U.D.C. 615.32 : 544.83 : 547.857.4

刈米達夫, 井上隆夫: 植物成分の微量化学的研究 (第24 報)*

沝紙電気泳動法によるキサンチン塩基の分離について

Tatsuo Kariyone and Takao Inoue: Microchemical Studies on Plant Components. XXIV. Separation of Xanthine Derivatives by Paper Ionophoresis.

(Pharmaceutical Institute, Medical Faculty, University of Kyoto)**

Separation of caffeine, theobromine, theophylline, 3-methylxanthine, and xanthine by paper ionophoresis was examined. By migration with the Sørensen buffer of pH 2.3~11.1, caffeine and theobromine migrate towards the cathodic side at any pH, while the charge of theophylline, 3-methylxanthine, and xanthine changes at around pH 8, the compounds migrating towards the cathode at below pH 8, and towards the anodic side at above that pH. The best separation was effected at pH 8~9 and migration in 0.5% borax solution was found to completely separate the foregoing xanthine derivatives. Paper ionophoresis of the aqueous extract of tea leaves and of cacao beans with 0.5% borax solution was found to collect the spot of caffeine and theobromine, respectively, on the cathodic side, while other components in the aqueous extract migrated towards the anodic side.

(Received March 9, 1956)

著者等は先にカフェイン, テオブロミン, テオフィリン, 3-メチルキサンチン及びキサンチンの分離に沝紙クロマトグラフィーを応用して好結果を得たが, 今回は沝紙電気泳動法による分離について研究し, 前記キサンチン塩基を沝紙上に分離確認すると共に興味ある知見を得た.

著者等はメチルキサンチン類の泳動値が電解液の pH によつて如何に変化するかを観察するために, Sørensen の処方による pH 2~11 間の種々の緩衝液を調製し, 各 pH について前記塩基の沝紙電気泳動を行つた結果, Table I の如き泳動値が得られた. 即ち pH 7 附近までの酸性側ではすべての塩基は陰極に移動し, 泳動値は大体同様であるので分離は困難であるが, 興味のあるのは pH 8 以上のアルカリ性側であつて pH 8 付近で最初にキサンチンが陽極に移動し, pH が 8.5 になると 3-メチルキサンチン及びキサンチン及びテオフィリンも陽極に移動する. いずれも pH の増加と共にその移動値も大となるが特にキサンチンの速度は著しく大となる. これに反しカフェイン及びテオブロミンはアルカリ性側でも常に陰極に移行し, 前者は pH の増加に伴つて移動値は大となるが後者は殆んど変化しない.

Table I. Migration Distances of Xanthine Derivatives

Buffer pH	Citrate		Phosphate					Borate				
	2.3	4.4	5.3	6.2	7.2	8.0		7.6	8.5	9.1	9.5	11.1
Caffeine	-18	-16	-13	-20	-25	-38		-14	-13	-41	-31	-40
Theobromine	-3	-7	-3	-15	-19	-15		-10	-15	-19	-10	-13
Theophylline	-12	-14	//	-9	-22	-20		-12	+7	+20	+39	+31
3-Methylxanthine	-5	-7	-5	-5	-10	-5		0	+28	+18	+37	+30
Xanthine	-9	-13	-3	-7	-8	+14		+18	+53	+65	+64	+70

500 V (Constant Voltage), 3 hrs.; + : Migration towards anode, - : Migration towards cathode.

以上の結果より考察すれば, 元来キサンチン塩基は酸ともアルカリとも塩を作る両性物質であるが, カフェインは常に陰極に移動することより塩基性が最も強く, アルカリと置換し得る水素原子がすべてメチル基で置換されていることから明らかである. テオブロミンも同様の泳動状態を表わすことから常に塩基性を有しているといひ得る. これはキサンチン核の 1 位の水素はアルカリと置換し難く, テオブロミンソーダの極めて不安定な事実から推定し得る. これに反してテオフィリン, 3-メチルキサンチン及びキサンチンは両性の性質が著しく, アル

* 第 23 報: 本誌 76, 629(1956).

** Yoshida-konoe-cho, Sakyo-ku, Kyoto.

カリ性側では荷電が変化して陽極に移動する事実から 7 位の水素はアルカリと置換して比較的安定な塩を形成することを示している。なかんずくキサンチンが前 2 者より速かに移動するのは恐らく 3 位の水素が遊離していることから更に酸としての性質が強く表われるのであろうと推察し得る。これらの塩基を最もよく分離するのは pH 8~9 で沝紙クロマトグラフィーでは比較的接近した Rf 値を有するテオブロミンとテオフィリン及び 3-メチルキサンチンとキサンチンを完全に分離することが出来た。しかしテオフィリンと 3-メチルキサンチンは接近した泳動値を与えるので著者等は pH 8~9 附近の種々の電解液で実験を行つた結果、0.5% 硼砂溶液で 5~6 時間泳動させれば 3-メチルキサンチンとテオフィリンがよく分離し、またカフェインとテオブロミンの分離にも一層すぐれた結果を得ることが判明した。Fig. 1 はその泳動図を示す。茶葉及びカカオ子の水浸液を試料として 0.5% 硼砂溶液で泳動させると、タンニンフラボノイドを始め種々の色素類等の不純物はすべて陽極に移動し、カフェイン及びテオブロミンは陰極側に移動するため明瞭なスポットを与えたので定量にも利用し得る。なおこれら塩基の沝紙上に於ける検出は低波長紫外線 (250~270 mμ) 照射¹⁾で行つた。

Fig. 1. Paper Ionophoresis of Xanthine Derivatives

0.5% Borax, 500 V, 0.5 mA/cm, 5 hrs.
Toyo Filter Paper No. 50 (10×40 cm).

1. Caffeine, 2. Theophylline, 3. Theobromine
4. 3-Methylxanthine, 4. Xanthine.

本研究費の一部は文部省科学研究費を充当した。

実 験 の 部

キサンチン塩基の沝紙電気泳動 Sørensen の緩衝液 (pH 1~12) を調製しこれを蒸留水で 2 倍に希釈して電解液とした。東洋沝紙製沝紙電気泳動装置 A 号を用い、東洋沝紙 No. 50 (2×40 cm) の中心にカフェイン、テオフィリン、テオブロミン、3-メチルキサンチン及びキサンチン各 50 γ を点じて 500 V の定電圧で 3 時間泳動させた。

キサンチン塩基の検出 「科研遠紫外線フィルター 2537」を付したマツダ殺菌燈 GL-15 を展開沝紙に照射し、暗黒色のスポットとして検出。

茶葉及びカカオ子抽出液の沝紙電気泳動 0.1% 硼砂溶液を電解液として東洋沝紙 No. 50 (10×40 cm) の中心に各キサンチン塩基 50 γ 及び茶葉とカカオ子の水浸エキスを点じ 500 V の定電圧で 5 時間泳動させた。

京都大学医学部薬学科

1) 刈米, 井上: 本誌 74, 301 (1954)。