

## 国立衛生試験所センノシド標準品 (Control 951)

岡田 敏史・北島 文・谷本 剛・鈴木 英世・佐竹 元吉

Sennosides Reference Standard (Control 951) of the  
National Institute of Health SciencesSatoshi Okada, Aya Kitajima, Tsuyoshi Tanimoto,  
Hideyo Suzuki and Motoyoshi Satake

The "Sennosides Reference Standard (Control 951)" was prepared, which is intended to be used for the fluorophotometric assay of sennosides content in the preparation of "Sennosides". In this assay hydroxylated mono- and dianthraquinone glucosides are chelated with boric acid, and the fluorescence intensity of the chelate is determined against that of the Reference Standard (RS). In the establishment of this RS, sennosides content in the candidate material must be determined accurately by fluorophotometry. The Sennoside AB for assay, prepared as an equimolar mixture of the purified sennoside A and Sennoside B, was used as the RS for the fluorophotometry. Based on the above concept, sennosides content in the candidate was determined as calcium salts to be  $60.1 \pm 1.6\%$  by the fluorophotometry. Thus the sennosides content of this Sennosides RS was certified to be 60%.

Separately, contents of Sennoside A (SA) and Sennoside B (SB) in this candidate were determined by using HPLC. As a result, the sum of SA and SB was estimated to be 38% as free acids. Thus it was suggested that about 20% of dianthraquinone glucosides other than SA and SB and anthraquinone glucosides may be included in this Sennoside RS as free acids. Analytical results on the USP Sennosides RS were also shown and discussed, compared with the present Sennosides RS.

**Keywords** : sennosides, sennoside A and B, fluorophotometry, HPLC, NIHS reference standard

(Received May 31, 1996)

原料生薬または医薬品製剤としてのセンノシド (Sennosides) は、通例、センナの葉または果実 (*Cassia angustifolia* Vohl または *Cassia acutifolia* Delile) より抽出・精製されたアントラキノン配糖体類 (anthraquinone glucosides) のカルシウム塩であり、緩下剤として繁用されている。本品は、13局収載予定品目に指定され、すでにその規格および試験法原案が提出されていたが、審議未了のため13局への収載は見合わされた。したがって、13局追補での日局収載になるものと予想される。

センノシドの有効成分含量は、一般にアントラキノン配糖体類のうち主成分であるセンノシド A およびセンノシド B 含量の和として表され、吸光光度法により定量されてきた。今回、より高感度で簡便なセンノシドの有効成分定量法として、センノシド類をホウ酸錯体とし、標準品を対照に蛍光光度法により定量する方法が提案されている<sup>1)</sup>。センノシド類をアントラキノン配糖体として一括定量する点においては、蛍光光度法と吸光光度測定法は基本的に変わらない。蛍光光度法は、センナおよびダイオウ中のアントラキノン配糖体の総量を簡便に測定する方法としてす

に確立された方法となっており<sup>2)</sup>、USP においてもこの方法が採用されている<sup>3)</sup>。

センノシド A およびセンノシド B、それぞれについて標準品が用意できれば、液体クロマトグラフ法により、それぞれの含量を求めることができるが、国内で流通している医薬品としての“センノシド”は、古い時代に承認を受けたものが多く、クロマト的な分離定量法でなく、主として溶媒抽出後、吸光度測定法により定量する方法が用いられている。したがって、センノシドの日局収載にあたり、その有効成分定量法として蛍光光度法が採用され、アントラキノン配糖体類を総量として定める方法は、現状に即した方法と考えられる。しかしながら、現在の液体クロマトグラフ法の技術を用いれば、センノシド A (SA) およびセンノシド B (SB) の分離定量も容易であるので、センノシド類の総量を規定すると同時に、主成分である SA および SB 量を個々に規定するか、または SA/SB 比を規定し、センノシドの品質の一定性を確保する必要があるように思われる。

