厚生労働行政推進調査事業費(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業)
総括研究報告書

医薬部外品原料規格の整備に関する試験法の開発研究

研究代表者 内山 奈穂子 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 部長

【資料 2】有害試薬の使用 医薬部外品原料規格「ジヘプタデシルケトン」確認試験の改正検討

研究協力者：
【確認試験検討-1】武田章弘（(地独) 大阪健康安全基盤研究所),
【確認試験検討-2】稲葉涼太，立川 孟,成瀬敦子，中村 絢，橋本秀樹，鈴木俊也（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）

[目的]

本研究では，外原規 2021（現行法）における「ジヘプタデシルケトン」(Fig. 1）の確認試験について，クリーンアナリシスの観点から，有害試薬であるジオキサンを用いない代替試験法の検討を行った.

【確認試験検討-1】として，有害試薬の代替溶媒を用いた試験法の検討,【確認試験検討-2】として，赤外吸収スペクトル測定法を用いた代替試験法の検討を行った.

【確認試験検討-1】

[方法-1]

1. 試薬

全て富士フイルム和光純薬株式会社製を用いた．ジオキサン，酢酸ブチル，クロロホルム，水酸化ナトリウム，ヨウ素，ヨウ化カリウム，サリチルアルデヒド，エタノール(95)（いずれも試薬特級)，テトラヒドロフラン（THF，高速液体クロマトグラフ用)，メタノール（LC/MS 用）

2. 試料

ジヘプタデシルケトン（A 社製，純度：>95.0%)

3. ジヘプタデシルケトンの各種有機溶媒への溶解性の確認

ジヘプタデシルケトン 0.1 g に対し，以下の有機溶媒 5 mL を加えた.

使用した有機溶媒：ジオキサン，酢酸ブチル，クロロホルム，テトラヒドロフラン，メタノール

4. 外原規のジヘプタデシルケトンの確認試験の実施

現行の外原規 2021 のジヘプタデシルケトンの確認試験は以下のとおりである [1].

(1) 本品 0.1 g にジオキサン 5 mL を加えて溶かし，これを試料溶液とする．試料溶液 1 mL に水酸化ナトリウム試液 1 mL を加え，水浴上でわずかに加温し，0.5 mol/L ヨウ素試液 2～3 滴を滴加するとき，直ちに黄色の沈殿を生じる.

(2) (1)の試料溶液 1 mL にサリチルアルデヒド・エタノール(95)溶液(1→5)2 滴及び水酸化ナトリウム溶液(1→2)1 mL を加え，水浴上で加熱するとき，液は，赤色を呈する.

[結果-1]

1. ジヘプタデシルケトンの各種有機溶媒への溶解性の確認（Fig. 2-1)）

ジヘプタデシルケトンに各種溶媒を加えて溶解させようとしたところ,外原規の確認試験で設定されているジオキサンを含め,ジヘプタデシルケトンを溶解させることができなかった.

水浴で 70℃に加温したところ，メタノールを除いて,ジヘプタデシルケトンを溶解するこ

とができた.

2. 外原規のジヘプタデシルケトンの確認試験(1)の実施（Fig. 2-2) , 2-3))

有機溶媒としてジオキサン，酢酸ブチル，クロロホルム，THF を用いて，外原規のジヘプタデシルケトンの確認試験(1)を実施した．溶液は試液を加える度に水浴で 70℃に加温した.

水酸化ナトリウム試液を添加すると，THF を除いて白色の固形物が析出した. 有機溶媒にジオキサン，クロロホルムを用いた場合，70℃に加温しても，この固形物は溶解しなかった.

0.5 mol/L ヨウ素試液を添加しても，いずれの有機溶媒を用いた溶液でも黄色の沈殿は生じず，70℃に加温しても変化はなかった.

