Cassia tora L. 種子の成分研究 (第 2 報) (下剤生薬成分研究 (第 7 報)¹⁾)
新 Naphtho- α -pyrone 誘導体 (Toralactone) の構造

高橋周七, 滝戸道夫²⁾

日本大学理工学部薬学科

Studies on the Constituents of the Seeds of *Cassia tora* L. II. (On the
Purgative Crude Drugs. VII).¹⁾ The Structure of the New
Naphtho- α -pyrone Derivative, Toralactone

SHŪHICHI TAKAHASHI and MICHIO TAKIDO

Pharmaceutical Institute, College of Science and Engineering, Nihon University²⁾

(Received April 20, 1972)

A new yellow pigment named toralactone (I) was isolated from the seeds of *Cassia tora* L. (Leguminosae). The structure of I was established as 9,10-dihydroxy-7-methoxy-3-methyl-1H-naphtho(2,3-c)pyran-1-one.

マメ科 (Leguminosae) に属する *Cassia tora* L. は南アジア原産で熱帯アジア, 台湾, 琉球等に野生し, この種子は *Cassia obtusifolia* L. の種子とともに決明子と呼ばれ緩下, 強壯剤として用いられている. この種子よりすでに Rangswami 等³⁾ により rubrofusarin および nor-rubrofusarin が, 柴田⁴⁾ らにより chryso-obtusin, rubrofusarin glucoside, torachryson が, また著者⁵⁾ らにより chrysophanol, physcion, obtusin, aurantio-obtusin および mp 234—236° の赤色針状晶がクロロホルム抽出液より単離証明している. その後この mp 234—236° の赤色針状晶は rubrofusarin と mp 254° (decomp.) との混合物であることが判明し, 本物質が新物質であり, toralactone(I) と命名し, その構造は Fig. 1 に示す (I) 式であることを決定したので報告する.

Fig. 1

Toralactone(I) は微少な淡黄色針状または柱状晶で, 無味, 無臭で昇華性があり旋光性はなく, クロロホルム溶液は紫外線下で青紫色の強い蛍光を発する. また結晶は日光により徐々に黄褐色に変色する. メタノール, ペ

- 1) 第 6 報: 木村雄四郎, 滝戸道夫, 高橋周七, 薬誌, **86**, 1087 (1966).
- 2) Location: Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo.
- 3) S. Rangswami, F.A.Sc. Proc., *Indian Acad. Sci. A.*, **57**, 88 (1963).
- 4) S. Shibata, E. Morishita, M. Kaneda, Y. Kimura, M. Takido, S. Takahashi, *Chem. pham. Bull.* (Tokyo), **17**, 454 (1969).
- 5) 木村雄四郎, 滝戸道夫, 高橋周七, 生薬誌, **18**, 28 (1964).

TABLE I. NMR Data of Toralactone (I) (ppm) in CDCl_3

1)	arom. H	6.85	(H, s)
2)		6.55	(H, d, $J=2.5$ cps)
3)		6.46	(H, d, $J=2.5$ cps)
4)	double bond. H	6.12	(H, br, s, with shoulder)
5)	double bond. CH_3	2.24	(3H, s, with shoulder)
6)	arom. OCH_3	3.87	(3H, s)
7)	arom. OH	9.30	(H, s)
8)		12.11	(H, s)

ンゼン、酢酸エチルにわずかに溶け、クロロホルムにはやや可溶である。メタノール性酢酸マグネシウム溶液および濃硫酸に溶けて、淡青色を呈し、塩化第二鉄反応および Gibbs 反応は陽性である。