センノシド中のアントラキノン配糖体類の含量を蛍光光

度法により定量するために用いられるセンノシド標準品は、センノシド A またはセンノシド B の純品である必要はなく、むしろ、緩下剤として流通しているセンノシドの組成に近似したものが必要とされる。したがって、本標準品原料の品質評価のポイントは、蛍光光度法により評価される原料中のアントラキノン配糖体類の総量を定めることにある。別に、本標準品の品質の一定性を確保するために、センノシド A (SA) およびセンノシド B (SB) のそれぞれの含量とそれらの比 (SB/SA) についての知見を得ることとした。

本標準品原料の品質評価にあたり、富山県薬事研究所、アルプス薬品工業㈱、サンド薬品㈱、生薬部および大阪支所薬品試験部の 5 機関による共同実験を行った。

#### 実験材料および実験方法

**実験材料** 本標準品原料は、サンド薬品㈱より供与された。SA 精製品 (HPLC 法による面積純度：100.00%) および SB 精製品 (HPLC 法による面積純度：99.91%) は、アルプス薬品工業㈱より購入した。また、SA 精製品および SB 精製品の等量混合物を調製し、定量用センノシド AB とした。別に、USP センノシド標準品を USPC より購入した。その他の試薬および溶媒は、各機関において特級品または特級相当品が用いられた。

**装置** 蛍光光度計は、F-2000 型および F-4500 型日立蛍光分光光度計が用いられた。液体クロマトグラフ装置の送液ポンプは、島津製作所 LC-6A, LC-9A, LC-10AD および日本分光㈱ 880-PU, TRI ROTAR-VI などが用いられた。

#### 実験方法

##### 1. 薄層クロマトグラフ法による確認試験

本候補品 0.02 g を量り、水 25 ml を加えて振り混ぜた後、2 分間遠心分離し、上澄液を試料溶液とする。別に、SA および SB 精製品約 2 mg を量り、水 2 ml に溶かし、標準溶液  $S_A$  および  $S_B$  とする。試料溶液および標準溶液 5  $\mu$ l ずつを薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。n-プロパノール/酢酸エチル/水/ギ酸混液 (7:7:4:2) を展開溶媒として約 10 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに薄めた硝酸 (2→5) を均等に噴霧し、風乾した後、120℃で 15 分間加熱する。更に噴霧用水酸化ナトリウム・メタノール試液\* を均等に噴霧し、120℃で 10 分間加熱するとき、試料溶液から得た 2 個の赤褐色の主スポットの  $R_f$  値は、標準溶液  $S_A$  又は  $S_B$  から得た赤褐色のスポットの  $R_f$  値のいずれかに一致する。

\* 噴霧用水酸化ナトリウム・メタノール試液：水酸化ナトリウム 5 g を水 50 ml に溶かし、冷後、メタノール 50 ml を加える。

##### 2. 蛍光光度法による定量試験

本候補品約 0.025 g および定量用センノシド AB 約 0.015 g ずつを精密に量り、それぞれに pH 7.0 の 1/15 mol/l リン酸塩緩衝液 (PBS) を加え、超音波処理して溶かした後、PBS を加えて正確に 25 ml とする。さらにこれらの液 1 ml ずつを正確に量り、ホウ酸ナトリウム溶液 (1→25) (NaBS) を加えて正確に 100 ml とし、試料溶液および標準溶液とする。試料溶液、標準溶液および NaBS 5 ml ずつを正確に量り、それぞれを共栓付褐色フラスコに入れ、NaBS 5 ml およびハイドロサルファイトナトリウム試液\* 15 ml を加える。それらの液に窒素ガスを 1 分間通気した後、密栓し、沸騰水浴中で 30 分間加熱する。次に、20℃の水浴中に 15 分間放置した後、この液を褐色メスフラスコに移し、NaBS を加えて正確に 50 ml とする。これらの液につき、蛍光光度法により試験を行い、励起波長 392 nm、蛍光波長 505 nm における蛍光の強さ FT, FS FB を測定し、次式を用いてセンノシドの量を求める。

\* ハイドロサルファイトナトリウム試液：ハイドロサルファイトナトリウム 3 g をとり、水を加えて溶かし、200 ml とする。用時製する。

センノシドの量 (mg)