3. 外原規のジヘプタデシルケトンの確認試験(2)の実施

有機溶媒としてジオキサン，酢酸ブチル，クロロホルム，THF を用いて，外原規のジヘプタデシルケトンの確認試験(2)を実施した（Fig. 3).

サリチルアルデヒド･エタノール(95)溶液(1→5)を滴加すると，全ての有機溶媒を用いた溶液で沈殿を生じた.

水酸化ナトリウム溶液(1→2)を加えても，同様に全ての有機溶媒を用いた溶液で沈殿を生じた.

この溶液を水浴上で加熱すると，液は赤色ではなく黄色を呈した.

[考察-1]

確認試験(1)はヨードホルム反応によると考えられる. この反応は分子内のアセチル基または酸化されるとアセチル基を生じる構造を有する物質が塩基性条件下でヨウ素と反応し，ヨードホルムを生じる反応である. しかしながら，ジヘプタデシルケトンは分子内にアセチル基または酸化されるとアセチル基を生じる構造を有していない．したがって，ヨードホルム反応を示さず，確認試験(1)を遂行できなかったと考えられる.

確認試験(2)と同様の確認試験が日本薬局方の「イソプロパノール」の確認試験に収載されている．この確認試験では，イソプロパノールが酸性で二クロム酸カリウムにより酸化されて生成したアセトンはサリチルアルデヒドと強アルカリ性で反応し赤色～赤褐色を呈する[2)]．ジヘプタデシルケトンはアセトンを生成せず，サリチルアルデヒドとは反応しないため，確認試験(2)ができなかったと考えられる.

[まとめ-1]

外原規に収載されているジヘプタデシルケトンの確認試験で有害試薬であるジオキサンを用いない代替試験法を検討したが，ジオキサンを含め検討した有機溶媒でジヘプタデシルケトンを溶解させることができなかった.

水浴上で 70℃に加温すると，メタノールを除いた各種有機溶媒にジヘプタデシルケトンが溶解したので，外原規に収載されている確認試験(1)及び(2)を実施したが，いずれの確認試験も遂行することができなかった.

外原規に収載されているジヘプタデシルケトンの確認試験は化学的にできないと考えられる.

今回，外原規 2021 で試験法の不備と推測される項目が確認された．今後，これらを含めて，外原規の改正を検討する必要があると考えられる.

［参考文献］

1) 医薬部外品原料規格 2021
2) 株式会社廣川書店(2022) 第十八改正日本薬局方解説書

【確認試験検討-2】

次に，代替試験法として，赤外吸収スペクトル測定法による確認試験を検討した.

[方法-2]

外原規 2021 の一般試験法：赤外吸収スペクトル測定法における確認方法では，「各条に記

載された波数を確認する」又は，「参照スペクトルと比較するか」のいずれかで確認することになっている．今回，外原規の条件に従い，以下の条件で測定を行った．また，試験に用いたジヘプタデシルケトンは，メーカー３社から購入した試薬を用いた．前処理は，臭化カリウム錠剤法及び臭化カリウム薄膜法で行った．

【測定装置】

IRTracer-100（島津製作所）

アポダイズ関数：Happ-Genzel

積算回数：32 回

分解能：4 cm^{-1}

波数範囲 4000～400 cm^{-1}

解析：大気補正

光源：セラミックス光源

校正：ポリスチレン 0.04mm 膜

【測定したジヘプタデシルケトン】

異なるメーカー3 社の試薬を測定．

試料Ａ：純度＞98.9%

試料Ｂ：純度＞96.9%

試料Ｃ：純度＞98.8%

１）臭化カリウム錠剤法

光学結晶 粒状結晶 KBr（ジーエルサイエンス製）

２）臭化カリウム薄膜法

クリスタル IR カード（ICL 製）

トルエン分光分析用（富士フイルム和光純薬製）

［結果-2］

１）臭化カリウム錠剤法

ジヘプタデシルケトン 3 試料の赤外吸収スペクトルを Fig. 4 に示した．主要なピークとして，730 cm^{-1} 付近（720・730 cm^{-1}），1470 cm^{-1} 付近（1460・1470 cm^{-1}），1700 cm^{-1} 付近（1700・1705 cm^{-1}）に２本の近接したピークが確認され，2900 cm^{-1} 付近（2850・2920・2950 cm^{-1}）に 3 本の近接したピークが確認された．

