

薄層クロマトグラフ用色素標準品フラビアン酸について

辻 澄子[#]・古川みづき・中野真希・外海泰秀

Studies on Flavianic Acids as Color Reference Standard for Thin-layer Chromatography

Sumiko Tsuji[#], Mizuki Furukawa, Maki Nakano and Yasuhide Tonogai

Various flavianic acids were prepared and examined for the preparation for color reference standard for thin-layer chromatography (TLC). Their analytical data were: IR spectra, their specific absorptions were same; no impurities were detected; specific odor-free. It was clear that the prepared flavianic acids were useable as color reference standards for TLC.

Key Words: flavianic acid, color reference standard, thin-layer chromatography

化粧品など医薬部外品に用いるタール色素¹⁾の確認試験として薄層クロマトグラフ(TLC)を用いる方法が日本化粧品工業連合会技術資料で提示され²⁾, それを基に省令改正案が議論されている。それらのTLC法の大半にフラビアン酸標準品を用いている。一方, フラビアン酸は2,4-ジニトロ-1-ナフトール-7-スルホン酸(CAS No. 483・84・1)であり, そのナトリウム塩が黄色403号の(1)(ナフトールイエローS; C.I.10316, CAS No. 846・70・8)である。したがって, フラビアン酸標準品の調製にはナフトールイエローS国立衛生試験所(現国立医薬品食品衛生研究所)標準品を使用することが規定されている。今回はフラビアン酸調製原料として使用する場合において, ナフトールイエローS標準品だけでなく, 市販試薬などを用いて調製したフラビアン酸について品質を比較検討した結果, 若干の知見が得られたので報告する。

実験方法

1. 試薬及び溶媒

ナフトールイエローS標準品は国立医薬品食品衛生研究所標準品を, ナフトールイエローS試薬は和光純薬工業(株)製を, フラビアン酸試薬は東京化成(株)製の2水和物を用いた。その他の試薬及び溶媒はJIS試薬特級品を用いた。

2. フラビアン酸の調製

2.1 ナフトールイエローSからの調製

省令案に従ってフラビアン酸標準品(F・St)を調製した。すなわち, ナフトールイエローS標準品100 mgに水2 mlを加え, 溶かした後, 塩酸50 mlを加え, 攪拌後約5 にて約1時間放置した。析出した結晶をろ取し, これに水0.5 mlを加え約80 の水浴上で加温溶解した後, 放置して室温に戻した後, 約5 にて1時間放置し再結晶した。析出した結晶をろ取し, 風乾した後, デシケータ(減圧, シリカゲル)で2時間乾燥したものを用いた。更に, ナフトールイエローS試薬10 gを, 省令案に準じてフラビアン酸を調製した(F・)。

2.2 フラビアン酸からの調製

フラビアン酸試薬500 mgに水0.5 mlを加え, 約80 の水浴上で加温溶解した後, 放置して室温に戻し, 約5 にて1時間放置して再結晶した。析出した結晶をろ取し, 風乾した後, デシケータ(減圧, シリカゲル)で2時間乾燥したものを用いた(F・)。別にフラビアン酸試薬をデシケータ(減圧, シリカゲル)で2時間乾燥したものを用いた(F・)。

3. TLC

試料の水溶液(1→1000)を試験溶液とした。試験溶液2 mlについて, 1-ブタノール, エタノール(95%)及びアンモニア試液(希)の混液(6/2/3)を展開溶媒としてMerck製シリカゲル薄層板(Merck 1.05724; Silica gel 60, ガラス製1.8×100×200 mm)を用いてTLCを行った。

[#]To whom correspondence should be addressed: Sumiko Tsuji;
1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo, 158-8501, Japan;
Tel: 03-3700-1141; Fax: 03-3707-6950;
E-mail: tsuji@nihs.go.jp.

4. 赤外吸収 (IR) スペクトル測定

日本分光(株)製赤外分光光度計 FT-IR 装置 JASCO FT-IR VALOR[®] を用いて, KBr (錠剤) 法で試料の IR スペクトルを測定した。

5. 融点測定

宮本理研工業(株)製融点測定器 PA-30S (薬局方準拠) を用いて融点を測定した。

結果及び考察

1. フラビアン酸の分析結果

種々のフラビアン酸についての分析結果を Table.1 に示した。F[・] のみ特異な臭いを持ち, 他は臭わなかった。一方, F-St 及び F[・] は融点が存在しなく徐々に分解していったが, F[・] 及び は融点が存在した。Merck Index, 9th ed.³⁾ では, フラビアン酸は結晶水3分子を含んでいるため, 100 °C での融解を示し, 再度結晶化して融点が存在することを明記されている。しかし, 調製したフラビアン酸などはいずれも乾燥したものであり, 結晶状ではなく, 無水物であると考えられ, 100 °C での融

解は存在しなかった。なお, 試料量の多い F[・] 及び F[・] について, 省令に記載しているナフトールイエロー S の三塩化チタン法による定量法¹⁾ を準用して行ったところ, いずれも 89 % であった。