= 乾燥物に換算したセンノシド標準品の量 (mg)

$$\times \frac{F_T - F_B}{F_S - F_B} \times 1.045$$

ただし、式中の係数 1.045 は、カルシウム塩に換算するための換算係数である。

##### 3. HPLC 法による SA および SB の含量評価

###### (1) アイソクラテック (IC) 法

本候補品約 0.04 g を精密に量り、炭酸水素ナトリウム溶液 (1→500) 15 ml を加えて溶かした後、薄めたメタノール (7→10) を加えて正確に 50 ml とし、試料溶液とする。別に精製 SA および精製 SB をデシケーター (減圧・0.67 kPa 以下、五酸化リン) 中で 12 時間以上乾燥し、その約 5 mg をそれぞれ精密に量り、炭酸水素ナトリウム溶液 (1→100) 12 ml を加えて溶かした後、薄めたメタノール (7→10) を加えて正確に 20 ml とし、SA および SB 標準溶液とする。試料溶液および標準溶液 20  $\mu$ l につき、次の条件で HPLC 法により試験を行い、SA および SB のピーク面積  $A_{TA}$ ,  $A_{SA}$ ,  $A_{TB}$ ,  $A_{SB}$  を求める。別に、溶媒ピークを除く全ピーク面積を求め、面積百分率法により SA および SB の相対含量 (%) を求める。

センノシド A の含量 (%)

$$= \frac{\text{精製センノシド A の量 (mg)}}{\text{候補品の採取量 (mg)}} \times \frac{A_{TA}}{A_{SA}} \times 250$$

センノシド B の含量 (%)

$$= \frac{\text{精製センノシド B の量 (mg)}}{\text{候補品の採取量 (mg)}} \times \frac{A_{TB}}{A_{SB}} \times 250$$

## 操作条件

検出器：紫外吸光度計（波長：340 nm）  
 カラム：内径約 5 mm，長さ約 15~25 cm のステンレス管に約 5  $\mu$ m の液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。  
 カラム温度：50℃付近の一定温度  
 移動相：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（17：8）1000 ml に臭化テトラヘプチルアンモニウム 2.45 g を加えて溶かす。  
 流量：SA の保持時間が約 25 分になるように調整する。  
 カラムの選定：標準溶液 10  $\mu$ l につき，上記の条件で操作するとき，SB，SA の順に溶出し，それぞれのピークが完全に分離し，分離度 7 以上のものを用いる。  
 別に，SA のピークの理論段数は 8,000 以上である。  
 試験の再現性：標準溶液 10  $\mu$ l につき，試験を 6 回繰り返すとき，それらの相対標準偏差は 1.5% 以下である。  
 面積測定範囲：SA の溶出後，30 分間，測定を継続する。

## (2) グラジエント (GD) 法

本候補品約 0.025 g を精密に量り，PBS を加えて溶かし，正確に 25 ml とし，試料溶液とする。別に SA および SB の精製品約 2 mg をそれぞれ精密に量り，PBS を加えて溶かし，正確に 25 ml とし，標準溶液とする。試料溶液および標準溶液 50  $\mu$ l につき，下記の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行い，SA および SB のピーク面積  $A_{TA}$ ， $A_{TB}$ ， $A_{SA}$  および  $A_{SB}$  を求める。

センノシド A の量 (mg)

$$= \text{精製センノシド A の量 (mg)} \times \frac{A_{TA}}{A_{SA}}$$

センノシド B の量 (mg)

$$= \text{精製センノシド B の量 (mg)} \times \frac{A_{TB}}{A_{SB}}$$

## 操作条件

検出器：紫外吸光度計（測定波長：254 nm）  
 カラム：内径約 5 mm，長さ約 15 cm のステンレス管に 5  $\mu$ m の液体クロマトグラフ用オクタデシルシリル化シリカゲルを充てんする。  
 カラム温度：25℃付近の一定温度  
 移動相：カルバミン酸アンモニウム溶液（23→2000）にギ酸を加えて pH 7.0 に調製したものを移動相 A とし，移送相 A/アセトニトリル混液（1：1）を移動相 B とする。移動相 A/移動相 B 混液を下記のタイムプログラムにしたがって，直線濃度勾配制御方式により送液する。