錠剤法では，微小ピークが多かったため，ノイズとジヘプタデシルケトン由来の吸収を確認するために，次に薄膜法による測定を行った．

２）臭化カリウム薄膜法

薄膜法の試料作製にあたり，まず選択する溶媒を検討した（Table 1）．0.1g のジヘプタデシルケトンに対して 10mL の溶媒を加え，40℃で加温し溶解を確認したのち，滴下する操作に要する時間を想定して 5 分後の溶解状態を確認した．40℃の加温により，トルエン，シクロヘキサン/酢酸エチル混液(3:1)，テトラヒドロフランでは，完全溶解することができたが，シクロヘキサン，ヘキサン，酢酸エチル，アセトンでは，溶解しなかった．テトラヒドロフランでは，5 分放冷後に析出し，実際にピペットで溶液を吸い上げるとピペッター内で凝固してゲル状化した．

本検討においては，ジヘプタデシルケトンに由来する吸収を確認することに主眼を置いていたことから，溶媒が確実に除去できていることをスペクトルにより確認可能な，フェニル基由来の吸収を持つトルエンを採用することとした．なお，シクロヘキサン/酢酸エチル混液(3:1)又はテトラヒドロフランでも溶解は可能であることから，適用可能と考えられた．

薄膜法による赤外吸収スペクトルを Fig. 5 に示した．試料は，ジヘプタデシルケトンをトルエンに溶解し，臭化カリウムの窓板に滴下しドライヤーでトルエンを除去して測定した．錠剤法の結果と比べ，全体的に右肩上がりにドリフトしているが，微小なピークは少ない結果となった．

次に，薄膜法によるスペクトルのベースラインを補正した結果を Fig.6 に示した．錠剤法で認めた主要なピークが同様に確認でき，微小なピークがほとんど現れなかったため，先ほど錠剤法によるスペクトルで観測された 730 cm^{-1} 付近（720・730 cm^{-1}），1470 cm^{-1} 付近（1460・1470 cm^{-1}），1700 cm^{-1} 付近（1700・1705 cm^{-1}）の２本の近接したピーク，2900 cm^{-1} 付近（2850・2920・2950 cm^{-1}）の 3 本の近接したピークが，

ジヘプタデシルケトン由来のシグナルであることが示唆された.

３）赤外吸収スペクトル解析と波数

次に，赤外吸収スペクトル解析ソフト（KnowItAll, Wiley 製）を用いて，構造からスペクトル予測を行った（Fig. 7）. 1700 cm^{-1} 付近（1700・1705 cm^{-1}）の２本の近接したピークがケトン由来であり, このほかはアルカン由来と推測された.

さらに, 実測データからジヘプタデシルケトンの吸収と考えられる波数をまとめた（Table 2）. 3 つのいずれの試料（A～C）でも同様の波数で同様の吸収を認め, 錠剤法による測定及びトルエン溶解後の薄膜法での測定において, いずれの方法でもジヘプタデシルケトンの主要な吸収を確認することが可能であった.

［まとめ-2］

錠剤法，薄膜法，どちらの方法においても，同様の波数でジヘプタデシルケトン由来の赤外吸収を測定することが可能であった（波数 : 2950 cm^{-1}, 2920 cm^{-1}, 2850 cm^{-1}, 1705 cm^{-1}, 1700 cm^{-1}, 1470 cm^{-1}, 1460 cm^{-1}, 730 cm^{-1}, 720 cm^{-1}）（注 : 外原規から抜粋. 波数 2000 cm^{-1} 以上では 10 cm^{-1}，波数 2000 cm^{-1} 未満では 5 cm^{-1} 単位で波数をまるめ，末尾に「付近」の語句を付ける）.

