

Studies on the Evaluation of Crude Drugs by Means of Colorimeter (2) : Correlation between the Color and Chemical Constituents of Rhubarb

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/36616

色彩計による生薬の品質評価 (第2報)¹⁾

大黃の色彩と含有成分量

近藤誠三^{*,a}, 御影雅幸^b, 高野昭人^b, 津田喜典^b

^a 小太郎漢方製薬研究所, ^b 金沢大学薬学部

Studies on the Evaluation of Crude Drugs by Means of Colorimeter (2)¹⁾

Correlation between the Color and Chemical Constituents of Rhubarb

SEIZO KONDO,^{*,a} MASAYUKI MIKAGE,^b AKIHITO TAKANO^b

and YOSHISUKE TSUDA^b

^a Central Research Laboratory, Kotaro Pharmaceutical Co. Ltd., 47-3 Suga-cho, Takatsuki 569, Japan

^b Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University, 13-1, Takara-machi, Kanazawa 920, Japan

(Received November 18, 1991)

Quality evaluation of commercial Rhubarbs was made by using a colorimeter. No correlation was found between the botanical origin, the colors of fine powder and water extracts of the drug, and the amounts of chemical constituents such as anthraquinones (AQ), anthrones (AR), sennoside A, B (SA, SB), catechin (CA), gallic acid (GA) and total gallic acid obtained by hydrolysis (Hy-GA). On the other hand, the colors of water extracts, particularly the color developed on the addition of ferric chloride, showed a high correlation with the amounts of some chemical constituents: the correlation coefficient between AR and *b** value of the color was 0.895, and that between Hy-GA and color tone was -0.832.

The above results indicate that the colorimetric method may provide a rapid and easy procedure highly useful for the estimation of the amounts of some chemical constituents in Rhubarb.

Keywords—Rhubarb; *Rheum*; anthrone; anthraquinone; sennoside; catechin; gallic acid; colorimeter; quality evaluation; chemical constituent

大黃の化学的な品質評価については、吸光度法による総結合型アントラキノン類の定量、HPLC法²⁾あるいは近赤外分光分析計³⁾を用いた sennoside A, B (SA, SB) の定量、HPLC グラジエント法による多成分同時定量法⁴⁾など多くの報告がある。しかし、それらの定量法は、操作が煩雑であったり、また高価な機器を必要としている。

われわれは色彩計を用いて、生薬の色彩と品質の関係について検討している¹⁾。今回、市場品大黃18検体の粉末や水抽出液の色を測定し、市販のデータ解析ソフトを利用して、原植物および含有成分 anthrones (AR), anthraquinones (AQ), catechin (CA), gallic acid (GA), 加水分解して得られる gallic acid の総量 (Hy-GA) などの定量値との相関性を調査した。その結果、水抽出液を塩化第二鉄試液で発色させたときの色彩値と AR および Hy-GA との間に高い相関性が得られ、色彩計を用いて大黃の成分化学的な品質評価が容易に行うことを明らかにしたので報告する。

実験の部

1. 測定機器および試薬

色彩計 (MINOLTA, 粉末用 CR-200, 液体用 CT-210), 分光光度計 (Jasco, Ubest-50), HPLC (日立, L-6200 シリーズ). 超音波発振機および洗浄槽 (シャープ UT-604F, UC602). 抽出, 発色には試薬特級, HPLC には高速液体クロマトグラフィー用試薬を用いた。定量時の標準品 1,8-dihydroxyanthraquinone, catechin, gallic acid は

TABLE I. Origins of Commercial RHUBARB Estimated by Anatomical Study

Sample	Sample No. [KANP-]	Botanical origin	Part used
A	915	<i>Rheum tanguticum</i>	(unidentified cut pieces)
B	920	"	Rhizome
C	921	"	"
D	923	"	"
E	924	"	"
F	929	"	"
G	932	"	"
H	916	<i>R. palmatum</i>	"
I	922	"	"
J	917	<i>R. tanguticum</i> or <i>R. palmatum</i> *	"
K	928	"	"
L	933	"	"
M	918	<i>R. palmatum</i> or <i>R. tanguticum</i> *	"
N	919	"	"
O	925	"	"
P	926	"	"
Q	927	"	"
R	934	<i>R. palmatum</i> or <i>R. officinale</i> *	"

*: The origin of each sample may be the former from anatomical evidences.