## タイムプログラム

試料注入後からの時間  
(分)

移動相 B の混合割合  
(v/v%)

0	11
13	11
23	26
35	50
40	50
41	11
55	11

流量：SB の保持時間が約 15 分になるように調整する。

カラムの選定：SA，SB の順に溶出し，その分離度が 5 以上のものを用いる。

## 結果および考察

## 薄層クロマトグラフ (TLC) 法による確認

候補品および USP センノシド標準品につき，TLC 法による確認試験を行った。典型的な薄層クロマトグラムを Fig. 1 に示した。5 機関での試験成績を総合すると SA は  $R_f=0.57 (\pm 0.06)$  に，SB は  $R_f=0.48 (\pm 0.07)$  の位置に分離され，候補品および USP 標準品とも同一位置に赤褐色のスポットが観察され，SA および SB を含むことが確認された。また，両者とも  $R_f=0.70$  付近に微量の不純物スポットが観察された。

## 蛍光光度法による定量

## (1) SA および SB の蛍光スペクトル

SA 精製品，SB 精製品およびそれらの等量混合物（定量用センノシド AB）につき，実験方法の項に記した方法で試料を調製し，それらの励起スペクトルおよび蛍光スペ

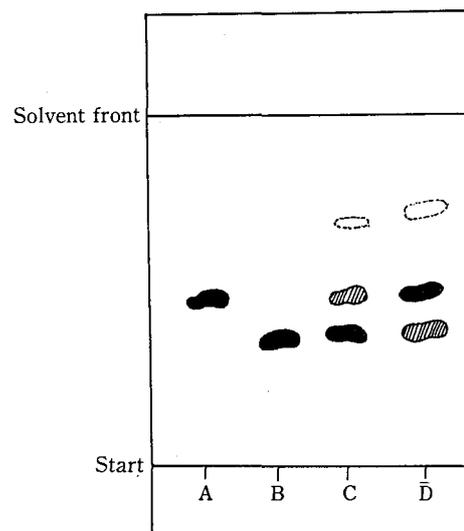


Fig. 1. Thin-layer chromatogram for the candidate and the USP Sennoside RS

A. Purified Sennoside A, B. Purified Sennoside B, C. The candidate material, D. The USP Sennosides RS

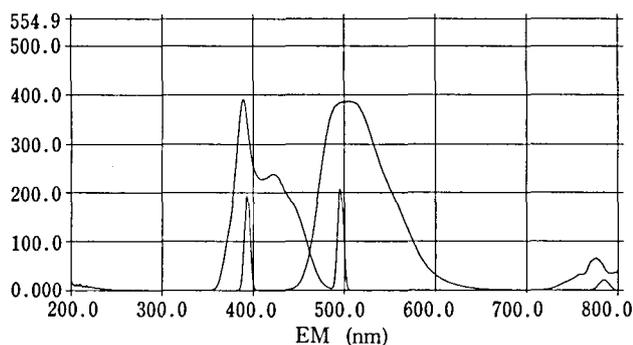


Fig. 2. Excitation and emission spectra for the equimolar mixture of Sennoside A and Sennoside B  
Excitation and emission maxima are 392 nm and 505 nm, respectively.

クトルを測定するとき、最大励起波長、最大蛍光波長および全体のスペクトルの形状にほとんど差異は認められなかった。Fig. 2に定量用センノシド AB の励起および蛍光スペクトルを示した。最大励起波長 392 nm、最大蛍光波長 505 nm であり、センノシド定量用分析波長としてこれらの波長を用いることとした。

SA および SB 精製品につき、励起波長 392 nm および蛍光波長 505 nm として分析を行い、両者の蛍光感度を観察した結果を Table 1 に示した。センノシド 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  当たりの蛍光強度を蛍光感度  $F$  とするとき、SA の蛍光感度が SB に比べ 2% ほど高いことが明らかとなったが、本候補品のような混合物中のセンノシド総量を測定するための試験法においては、この程度の差異は問題とならない。なお、SA と SB は、 $10\sim 10'$  位の立体配置が threo 型 (SA)