2. IR

種々のフラビアン酸の IR スペクトルを KBr (錠剤) 法で測定した。Fig.1 に F-St の IR スペクトルを示したが, 他のフラビアン酸 (F[・], 及び) の特異指紋領域と一致していた。しかし, ナトリウム塩であるナフトー

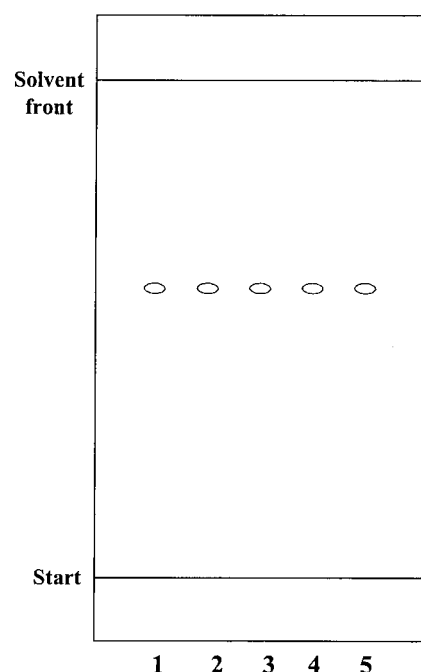


Fig.2 TLCs of various flavianic acid preparations

1: F-St, 2: F-I, 3: F-II, 4: F-III; see a footnote in Table 1. 5: Naphthol Yellow S NIHS Reference Standard

Table.1 Analytical data of various flavianic acids

Sample	Description	Melting point	Assay ^{a)}	pH (1% test solution)
F-St	Yellow needles and no odor	Did not melt and began to decompose about 170 °C	---- ^{b)}	----
F-I	Yellow needles and no odor	Did not melt and began to decompose about 170 °C	88.8%	2.38
F-II	Yellow needles and no odor	Melted between 142-147 °C and decomposed about 151 °C	----	----
F-III	Light-yellow needles and specific odor	Melted between 140-146 °C and decomposed about 150 °C	89.2%	1.75
Naphthol Yellow S Reagent	Yellow	-----	82.4%	9.74

^{a)} The content of flavianic acid and naphthol yellow S in the samples were determined by the titanium trichloride method described in the Low¹⁾

^{b)} Not determined

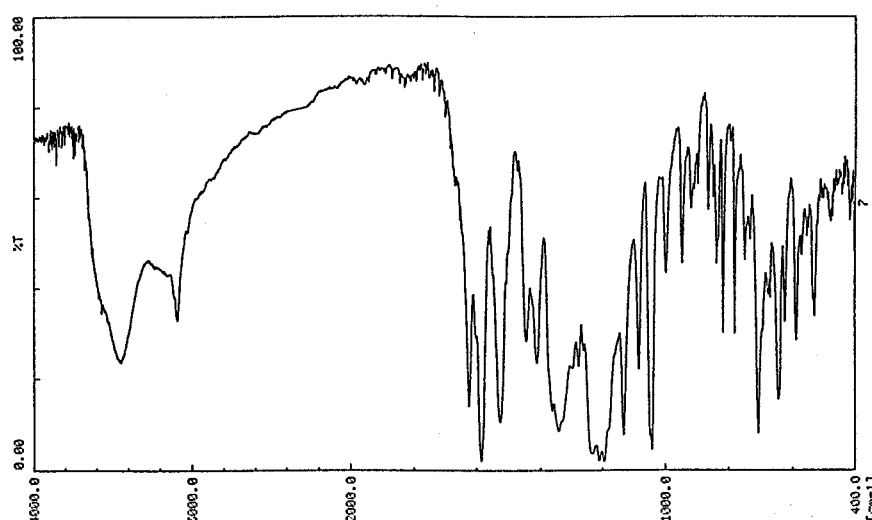


Fig. 1. IR spectrum of F-St (KBr Tablet)

F-St: see a footnote in Table.1.

ルイエローSの指紋領域^{4,5)}とは類似していたが、パターンは若干異なっていた。

3. TLC

種々のフラビアン酸のTLCを行い、その結果をFig.2に示した。いずれのフラビアン酸もRf 0.6付近にスポットが得られた。また、ナフトールイエローS標準品についても、Rf 0.6付近にスポットが得られた。それらの10倍の濃度の溶液においても、F⁻ 以外他のスポットは得られなかった。したがって、試薬自身以外の調製フラビアン酸(F⁻・St, F⁻・ 及びF⁻・)は全てTLC用標準品として使用可能であることが明らかになった。

文 献

- 1) 医薬品等に使用することができるタール色素を定める省令：厚生省令第30号(昭和41年8月31日), 改正：厚生省令第127号(平成12年10月20日)
- 2) Color Technical Committee of Japan Cosmetic Industry Association: *Technical Report of Japan Cosmetic Industry Association*, 101-122 (1993)
- 3) "Merck Index" 9th ed., Merck & Co., Inc., U.S.A., pp. 531-532 (1976)
- 4) Fujii, S., Kamikura, M., and Oka, N. : *Eisei Shikennjyo Hokoku*, 83, 72-74 (1965)
- 5) "Hotei Shikiso Hand Book", eds., by Japan Cosmetic Industry Association, Yakuji Nippo Lim., Tokyo, pp.218-220 (1988)