試薬特級を再結晶し, sennoside A, B は, 生薬分析用高純度試薬 (東レテクノ) を再結晶した。

2. 実験材料

1) 市販大黃18検体はすべて大阪市場品。楼ら⁵⁾の報告に従い, 比較組織学的に原植物の同定を行った結果, *Rheum tanguticum* に由来するもの7検体, *R. palmatum* に由来するもの2検体, 他の9検体については, *R. tanguticum* あるいは *R. palmatum* で前者の可能性の強いもの3検体と後者の可能性の強いもの5検体, *R. palmatum* あるいは *R. officinale* で前者の可能性の強いもの1検体であった。なお薬用部位については, 特定ができなかった刻みの1検体以外は, すべて根茎であった (TABLE I)。

実験に供した試料は, 金沢大学薬学部薬用植物園ならびに小太郎漢方製薬株式会社研究所に保管されている。

3. 粉末色の色彩の測定

各検体 (試料番号を TABLE I に示す) から平均的と思われる1個体あるいは1部分を取り, 粉砕機および乳鉢で粉砕し, 篩過 (100 mesh) したものを試料末とした。

1) 粉末色: 試料末を前報¹⁾に準じて測定し, $L^*a^*b^*$ 表色系で表した。また今回, 新たに色調 (color tone=CT) についても検討した。CT は, $L^*a^*b^*$ 表色系立体座標において中心からの距離を表し, $L^{*2}+C^{*2}$ の平方根である。

2) 溶液色: 以下の要領で作成した検液を, 光路長 10 mm のガラスセルを用いて測定し, 粉末色と同様の色表現をした。

i. 色測定用試料原液の調製: 試料末 (0.20 g) をとり, 精製水 (50 ml) を加え, 超音波抽出 (20 min) 後遠心分離し, 色測定用試料原液とした。

ii. 検液の調製: H_2O 抽出検液は, 色測定用試料原液 (1.0 ml) をとり, H_2O (5.0 ml) を加えて作成した。飽和 $NaHCO_3$ 水溶液発色検液は, 原液 (1.0 ml) に飽和 $NaHCO_3$ 水溶液 (5.0 ml) を加えて作成した。1% $FeCl_3$ 発色検液は, 原液 (1.0 ml) に 1% $FeCl_3$ 水溶液 (5.0 ml) を加えて作成した。

4. 成分定量

1) AQ, AR の定量: [AQ 定量] 試料末 (約 500 mg) を精密に量り, 70% MeOH (30 ml) を加え, 超音波抽出 (20 min) 後, 遠心分離。上澄液をメスフラスコに移し, 残渣にはさらに 70% MeOH (20 ml) を加え, 先と同様に操作。この操作をさらに2回繰り返す, 70% MeOH で正確に 100 ml とし, 成分測定用試料原液とした。この原液 (2.0 ml) をとり, H_2O (20 ml) を加えた後, Et_2O (30 ml) を加え分配抽出した。 H_2O 層はさらに Et_2O (30 ml) で

TABLE II. Contents of Anthraquinones (AQ), Anthrones (AR), Sennoside A, B (SA, SB), Catechin (CA), Gallic Acid (GA) and Total Gallic Acid Obtained by Hydrolysis (Hy-GA)

Sample	AQ (%)	AR (%)	SA (%)	SB (%)	CA (%)	GA (%)	Hy-GA (%)
A	0.59	3.14	0.57	0.26	1.30	0.28	2.13
B	0.39	2.18	0.26	0.13	1.01	0.10	1.60
C	0.71	3.37	0.66	0.32	1.41	0.29	2.48**
D	1.41	4.46	0.97	0.43	0.21	0.06	0.54
E	0.40	2.36	0.34	0.14	0.75	0.08	1.72
F	0.68	6.53	1.77	0.90**	0.42	0.07	1.29
G	0.93	6.29	0.85	0.28	0.62	0.30**	1.71
H	0.94	1.80*	0.05*	0.03*	1.36	0.14	1.85
I	0.51	2.99	0.60	0.29	1.64**	0.12	1.37
J	0.60	3.30	0.57	0.20	trace	0.03*	0.46*
K	1.14	2.98	0.46	0.20	0.77	0.18	2.28
L	0.31*	4.46	0.41	0.22	1.50	0.10	2.43
M	1.63**	5.73	1.77	0.69	0.73	0.06	0.90
N	0.57	7.47**	2.07**	0.86	0.35	0.13	0.76
O	0.71	6.48	0.92	0.42	0.43	0.06	0.84
P	0.50	4.27	0.64	0.24	0.42	0.27	1.12
Q	0.66	7.21	1.40	0.53	0.47	0.16	1.22
R	0.43	3.92	0.67	0.30	0.34	0.12	0.62

*: minimum; **: maximum.