か etythro 型 (SB) かの差異があるだけで、分子量は等しい。

定量用センノシド AB を対照に本候補品中のセンノシド含量を求めた結果、 $60.1\pm 1.6\%$  ( $n=9$ ) の値が得られた。この値は、後述する HPLC 法 (アイソクラティック法またはグラジエント法) による (SA+SB) 含量に比較して約 22% ほど高い値となっている (Table 2 参照)。ただし、蛍光光度法による値はカルシウム塩としてみているのに対し、HPLC 法ではフリー体でみているので、フリー体と比較すると相互の差は約 20% となる。これは、本試験法が SA および SB のみを特異的に定量しているだけでなく、本候補品中においてホウ酸錯体を形成する他のジアントラキノン類およびアントラキノン類配糖体を同時に測定しているからに他ならない。なお、本候補品の乾燥減量 (100 $^{\circ}\text{C}$ , 減圧, 8 時間) は、 $4.80\pm 0.35\%$  ( $n=5$ ) であった。

#### (2) HPLC 法による SA および SB の含量評価

センノシド中には SA および SB のほか、類似成分が多数存在するため、HPLC 法による分離分析を行うとき、多数のピークが検出される。Fig. 3 に典型的な HPLC クロマトグラムを示したが、量的に無視できないピークが、(a)アイソクラティック IC 法では約 10 成分、(b)グラジエント GD 法では約 15 成分ほどが観察される。両法において、SA および SB とも明確に他成分から分離されるので、それぞれの標準品を対照に含量評価をすることも可能である。別に、検出されたピークの全面積に対する各成分の面積比から、個別成分の含有量を相対的に評価する面積百分

Table 1. Fluorescence sensitivity for boric acid complex with sennoside A and sennoside B

Species	Concentration $\mu\text{g}/\text{ml}$	Fluor. intensity $F'$	Fluor. sensitivity $F (F'/(\mu\text{g}/\text{ml}))$
Sennoside A	5.97	62.76	10.50
Sennoside B	6.04	62.18	10.28
Blank	0	0.07	—

Excitation WL: 392 nm, Emission WL: 505 nm

Table 2. Estimation of sennoside A and sennoside B contents in the candidate Sennoside Reference Substance by HPLC

		SA (%)	SB (%)	SB/SA	(SA+SB), %
Isocratic	Assay	$14.6\pm 0.13$	$21.9\pm 0.83$	$1.51\pm 0.05$	$36.6\pm 0.95$
HPLC	Area %	$23.9\pm 2.30$	$32.5\pm 2.19$	$1.36\pm 0.04$	$56.3\pm 4.47$
Gradient	Assay	$15.1\pm 0.21$	$23.7\pm 0.16$	$1.57\pm 0.02$	$38.8\pm 0.37$
HPLC	Area %	$19.3\pm 0.96$	$27.7\pm 1.49$	$1.43\pm 0.01$	$47.1\pm 2.45$

The HPLC conditions for isocratic and gradient analysis are described in the text. SA and SB mean Sennoside A and Sennoside B, respectively. SB/SA is the content ratio of Sennoside B to Sennoside A, and (SA+SB) is the total amount of Sennoside A and Sennoside B in the candidate Sennosides RS. Each value designates the mean  $\pm$  SD.