錠剤法では, 臭化カリウム結晶と固体のジヘプタデシルケトンでは, 硬さや加圧時の延び広がり方などの物理的な性質が異なるため均一に混ざりにくく, 混和操作を行う際に留意する必要があり. また，十分に混和を行い，散乱によるノイズを低減する必要があることが示された.

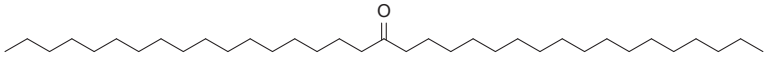
薄膜法では, ノイズが少ない良好なスペクトルが得られた. 検討では，溶解性及びスペクトルから溶媒の除去が確認できるトルエンを用いたが，シクロヘキサン/酢酸エチル混液(3:1)及びテトラヒドロフラン等でも溶解することはできるため，応用が可能と考えられた.

【ジヘプタデシルケトンの定性に使用できると考えられる波数】2950 cm^{-1}, 2920 cm^{-1}, 2850 cm^{-1}, 1705 cm^{-1}, 1700 cm^{-1}, 1470 cm^{-1}, 1460 cm^{-1}, 730 cm^{-1}, 720 cm^{-1} 付近.

［結論］

本研究では，外原規「ジヘプタデシルケトン」の確認試験改正を目的として，１）有害試薬の代替溶媒を用いた試験法の検討及び，２）赤外吸収スペクトル測定法を用いた代替試験法の検討を行った. その結果，１）では，現行法での確認試験が実施できず，試験法の不備と推測された. 次に，２）赤外吸収スペクトル測定法を用いた場合，定性可能であることが示された.

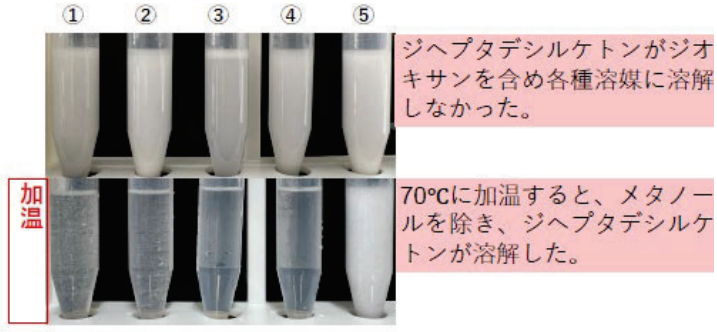
以上の結果から, ジヘプタデシルケトンの代替試験法として, 赤外吸収スペクトル測定法による確認試験が設定可能であることが示された.



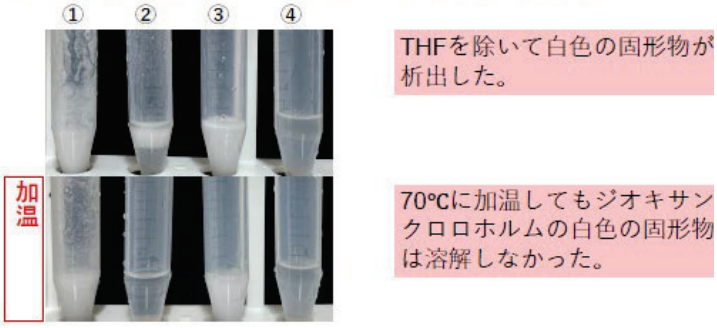
Chemical Formula: $C_{35}H_{70}O$
Molecular Weight: 506.9