同様に抽出した。Et₂O 層を合わせ、水洗、乾燥後、濾過し減圧留去した、残留物に 5% AcONa・MeOH 溶液 (20 ml) を加えよく振り混ぜ溶解した後、515 nm での吸光度を測定した。

[AR 定量] 全水層を合わせ、沸騰水浴中 5% FeCl₃(20ml), conc. HCl(20 ml) で順次分解した後放冷した。反応液に Et₂O(50 ml) を加え分配抽出した。以後 AQ 定量と同様の操作を行い、515 nm での吸光度を測定した。

AQ は 1,8-dihydroxyanthraquinone を、AR は sennoside A を標準品としてそれぞれ吸光度を比較し、含量を算出した。

2) SA, SB の HPLC 定量: 成分測定用試料原液をメンブランフィルター (0.45 μm) で濾過し、HPLC 用試料溶液とした。HPLC 条件: カラム, Capcell pak ODS SG-120 (4.6×150 mm); カラム温度, 33°C; 検出波長, 280 nm; 移動相, H₂O・MeCN・AcOH 混液 (90:10:1) から (70:30:1) までのリニアグラジエント法 (60分); 流速, 0.7 ml/min. 保持時間: SA, 36分; SB, 29分。ピーク高さ法にて定量。

3) CA, GA の HPLC 定量: 試料末 (約 100 mg) を精密に量り、80% Me₂CO(50 ml) を加え、超音波抽出 (20 min) 後、遠心分離した。上澄液を減圧濃縮し、残留物に 70% MeOH を加え正確に 50 ml とし、メンブランフィルター (0.45 μm) で濾過し、HPLC 用試料溶液とした。HPLC 条件: カラム, Capcell pak ODS SG-120 (4.6×250 mm); カラム温度, 35°C; 検出波長, 280 nm; 移動相, 0.05 M H₃PO₄・MeCN 混液 (95:5) から (50:50) までのリニアグラジエント法 (70分); 流速, 0.7 ml/min. 保持時間: CA, 20分; GA, 7.5分。ピーク高さ法にて定量。

4) Hy-GA の HPLC 定量: 試料末 (約 100 mg) を精密に量り、熱水 (50 ml) を加え、ホットプレート上で 5 時間加熱還流。放冷後、メンブランフィルター (0.45 μm) で濾過し、HPLC 用試料溶液とした。なお、加熱還流時間については、3~7 時間について検討した結果から決定した。HPLC 条件は、CA, GA の定量と同様。

以上の定量結果を TABLE II に示す。

結果および考察

1. 大黃の原植物と粉末色、水抽出液の色、各種成分含量との間には相関性が認められなかった (TABLE III-1, 2)。すなわち、今回実験に供した *R. palmatum* あるいは *R. tanguticum* に由来する大黃については、地下部の色や成分化学的な品質に影響を与えている因子は、種の違いよりも、種内変動等による影響のほうが大きいということが示唆