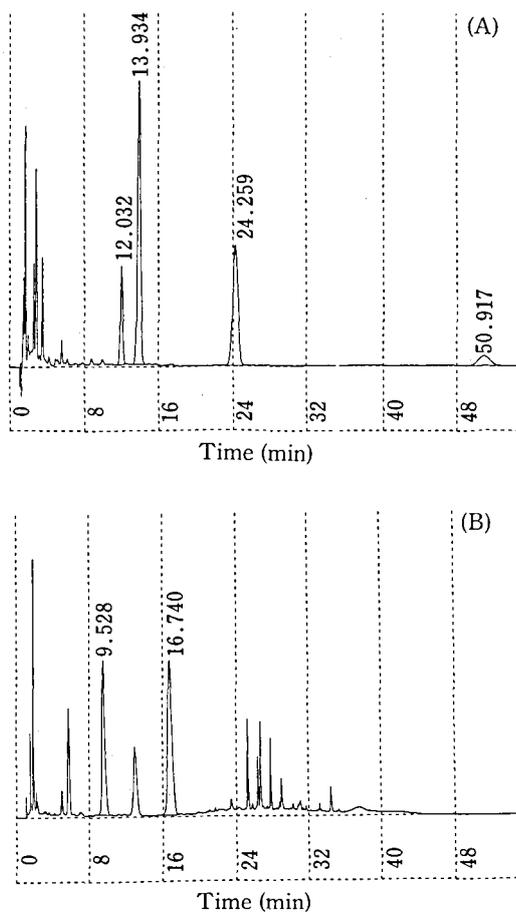


Fig. 3. Typical HPLC chromatograms for the candidate  
(A) Isocratic HPLC, (B) Gradient HPLC

率法による評価も行った。これらの結果を Table 2 にまとめて示した。IC法による数値は5機関による平均値±標準偏差であり、GD法による数値は2機関による平均値±標準偏差を示している。また、SB/SAはセンノシドAに対するセンノシドBの含量比を、(SA+SB)はSAとSBの合計含量を示している。Table 2の結果は、総平均とそのばらつきを示したものであるが、機関間の差異も比較的小さく、例えば、SA含量(%)の最小値~最大値をみると、IC法で $14.4 \pm 0.14$  (n=5)~ $14.7 \pm 0.06$  (n=5)であり、GD法で $14.9 \pm 0.02$  (n=5)~ $15.3 \pm 0.04$  (n=5)であった。なお、面積百分率法による含量評価の場合、機関間でのばらつきは、幾分増加する傾向がみられた。

SAおよびSB精製品を対照にして、本候補品中のSAおよびSB含量(%)を直接に定量した結果によれば、IC法に比較してGD法でやや高めの値が得られているが、複雑なマトリックスをもつ試料であることを考慮すれば、この程度の差異はやむを得ないことなのかも知れない。以下では、IC法とGD法による分析結果の平均値を用いて議論する。Table 2によれば、本候補品中のSA含量14.9

%, SB含量22.9%と推定された。したがって、SB/SA比は1.54, (SA+SB)の合計含量は37.8%と推定される。この値は、蛍光光度法による分析値57.5%(カルシウム塩としての実測値をフリー体に換算)と比較するとき、約20%ほど低い数値であることがわかる。これは、蛍光光度法による分析においては、センノシド中においてホウ酸錯体を生成するすべての成分がトータルに測定されることに起因することは、すでに記した。

一方、面積百分率法による評価によれば、SAおよびSB含量とも高く評価される傾向のあることがわかる。GD法に比較してIC法でより高く評価されているのは主として分析波長の差に起因するものと考えられるが、GD法において20分以降のベースラインの乱れる部分における面積評価が正しく行われているか、若干の疑問もある。IC法での分析波長340nmは、移動相中でのSAおよびSBの極大吸収波長(SA: 336nm, SB: 355nm)に近似し、両者の分子吸光係数がほぼ等しい波長である。一方、GD法での分析波長254nmは水銀ランプの輝線の波長であり、UV吸収性の物質を検出するために一般的に用いられている波長であるが、この波長位置でのSAとSBの分子吸光係数もほぼ等しいことが、Fig. 4に示されている。Fig. 4はIC法における移動相中で得られたSA, SBおよび候補品のUVスペクトルである。当然ながら、候補品のUVスペクトルは共存成分の影響を受けてSAおよびSBとは若干異なっているが、HPLC法は分離分析法であるので、254nmまたは340nmいずれを用いても、共存成分の分離さえきちんとできていれば、正確な含量評価が可能はずである。いずれにしても、センノシド中にはUV吸収スペクトルの異なる多数の夾雑成分があるため、面積百分率法によっては本候補品中のSAおよびSB含量を正しく評価できないことが明らかとなった。IC法による(SA+SB)含量の面積百分率法による評価値56.3%が、蛍光光度法による定量値60.1%に近似しているのは、単なる偶然と考えられ、試料が変われば異なる値をとるものと予想される。