Fig. 1 ジヘプタデシルケトンの構造式

1) ジヘプタデシルケトンを５種の溶媒を添加



2) 1) の試料溶液1 mLに水酸化ナトリウム試液1 mL添加



3) 0.5 mol/Lヨウ素試液2~3滴を滴加

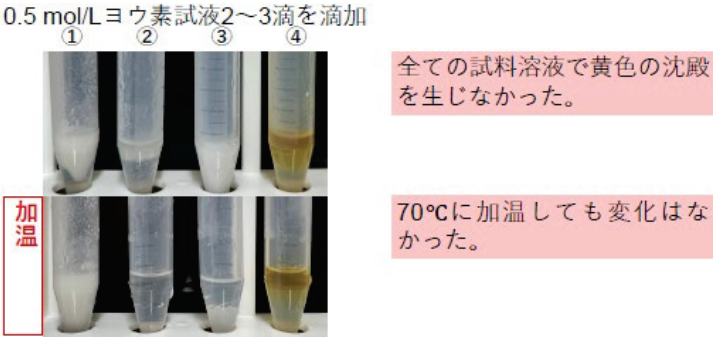


Fig. 2 現行法「ジヘプタデシルケトン」確認試験（1）の結果
有機溶媒：①ジオキサン，②酢酸ブチル，③クロロホルム，④THF，⑤メタノール

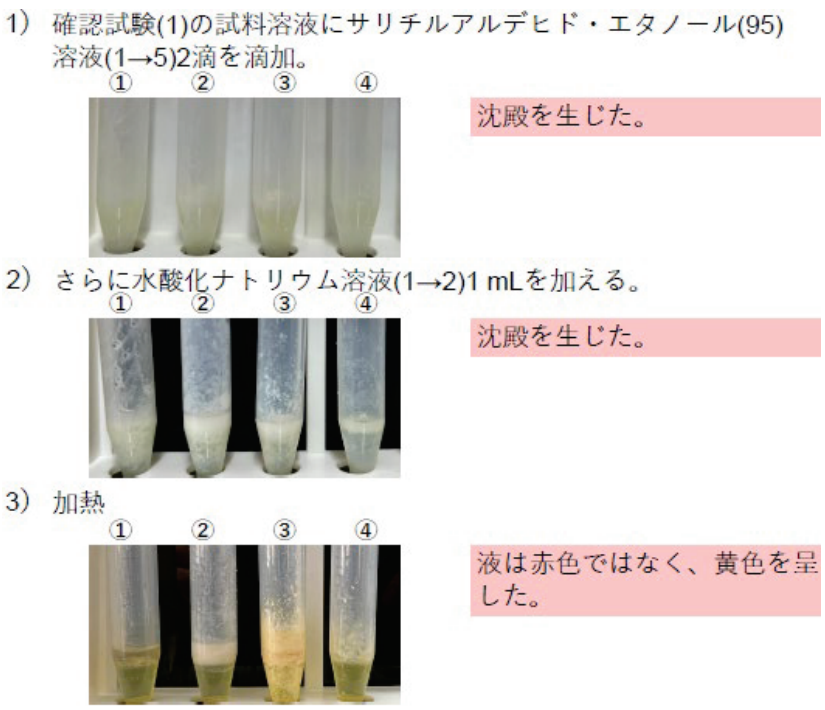
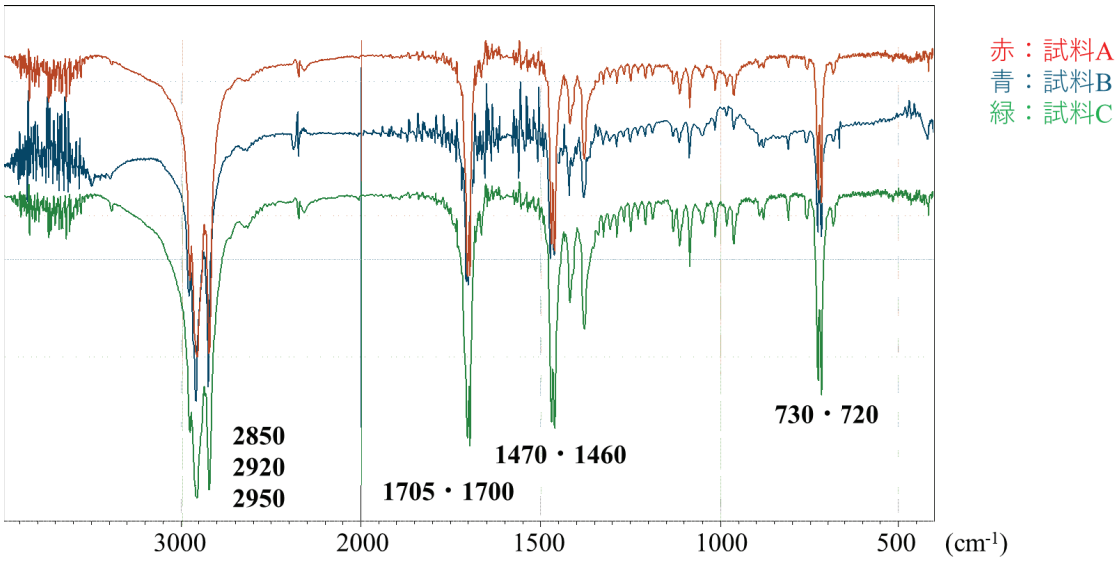