物質 I は元素分析および質量分析 (以下 MS と略記) の値より分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_5$ を示し、赤外線吸収スペクトル (以下 IR と略記) は 1639 cm^{-1} に chlated $>\text{C}=\text{O}$ と 1608 cm^{-1} および 1580 cm^{-1} に benzene 環の吸収を示す。核磁気共鳴スペクトル (以下 NMR と略記) は Table I に示すように、6.55 ppm (d) 6.46 ppm (d) の値を示し、結合定数は 2.5 cps で互いに coupling している。これは benzene 環上で置換基をはさんで水素が *meta* 位に配置されていることを示している。また I は mp $234-242^\circ$ の無色針状晶の diacetate(II) および mp $180-181^\circ$ の無色針状晶の dimethyl ether(III) を与え、2 個の hydroxyl 基を持つことが認められる。また NMR および methoxyl 基の定量の結果、1 個の methoxyl 基の存在を示す。同様に NMR により olefinic carbon に結合する methyl 基および水素が存在することが予想される。これを証明するため次の実験を行なった。すなわち物質 I を無水酢酸とピリジンで短時間 acetyl 化して、比較的安定な化合物、mp $215-216^\circ$ の淡黄色針状晶 monoacetate(IV) に誘導し、これを接触還元すると 2 個の水素を吸収して、mp $199-201^\circ$ の無色針状

晶の dihydromonoacetate(V) を得た。この還元反応により、V の IR においては、IV の 1680 cm^{-1} の olefinic 結合にもとづく吸収が消失し、また Fig. 2 に示すように V の NMR においても IV の olefinic proton (6.12 ppm) および methyl (2.24 ppm) が消失し、多重線の methine (4.78 ppm) と二重線の methylene (3.01 ppm) および二重線の methyl (1.57 ppm) の signal が現われたことは IV が $(\text{HC}=\text{C}\cdot\text{CH}_3)$ なる部分構造式を持ち、これが還元されて、V に変化し、その部分構造式が $(\text{H}_2-\text{C}-\text{CH}\cdot\text{CH}_3)$ となったことを示し、この事実は、物質 I が分子内に $(\text{HC}=\text{C}-\text{CH}_3)$ なる部分構造式を

Fig. 2. NMR Spectra of V and IV (ppm) in CDCl_3

もつことを証明している。次に物質 I がいかなる基本骨格を持つかを検討した。I は Table I の NMR が示すごとく、置換基として aromatic 水素 3 個、methoxyl 基 1 個、hydroxyl 基 2 個、olefinic methyl 基 1 個、および olefinic 水素 1 個、合計 8 個をもち、これらの置換基が結合して toralactone(I) を形成する。したがって置換基を除いた基本骨格の分子式は C_{13}O_2 となり、このうち酸素の帰属を考えるとまず基本骨格は、carbonyl 基 1 個以上をもつことは、IR より明らかであって、2 個の carbonyl 結合をもつ場合と、1 個が carbonyl 結合で他の 1 個は ether 結合の場合の 2 通りが考えられるが、I は前述のごとく、旋光性を示さず、骨格内に 2 個の carbonyl 基をもつと立体構造式となり、これは否定され 1 個の carbonyl 基および 1 個の ether 結合が存在することとなり、I の基本骨格はこれまでの結果を総合すると olefinic 結合をもち、carbonyl 結合および ether 結合を 1 個ずつもった naphthalene 誘導体でなければならない。すなわち I の可能なる基本骨格は Fig. 3 に示す a より i までの 9 個の式となる。

この推定骨格のうちいずれの骨格であるかを定めるため次の実験を行なった。I をジアゾメタンを用い、氷室下で部分的に methyl 化すると mp 195—204° の淡黄色針状晶 monomethyl ether (VI) を得た。VI の IR は chelate しない carbonyl 基の吸収が新らしく現われ、この事実は carbonyl 基と chelate していた hydroxyl 基が methyl 化されたことを示し、また VI の NMR を観察すると I の carbonyl 基と chelate している hydroxyl 基 (12.11 ppm) の signal がこの methyl 化により消失している。これは I が carbonyl 基と chelate する hydroxyl 基を持つことを証明している。したがって a, b, c の構造は carbonyl 基と hydroxyl 基が chelate できないため否定され d より i までの 6 個の式は hydroxyl 基と carbonyl 基と chelate 可能な構造である。また monoacetate(IV) の NMR は I の carbonyl 基と chelate しない hydroxyl 基 (9.97