SB/SA比は、IC法で1.51, GD法で1.57とほぼ一致する値が得られている。正川らによれば、市販センナ32種についてのHPLC法による分析の結果、そのSB/SA含量比は1.5とほぼ一定していることを報告している<sup>9)</sup>。したがって、本候補品のSB/SA含量比は、市場に流通しているセンナのそれと一致していることから、本候補品はセンノシド中の有効成分含量を評価するための標準品として妥当な成分組成をもつものと判断される。

#### USP センノシド標準品

USPはXX版(1980)より“Sennosides”を収載しているが、当初の定量法は標準品を対照とする吸光光度法であった。XXII版(1990)より現行の蛍光光度法による定

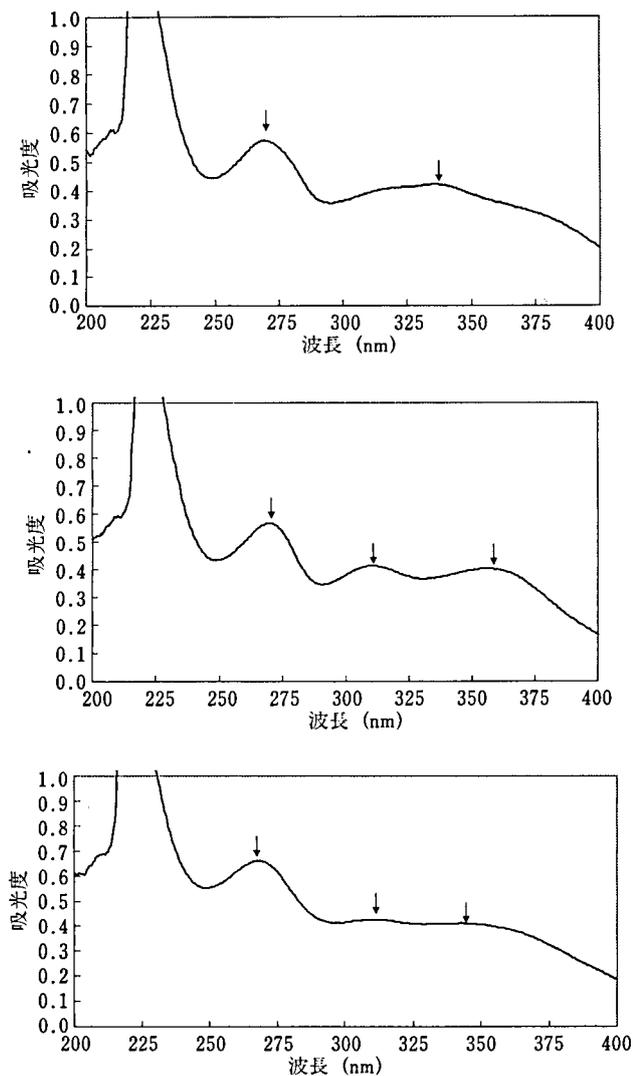


Fig. 4. UV Absorption spectra for Sennoside A, Sennoside B and the candidate sennosides reference standard (A) Sennoside A, (B) Sennoside B, (C) The candidate sennosides reference standard  
Each sample was dissolved in the mobile phase for isocratic HPLC analysis, and the concentration was adjusted to 25, 25, and 32  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , respectively. Arrows indicate the absorption maxima for each specimen, (A) 270 and 336 nm, (B) 270, 311, and 357 nm, (C) 268, 312, and 342 nm.