Fig. 3 現行法「ジヘプタデシルケトン」確認試験（2）の結果
有機溶媒：①ジオキサン，②酢酸ブチル，③クロロホルム，④THF



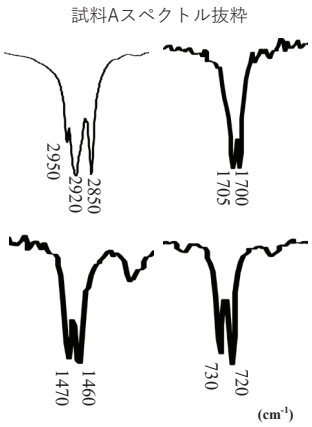


Fig. 4 臭化カリウム錠剤法によるジヘプタデシルケトン試料の赤外吸収スペクトル

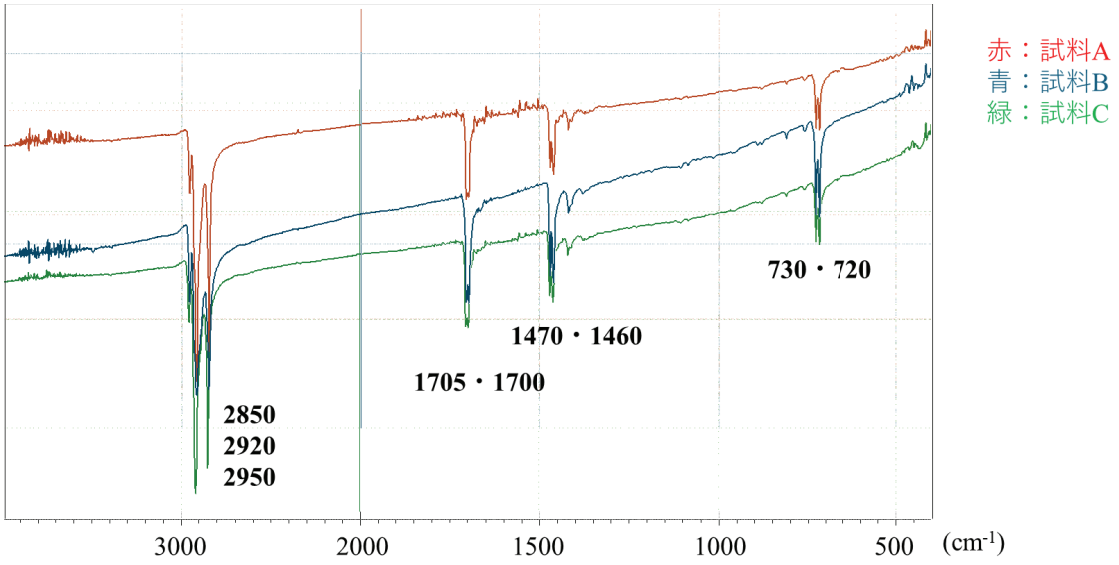


Fig. 5 臭化カリウム薄膜法によるジヘプタデシルケトン試料の赤外吸収スペクトル

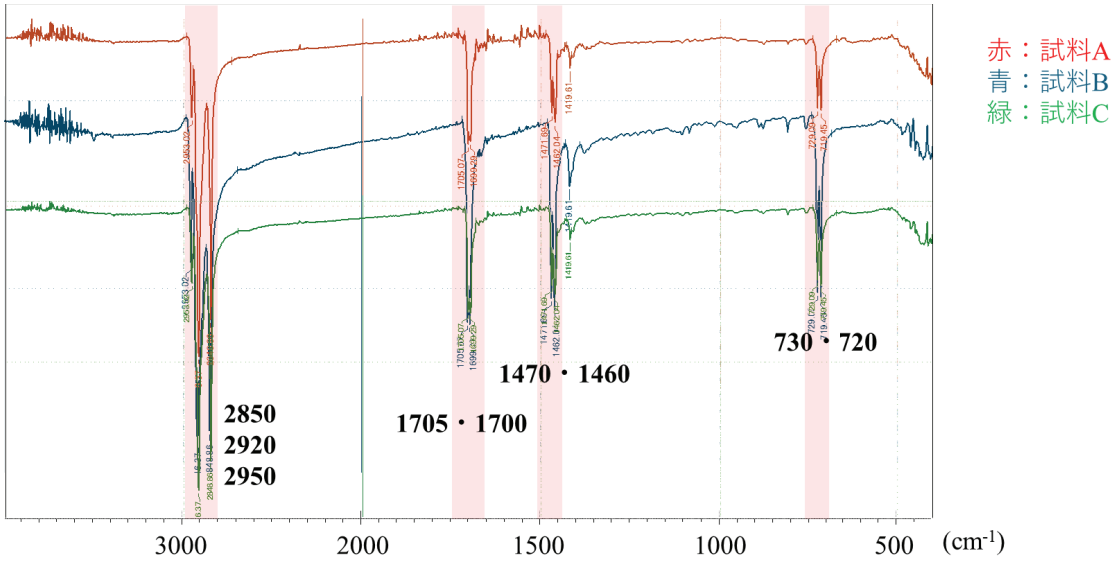


Fig. 6 臭化カリウム薄膜法によるジヘプタデシルケトン試料の赤外吸収スペクトル（ベースライン補正）

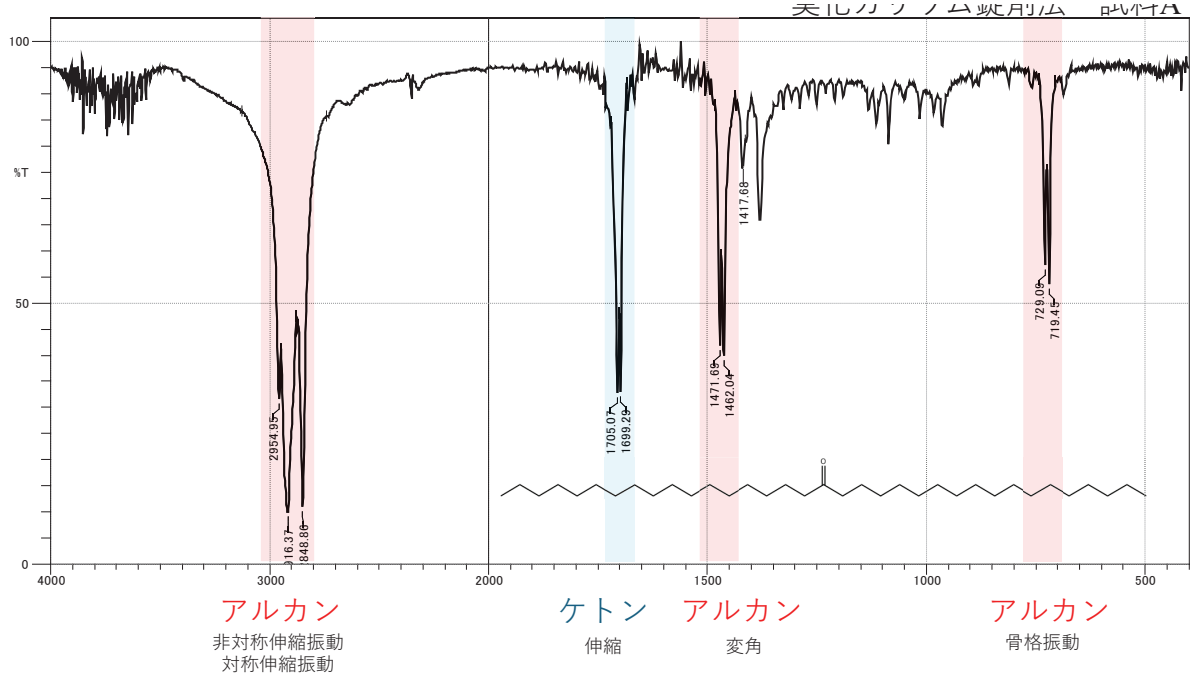


Fig. 7 臭化カリウム錠剤法によるジヘプタデシルケトン試料のスペクトル解析
実測赤外吸収スペクトル及び構造から推定されるシグナル（ハイライト箇所）

