

## 【資料 2】有害試薬の使用 $\alpha$ -ナフトール確認試験(3)の改正検討

研究協力者：武田章弘（大阪健康安全基盤研究所 衛生化学部医薬品課）

### [目的]

外原規記載「 $\alpha$ -ナフトール」について、現行の有害試薬クロロホルムを用いた確認試験から、代替溶媒又は IR を用いた代替試験法の検討を行い、改正法案を設定した。

外原規 2021（現行法）における「 $\alpha$ -ナフトール」確認試験（3）は、以下の通りであり、有害試薬クロロホルムを用いる試験法である。本研究では、クリーンアナリシスの観点から、有害試薬の代替溶媒を用いた試験法の検討を行った。

### 「 $\alpha$ -ナフトール」確認試験（3）

本品及び1-ナフトールのそれぞれ0.01g に2-プロパノール/水/アンモニア水（28）混液（9：3：1）1 mL ずつを加えて溶かした後、更にそれぞれに亜硫酸水素ナトリウム 0.1g を加えて振り混ぜ、試料溶液及び標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 1  $\mu$ L ずつを薄層板にスポットし、ヘキサン/アセトン/クロロホルム混液（2：1：1）を展開溶媒として薄層クロマトグフィーにより試験を行う。薄層板にリンモリブデン酸試液を噴霧するとき、1-ナフトールと等しい Rf 値に青色～紫色のスポットを認める。

### [方法]

外原規「 $\alpha$ -ナフトール」確認試験（3）の規定に準じて、市販の1-ナフトールを用いて検討を行った。薄層版は TLC ガラスプレートシリカゲル 60（Merck Millipore）（20×20 cm）を用いた。市販の1-ナフトールは、異なるメーカー3社の試薬を用いた。

A 社製品：純度>99.0%（GC）

B 社製品：純度>99.0%（GC）

C 社製品：純度>99.0%（GC）

### [結果]

まず、現行の試験法（展開溶媒：ヘキサン/アセトン/クロロホルム混液（2：1：1））にて市販の1-ナフトール（A 社製品）を用いて確認試験を実施した結果、Rf 値：0.57 の青色～紫色のスポットを認めた（Fig. 1）。

次に、展開溶媒をヘキサン/アセトン混液に変更し、溶媒比率をそれぞれ①ヘキサン/アセトン（1：1）、②ヘキサン/アセトン（3：1）、③ヘキサン/アセトン（3：2）、④ヘキサン/アセトン（2：1）として、市販の1-ナフトール（A 社製品）を用いて確認試験を行った。その結果、Rf 値はそれぞれ 0.68, 0.42, 0.63, 0.49 であり、いずれも青色～紫色の同色調のスポットを認めた（Fig. 2）。そこで、溶媒比率を④ヘキサン/アセトン（2：1）に設定し、市販の1-ナフトール（A 社製品）を用いて再度確認試験を行った。その結果、Rf 値は 0.50 であり、青色～紫色の同色調のスポットを認めたことから、試験としての再現性を確認した（Fig. 3）。さらに市販2社製品を追加し、合計3社製品について④ヘキサン/アセトン（2：1）の条件にて確認試験を行った。その結果、いずれ Rf 値は 0.43~0.45 であり、青色～紫色の同色調のスポットを認めた（Fig. 4）。

以上の結果から、「 $\alpha$ -ナフトール」確認試験（3）において用いる展開溶媒とその比率を、

【現行】ヘキサン/アセトン/クロロホルム混液  
(2:1:1) から、有害試薬を排除した【改正  
案】ヘキサン/アセトン混液(2:1) とすること  
が可能であることが示された。