量法に変更されており AL<sup>3)</sup>, 日局原案として提案されている方法と基本的に変わらない。USP のセンノシド標準品 (Lot G) を入手し, 本候補品に対する試験と同様な試験を実施したところ以下のような結果が得られた。

蛍光光度法による含量:  $91.3 \pm 2.0\%$  ( $n=9$ )

HPLC 法による含量

(1) IC 法

SA: 53.1%, SB: 18.2%, SB/SA: 0.34

(SA+SB):  $71.3 \pm 1.9\%$  ( $n=10$ )

(2) GD 法

SA: 53.2%, SB: 19.9%, SB/SA: 0.37

(SA+SB):  $73.1 \pm 0.4\%$  ( $n=5$ )

本候補品に関する Table 1 および Table 2 の結果と比較して明らかなように, USP のセンノシド標準品の SA 含量は本候補品の 3.6 倍, SB 含量は 0.8 倍, (SA+SB) 含量は 1.9 倍となっている。SA 含量に大きな差があり, その結果として SB/SA 比が, 候補品における 1.54 に対し, USP 標準品では 0.36 であり, SA と SB の存在比が完全に逆転した関係になっていることがわかる。この差異は, 主として原料生薬の違いに起因するものと考えられるが, SA と SB は互変異性体の関係にあるため, 精製過程での熱異性化の可能性も否定できず, 詳細は不明である。USP 標準品の現行ロット Lot G は, 上記のような品質を有しているが, 直前のロット Lot F-2 についての HPLC 法による分析結果によれば<sup>6)</sup>, SA: 14.8%, SB: 16.2%, (SA+SB): 31.0%, SB/SA: 1.05 であった。SA 含量は, 本候補品と変わらないが, SB 含量は 6% ほど小さく, SA 含量にほぼ等しいという分析結果が得られている。なお, USP 標準品に関する以上の実験結果は, 試料量が十分でないため乾燥物換算を行っていない。なぜ, USP がセンノシド標準品の品質を大きく変更したかについての詳細は不明であるが, その定量試験法をみるとセンノシド標準品の有効成分含量 100% として使用することとされており, 標準品の使用方法との関係によるものと推察される。国内標準品の品質を USP 標準品の品質に強いて合わせる必要はないが, 本候補品とセンノシド含量および SB/SA 比に大きな差異があるので, 注意喚起のため, 記録として残しておく。

## 結 語

緩下剤センノシドの有効成分含量の蛍光光度法による測定のためのセンノシド標準品を製造した。センノシド中の主たる有効成分は, センノシド A およびセンノシド B であるとされているが, ホウ酸錯体を形成させての蛍光光度法による定量法においては, 共存する他のジアントラキノン類 (センノシド C, D など) およびアントラキノン類配糖体も発蛍光性のホウ酸錯体を形成することから, これらの影響が定量値の中に含まれてくることになる。本候補品につき, 定量用センノシド AB を対照にして蛍光光度法による定量試験を行った結果, 本品中のセンノシド含量は 60.1% (フリー体として 57.5%) と推定された。一方, HPLC 法によれば, 本候補品中の (SA+SB) 含量は 37.7% と推定されたことから, 本候補品中には他のジアントラキノン類およびアントラキノン類配糖体が約 20% ほど含まれていることになる。

以上の結果, 本候補品を蛍光光度法によるセンノシド定量用標準品として使用する場合, センノシド含量 60% と

して用いることが合意された。

終わりに、本共同実験に参加いただきました富山県薬事研究所（斉藤晴夫所長，横田洋一主任研究官），サンド薬品㈱（妹尾節哉品質保証部長，大竹俊一品質保証部サブリーダー），アルプス薬品工業㈱（村杉正治研究開発部室長，綱島資長大阪出張所）と関係者諸氏の多大なご協力に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) サンド薬品㈱よりの私信
- 2) A. C. Lane, *Anal. Chem.*, **45**, 1911 (1973)
- 3) *US Pharmacopoeia* **23**, p. 1407 (1995)
- 4) 北川 勲ほか，“生薬学”，p. 229, 廣川書店 (1992)
- 5) 正川 仁ら，生薬分析シンポジウム，講演要旨集，p. 73 (1994)
- 6) アルプス薬品工業㈱よりの私信