが分かった。

2) 試験結果

定性試験では、すべての製品でSA及びSBとそれぞれ保持時間及びUVスペクトルが一致するピークを確認した。

定量試験結果について、センナ茎のみの表示があった4製品を表4に、ハネセンナのみの表示があった5製品を表5に、両方の表示があった3製品を表6に、表示がなくセ

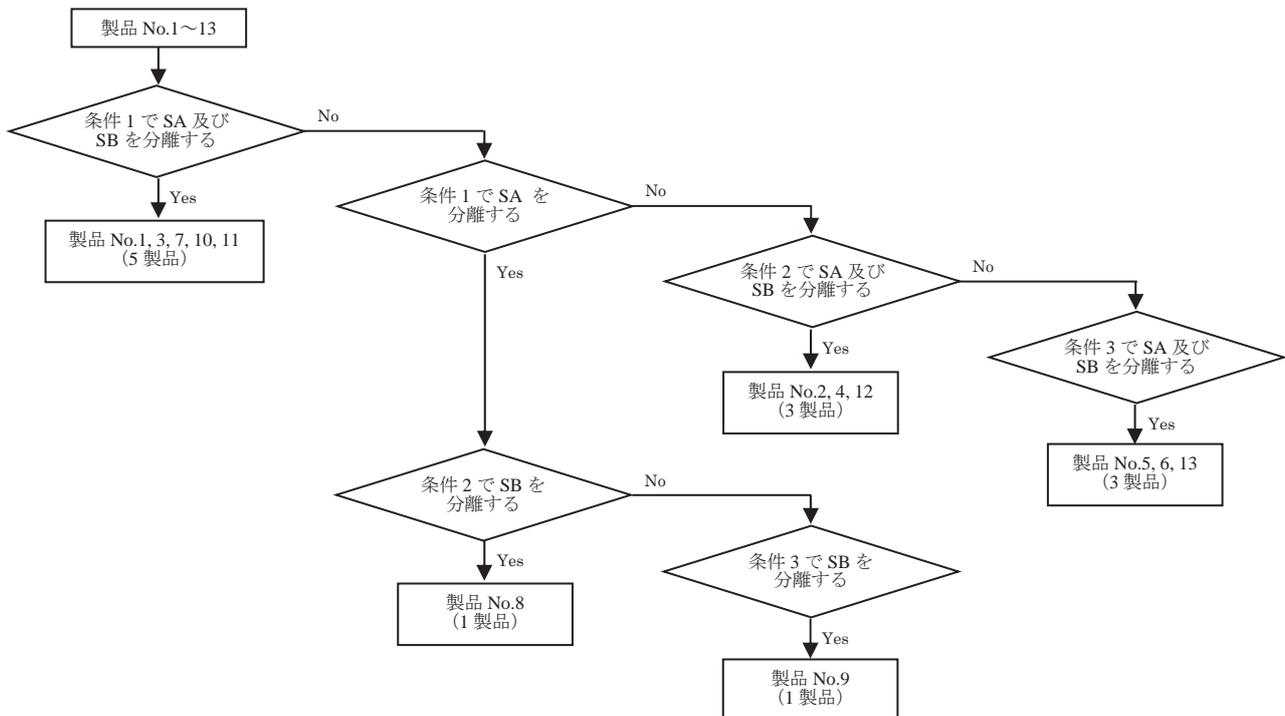


図2. 分離条件の検討フローチャート

センナ葉を認めた1製品を表7に示す. SA及びSBの合計値は, センナ茎のみの表示があった製品では0.24~1.60 mg/g, ハネセンナのみの表示があった製品では0.51~3.23 mg/g, 両方の表示があった製品では 0.63~2.21 mg/g, 表示がなくセンナ葉を認めた1製品では0.18 mg/gであった. SA及びSBの合計値を1包中の量に換算すると, 0.8~11.4 mgと製品によって差があった. 医療用医薬品集⁷⁾によると, センノシドの薬用量は12~24 mg/日とされている. 1包で薬用量に近い量のセンノシドを含有する製品も存在しており, 今後も継続して調査する必要があると考える.

3. センナ葉の確認試験

植物鑑別により医薬品に該当するセンナ葉を認めた製品 No.13について, センナ葉のみを取り出し確認試験を行った.

TLC分析により基原植物を調べた. 結果を図3に示す. 製品No.13, JPセンナ末及びチンネベリ・センナでは, Rf値0.4付近に青色のスポットを認めた. このスポットは, Lemliらの報告⁵⁾によるとチンネベリ・センナに特徴的に現れるとされている. 一方, アレキサンドリア・センナではこのスポットを認めなかった. 以上のことから, 製品 No.13から取り出したセンナ葉はチンネベリ・センナの葉である可能性が示唆された.