Table 1 ジヘプタデシルケトンの薄膜法での試料作製にあたり使用する溶媒の検討

No	溶媒	40℃, 10分 加温後	常温 5分放冷	薄膜作製
①	トルエン	○	○	溶解しやすく薄膜作製が可能 フェニル基由来の吸収で残存を確認可能
②	シクロヘキサン/ 酢酸エチル混液(3:1)	○	○	溶解しやすく薄膜作製が可能 赤外吸収がジヘプタデシルケトンと類似
③	テトラヒドロフラン	○	△	ピペットで採取する際に、ピペット内で冷却 され飽和しやすい
④	シクロヘキサン	×	×	一部溶解するが、完全溶解しない
⑤	ヘキサン	×	×	一部溶解するが、完全溶解しない
⑥	酢酸エチル	×	×	溶解しない
⑦	アセトン	×	×	溶解しない

Table 2 ジヘプタデシルケトンの実測値，及び定性に使用可能と考えられる波数

試料	測定法	2950 (cm^{-1})	2920 (cm^{-1})	2850 (cm^{-1})	1705 (cm^{-1})	1700 (cm^{-1})	1470 (cm^{-1})	1460 (cm^{-1})	730 (cm^{-1})	720 (cm^{-1})
試料A	錠剤法	2954.9	2916.3	2848.8	1705.0	1701.2	1473.6	1462.0	729.0	719.4
	薄膜法	2953.0	2916.3	2848.8	1705.0	1699.2	1471.6	1462.0	729.0	719.4
試料B	錠剤法	2954.9	2916.3	2848.8	1705.0	1699.2	1471.6	1462.0	729.0	719.4
	薄膜法	2953.0	2916.3	2848.8	1705.0	1699.2	1471.6	1462.0	729.0	719.4
試料C	錠剤法	2954.9	2918.3	2848.8	1705.0	1699.2	1471.6	1462.0	729.0	719.4
	薄膜法	2953.0	2916.3	2848.8	1705.0	1699.2	1471.6	1462.0	729.0	719.4
関連が推測される分子構造		アルカン			ケトン		アルカン			