TABLE III-1. Colors of Fine Powders and H₂O Extracts of RHUBARB

Sample	Fine Powder					H ₂ O				
	L*	a*	b*	C*	CT	L*	a*	b*	C*	CT
A	55.21	+4.03	+36.92	37.14	66.54	98.53	-7.30	+21.46	22.67	101.10
B	45.67	+7.14	+25.07	26.07	52.59	95.61	-5.81	+17.87	18.79	97.44
C	44.58	+8.70	+28.60	29.89	53.67	93.98	-7.93	+26.67	27.82	98.01
D	33.21	+3.62	+16.30	16.70	37.17	99.11	-7.47	+20.32	21.65	101.45
E	49.97	+7.04	+30.75	31.55	59.10	99.76	-6.37	+14.45	15.79	101.00
F	44.25	+7.31	+29.29	30.19	53.57	96.30	-9.77	+33.29	34.69	102.36
G	39.52	+3.75	+23.68	23.98	46.23	95.28	-9.57	+33.52	34.86	101.46
H	59.84	+6.15	+35.24	35.77	69.72	98.56	-6.79	+19.54	20.69	100.71
I	45.88	+8.84	+29.26	30.57	55.13	93.75	-6.88	+22.36	23.39	96.62
J	38.59	+5.86	+20.79	21.60	44.22	97.04	-5.65	+21.91	22.63	99.64
K	40.21	+6.98	+24.53	24.81	47.25	97.19	-9.04	+29.53	30.88	101.98
L	50.29	+9.75	+32.46	33.89	60.64	96.89	-9.00	+27.43	28.87	101.10
M	39.03	+6.40	+23.64	24.49	46.08	97.77	-7.26	+23.57	24.67	100.83
N	42.60	+5.03	+25.63	26.12	49.97	95.21	-8.76	+28.61	29.92	99.80
O	35.10	+4.84	+17.90	18.54	39.70	95.92	-8.37	+32.00	33.07	101.46
P	40.07	+6.32	+26.25	27.00	48.32	98.57	-7.38	+18.86	20.25	106.63
Q	39.34	+6.12	+24.02	24.79	46.50	96.66	-10.17	+35.31	36.75	103.41
R	43.83	+4.95	+27.98	28.41	52.23	95.98	-6.90	+22.43	23.46	98.81

TABLE III-2. Colors of Solutions after Addition of Reagents

Sample	NaHCO ₃					FeCl ₃				
	L*	a*	b*	C*	CT	L*	a*	b*	C*	CT
A	96.36	-3.11	+21.80	22.02	98.84	74.07	-1.03	+46.38	46.40	87.40
B	92.38	-0.35	+18.45	18.46	94.21	76.69	-2.32	+44.08	44.14	88.49
C	89.93	+0.04	+26.46	26.46	93.74	68.37	-0.55	+46.95	46.96	82.94
D	94.10	+0.94	+20.23	20.26	96.26	84.49	-0.75	+46.29	46.30	96.34
E	96.75	-1.99	+16.15	16.27	98.11	78.58	-2.59	+44.08	44.15	90.13
F	91.22	+0.40	+33.92	33.92	97.32	69.00	+1.79	+51.72	51.75	86.25
G	89.50	+2.47	+35.72	35.80	96.39	70.58	+4.76	+54.15	54.36	89.09
H	96.32	-1.10	+18.40	18.43	98.07	81.86	-3.17	+42.21	42.33	92.16
I	90.29	+1.24	+20.74	20.78	92.65	73.82	-2.18	+45.65	45.70	86.82
J	94.58	-0.78	+22.17	22.18	97.15	81.23	-0.20	+46.06	46.06	93.38
K	92.47	+0.51	+27.54	27.54	96.48	72.16	-0.86	+49.41	49.42	87.46
L	93.33	-1.72	+28.11	28.16	97.49	68.03	+0.29	+49.03	49.03	83.86
M	94.56	-0.95	+24.58	24.60	97.71	79.85	-0.21	+47.88	47.88	93.10
N	90.89	-0.50	+29.44	29.89	95.68	77.16	+2.24	+51.97	52.02	93.06
O	90.54	+0.61	+33.63	33.64	96.59	75.37	+3.16	+54.11	54.20	92.83
P	94.61	-0.73	+20.35	20.37	96.78	80.92	-0.18	+47.64	47.64	93.90
Q	90.46	+2.02	+37.57	37.63	97.97	71.48	+3.91	+54.90	55.04	90.22
R	92.11	+0.37	+23.67	23.67	95.11	79.83	+1.32	+48.62	48.63	93.48

された。

2. 各成分定量値については、過去の多くの報告にも示されているように、試料間で大きな含量差が認められた (TABLE II)。とくに SA では40倍強 (試料 H, 0.05%~N, 2.07%) もの含量差が認められ、また CA に関してはほとんど含まれていない試料 (J) も認められた。

TABLE IV. Correlation Coefficient between Colors and Chemical Constituents of RHUBARB