表4. 製品No.1~4 (センナ茎の表示があった製品) の定量結果

製品No.	含有量 (mg/g)			含有量 (mg/包)
	SA	SB	SA+SB	SA+SB
1	0.41	0.52	0.93	1.9
2	0.43	0.79	1.22	2.7
3	0.72	0.88	1.60	2.5
4	0.10	0.14	0.24	0.8

表5. 製品No.5~9 (ハネセンナの表示があった製品) の定量結果

製品No.	含有量 (mg/g)			含有量 (mg/包)
	SA	SB	SA+SB	SA+SB
5	0.79	0.95	1.74	9.0
6	0.75	0.92	1.67	6.9
7	0.51	1.04	1.55	3.7
8	1.04	2.19	3.23	7.1
9	0.19	0.32	0.51	2.1

表6. 製品No.10~12 (センナ茎及びハネセンナの表示があった製品) の定量結果

製品No.	含有量 (mg/g)			含有量 (mg/包)
	SA	SB	SA+SB	SA+SB
10	0.28	0.35	0.63	4.7
11	0.57	0.84	1.41	7.2
12	0.80	1.41	2.21	11.4

表7. 製品No.13 (表示がなくセンナ葉を認めた製品) の定量結果

製品No.	含有量 (mg/g)			含有量 (mg/包)
	SA	SB	SA+SB	SA+SB
13	0.09	0.09	0.18	2.0

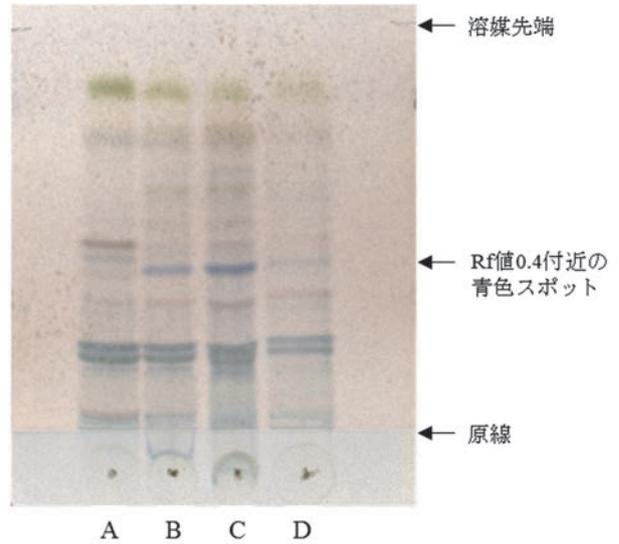


図3. 標準品及び製品 No.13 の TLC 画像

A: アレキサンドリア・センナ, B: チンネベリ・センナ, C: JPセンナ末, D: 製品 No.13

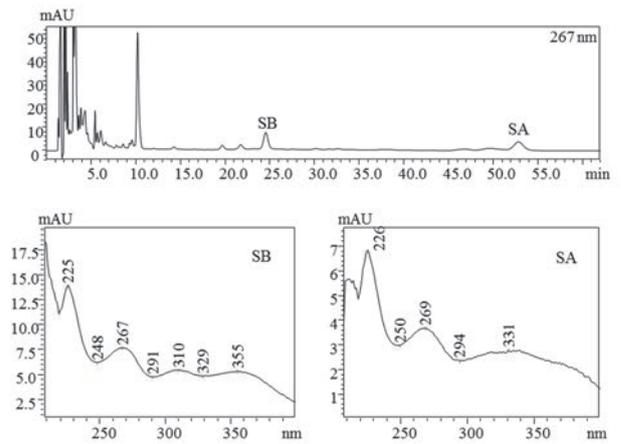


図4. 製品 No.13 の LC/PDA クロマトグラム (検出波長 267 nm) 及び UV スペクトル

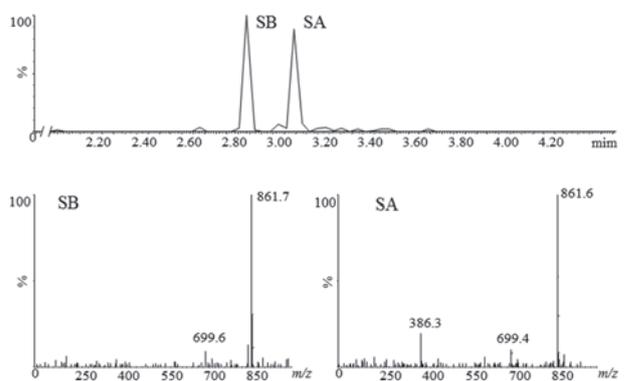


図5. 製品 No.13 の LC/MS クロマトグラム (m/z 861.7) 及び MS スペクトル

LC/PDA及びLC/MSによりSA及びSBを調べた。LC/PDAの結果を図4に示す。保持時間24.6分及び52.9分に認められたピークはそれぞれ標準品SB及びSAと保持時間及びUVスペクトルが一致した。LC/MSの結果を図5に示す。保持時間2.9分及び3.1分に認められたピークはそれぞれ標準品SB及びSAと保持時間及びMSスペクトルが一致した。以上の結果から、製品No.13から取り出したセンナ葉には、SA及びSBが含有されることを確認した。