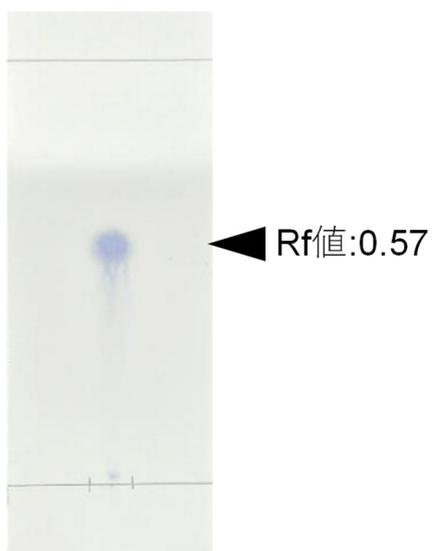


Fig. 1  $\alpha$ -ナフトール（市販 A 社製品）の TLC 分析

展開溶媒（現行法）：ヘキサン/アセトン/クロロホルム混液（2 : 1 : 1）

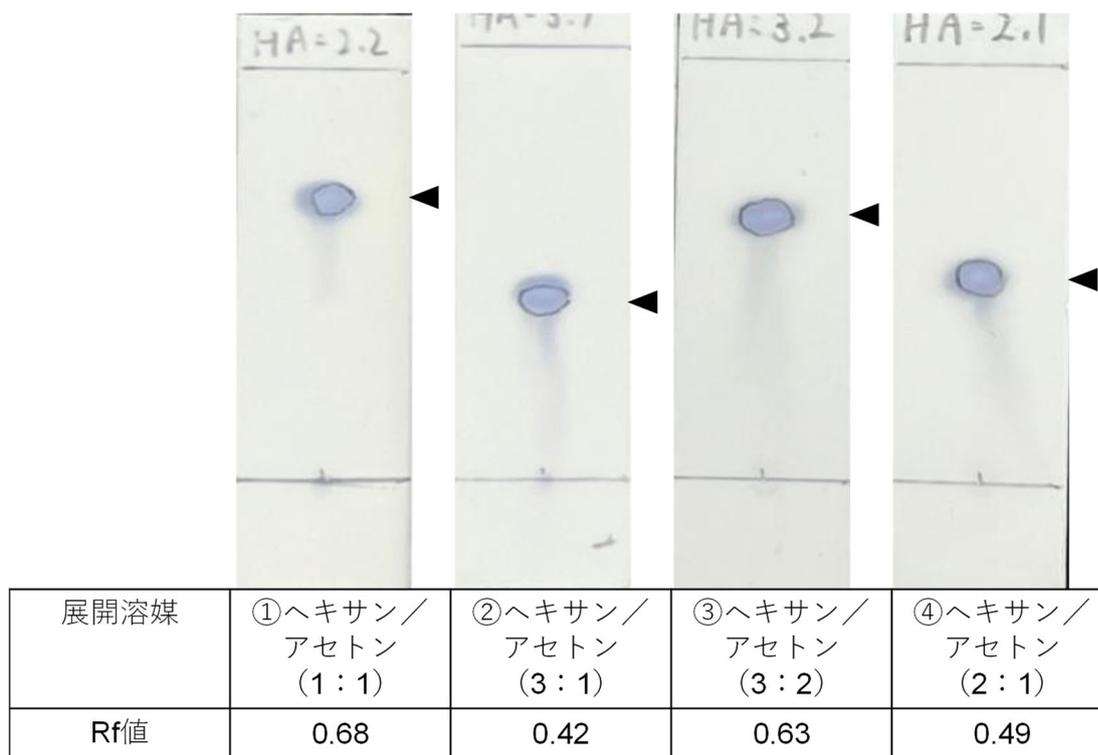


Fig. 2  $\alpha$ -ナフトール（市販 A 社製品）の TLC 分析

展開溶媒：

①ヘキサン/アセトン（1 : 1），②ヘキサン/アセトン（3 : 1），③ヘキサン/アセトン（3 : 2），④ヘキサン/アセトン（2 : 1）

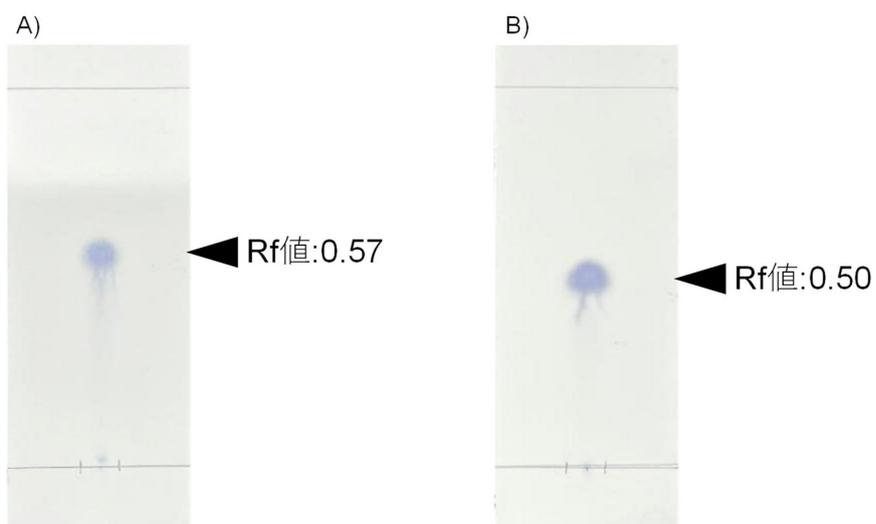


Fig. 3  $\alpha$ -ナフトール（市販 A 社製品）の TLC 分析

A) 展開溶媒（現行法）：ヘキサン/アセトン/クロロホルム混液（2 : 1 : 1）

B) 展開溶媒：④ヘキサン/アセトン（2 : 1）

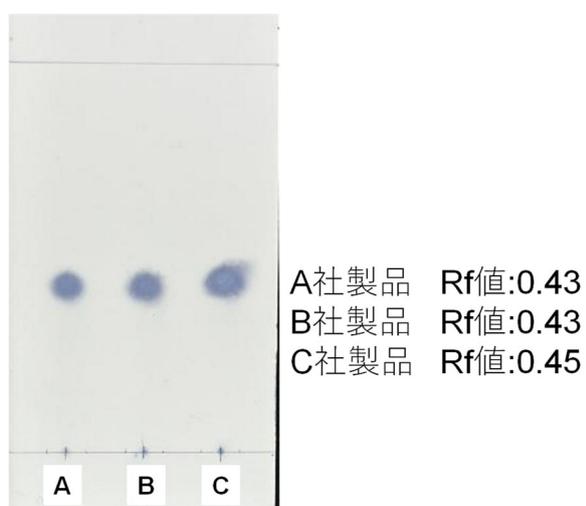


Fig. 4  $\alpha$ -ナフトール（市販 3 社製品）の TLC 分析

展開溶媒：④ヘキサン/アセトン（2 : 1）