		AQ	AR	SA	SB	CA	GA	Hy-GA
Fine powder	L*	-0.381	-0.544	-0.460	-0.394	0.697	0.203	0.592
	a*	-0.340	-0.298	-0.221	-0.133	0.595	-0.102	0.507
	b*	-0.419	-0.420	-0.328	-0.257	0.694	0.348	0.634
	C*	-0.438†	-0.423	-0.330	-0.254	0.715†	0.330	0.641
	CT	-0.406	-0.512	-0.423	-0.353	0.714	0.248	0.617
H ₂ O	L*	0.255	-0.252	-0.198	-0.299	-0.220	-0.159	-0.062
	a*	-0.130	-0.736	-0.516	-0.525	0.090	-0.269	-0.212
	b*	0.124	0.768	0.537	0.537	-0.175	0.142	0.052
	C*	0.125	0.771	0.540	0.540	-0.172	0.151	0.063
	CT	0.161	0.367	0.187	0.141	-0.407	0.218	-0.067
NaHCO ₃	L*	0.090	-0.550	-0.384	-0.397	0.049	-0.168	0.038
	a*	0.231	0.452	0.269	0.232	-0.291	0.058	-0.264
	b*	0.077	0.831	0.570	0.554	-0.253	0.142	-0.009
	C*	0.073	0.835	0.576	0.560	-0.253	0.145	-0.010
	CT	0.187	0.157	0.084	0.042	-0.225	-0.074	0.038
FeCl ₃	L*	0.274	-0.269	-0.105	-0.174	-0.424	-0.371†	-0.645
	a*	0.021	0.884	0.587	0.528	-0.495	0.149	-0.284
	b*	0.045	0.895†	0.618†	0.579†	-0.412	0.125	-0.179
	C*	0.045	0.894	0.614	0.574	-0.409	0.128	-0.176
	CT	0.343	0.179	0.208	0.108	-0.708	-0.357	-0.832†

†: the highest value in column

3. 試料末の色および水抽出液の色と、各種成分含量との相関性を、データ解析ソフト（日本マイコン販売、多変量解析）を用いて検討した結果（TABLE IV）、FeCl₃ 発色の b* と AR 含量との間に、最も高い相関（相関係数 = 0.895）が認められた。次いで、FeCl₃ 発色の CT と Hy-GA 含量との間に高い相関（-0.832）が認められた。他の成分については、SA, SB では FeCl₃ 発色の b* との間に 0.6 程度、CA では試料末の c* との間に 0.7 程度の相関性がそれぞれ認められた。なお、AQ および GA については、各種色の測定値との間に相関性は認められなかった。H₂O 基準液および NaHCO₃ で発色した溶液については、AR 含量との間に相関性が認められたが、FeCl₃ 発色の b* 値にはおよばなかった。また、水抽出液の色と発色試薬添加後の色差を求め同様に検討したが、各成分定量値との間に有為な相関性は認められなかった。さらに、70% MeOH, 80% Me₂CO の抽出液の色についても検討したが、相関性は認められなかった。

4. 大黃粉末色およびその水抽出液に塩化第二鉄水溶液を加えて発色させた色を測定するという簡単な操作で、各種化学成分の含有量に関する多くの情報が得られることが明らかになった。すなわち粉末色の c* の大きいものは CA が、FeCl₃ 発色後、b* の大きいものは SA, SB および AR が多く、CT の小さいものは Hy-GA が多い傾向にある。

以上、小型軽量で携行可能な色彩計を用い、かつ簡単な操作で、大黃の成分化学的な品質評価が可能であることを明らかにした。

謝 辞：本研究に用いた大黃を供与された株式会社栃本天海堂ならびに日野薬品株式会社に深謝する。

引用文献および注

- 1) 第1報：御影雅幸，武田章江，津田喜典，生薬，46，1（1992）。
- 2) 高内誠二，白木真美，中崎紀夫，藤岡章二，矢敷孝司，伊東正行，宮坂智哉，日本生薬学会第37回年会講演要旨集，千葉，p. 125（1990. 10）。
- 3) 原田正敏編，“繁用生薬の成分定量”，廣川書店，東京，1989，pp. 245-258。
- 4) Y. Kashiwada, G. Nonaka, I. Nishioka, *Chem. Pharm. Bull.*, 37, 999（1989）。
- 5) a) Z.-C. Lou, X. Wang, M. Mikage, T. Namba, *Shoyakugaku Zasshi*, 42, 291（1988）; b) X. Wang, Z.-C. Lou, M. Mikage, T. Namba, *ibid.*, 42, 302（1988）。