ま と め

2017年度から2021年度までの5年間に当センター健康危機管理情報課が試買した茶葉状の健康食品の中で、SA及びSBを検出したものは、13製品であった。このうちセンナ茎あるいはハネセンナに係る表示があった製品は12製品であった。一方、センナあるいはハネセンナに係る表示のない製品は1製品であった。

植物鑑別の結果、センナ茎あるいはハネセンナに係る表示のある12製品においてはセンナの薬用部位を認めなかった。一方、センナあるいはハネセンナに係る表示のない1製品において、医薬品に該当するセンナ葉を認めた。

SA及びSBの定性及び定量試験では分離条件を検討し、3条件の中から製品によって適した方法を選択して分析した。すべての製品でSA及びSBと保持時間及びUVスペクトルが一致するピークを確認した。1包中のSA及びSBの合計量は0.8～11.4 mgと製品によって差があった。

植物鑑別によりセンナ葉を認めた1製品について、製品からセンナ葉のみを取り出して確認試験を行った。TLC分析を行った結果、チンネベリ・センナに特徴的なスポットを認めた。また、LC/PDA及びLC/MSにより、取り出

したセンナ葉にSA及びSBが含有されることを確認した。医薬品に該当するセンナ葉を認めた1製品については、福祉保健局健康安全部薬務課を通じてプレス発表を行った。

謝 辞

本検査を進めるにあたり、健康食品の試買調査を実施した当センター企画調整部健康危機管理情報課に感謝申し上げます。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課長：薬生監麻発0331第9号，食薬区分における成分本質（原材料）の取扱いの例示（通知），令和2年3月31日
- 2) Takahashi, M., Sakurai, K., Fujii, H., *et al.*: *JAOAC Int.*, **97**, 1195–1201, 2014.
- 3) 鈴木幸子，荒金眞佐子，吉澤政夫，他：東京健安研七報，**60**, 91–96, 2009.
- 4) 独立行政法人国民生活センター：キャンドルブッシュを含む健康茶，
http://www.kokusen.go.jp/news/data/n-20140123_1.html
(2022年8月19日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 5) Lemli, J., Cuveele, J. and Verhaeren, E.: *Planta Med.*, **49**, 36–37, 1983.
- 6) 厚生労働省：第十八改正日本薬局方，1979–1980, 2021
- 7) 一般財団法人日本医薬情報センター：医療用医薬品集2021，1796.

Identification and Quantitative Analysis of Senna in Sennoside-Containing Health Foods Purchased from April 2017 to March 2022

Yuri MOTEKI^a, Atsuko SUZUKI^a, Seiko SHIMIZU^a, Yuuka MARUYAMA^a, Misako TAKAHASHI^a,
Tomoko URADE^a, Kou NAKAMURA^a, Itsuki SAITO^a, Takako SETO^a, Hiroko SHIODA^a,
Jun'ichi NAKAJIMA^a, Toshinari SUZUKI^a, Takako MORIYASU^b, and Akiko INOMATA^a

This study presents the identification of Senna (*Cassia angustifolia* Vah or *C. acutifolia* Delile) and quantitative analysis of sennosides in health foods that were purchased during the fiscal years 2017–2022. Sennosides were detected in 13 products among which 12 products stated Senna stem or *C. alata* as an ingredient on their label. Products detected with sennoside content were further analyzed. We performed plant identification by using a stereomicroscope and low-vacuum scanning electron microscope. We quantified sennosides content by liquid chromatography/photodiode array (LC/PDA). Thin-layer chromatography, LC/PDA, and liquid chromatography–mass spectrometry were used for confirming the presence of Senna leaves. The suitable quantity of Senna as a pharmaceutical was not detected in 12 products that stated Senna stem or *C. alata* content on their labels. Meanwhile, one product detected having Senna leaves as a raw material, which was exclusively used as a pharmaceutical, did not mention its content on the label.

Keywords: health food, Senna leaf, sennoside, plant identification, liquid chromatography/photodiode array, thin-layer chromatography, liquid chromatography–mass spectrometry

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

^b Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, at the time when this work was carried out