ppm) の signal が消失し、acetyl 基 1 個に相当する signal が現われている。このことは IV では carbonyl 基と chelate しない hydroxyl 基が acetyl 化していることを示している。したがって I は carbonyl 基と chelate しないもう 1 個の hydroxyl 基をもつことを証明している。そこで carbonyl 基と chelate しない hydroxyl 基をもつ monomethyl ether(VI) と carbonyl 基と chelate する hydroxyl 基をもつ monoacetate (IV) の両者について Gibbs 反応を行なったところ、その結果はともに陽性であり、また、VI の水酸基を methyl 化した dimethyl ether (III) および IV の水酸基を acetyl 化した diacetate (II) はともに Gibbs 反応陰性を示した。したがってこの事実は I の 2 個の hydroxyl 基が naphthalene 核の A, B 環の α 位にそれぞれ存在し、かつ

その *para* 位に水素をもつことが予想され、I の基本骨格は e, f, h, i の angular type ではなく linear type の naphtho- α -pyrone 核 (g) または naphtho- γ -pyrone 核 (d) 式が考えられる。一般に naphtho- γ -pyrone 核 (d) の誘導体の紫外線吸収 (UV) スペクトル⁴⁾ は Fig. 4 に示す rubrofusarin のごとく 280 m μ 付近に一つの極大吸収をもつが、I とその acetyl および methyl 誘導体は 270—280 m μ 付近に I と類似の枝分かれた吸収線を持ち、前者とは明らかに異なる。また、IR も Table II に示すごとく、一般に γ -pyrone

Fig. 4. UV in EtOH

—: rubrofusarin (naphtho- γ -pyrone derivative)
 ---: I
 ···: methyl and acetyl derivatives of I

Fig. 3

TABLE II

	C=O IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ cm ⁻¹
	1740—1720
	1680—1650
Monomethyl ether (VI)	1740
Dimethyl ether (III)	1740
Diacetate (II)	1720

類の carbonyl 基の吸収は $1650-1680\text{ cm}^{-1}$ に現われ、一方 α -pyrone 類は $1720-1740\text{ cm}^{-1}$ の間に吸収をもつが、I の acetyl 誘導体 (II) および methyl 誘導体 (VI), (III) は後者の範囲内に吸収帯が一致する。それ故に、I の基本骨格は naphtho- α -pyrone をもち、g 式と考えられる。そこで g 式にもとづきこれまでの結果を総合して I の構造式を考えると Fig. 5 に示す A, B, C, D の 4 式に限定される。この methyl 基の結合位置を決めるため、dihydromonoacetate(V) の methylene の NMR の値について検討した。Fig. 6 に示すごとく、3 位に methyl 基をもつ B' 式と 4 位に methyl 基をもつ A' 式の 2 つが考えられ、(V) の CH_2 の NMR の値と Fig. 6 に示すスターマークの CH_2^* の値を比較した結果 V は B' type と考えられる。したがって I の構造式は 3 位に methyl 基がつく Fig. 5 に示す A または B の 2 式に限定される。さらに、この事に関して積極的な証明を行なうため、monomethyl ether(VI) について nuclear overhauser effect (NOE と略

Fig. 5

$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CO-O-CH}_2^*$ (ppm, in CDCl_3)

$\text{C}_6\text{H}_5\text{-CH}_2^*$ (ppm in CDCl_3)

4.12

2.93

4.35

2.57

Fig. 6

記) を Fig. 7 に示すごとく測定した。VI の構造式は 4 位に methyl 基がつく A' 式と 3 位に methyl 基がつく B' 式の 2 式が考えられるが仮りに A' の 3 位の水素を照射すると 4 位の methyl 基に影響があり、5 位の水素にはその影響が期待できない。また、B' 式の場合は 4 位の水素を照射するとその影響が 5 位の水素と 3 位の methyl 基の両方に期待される。そこで VI の olefinic proton (6.14 ppm) を照射すると olefinic methyl (3.21 ppm) は 19.85% また aromatic proton (7.23 ppm) には 34.38% とともに NOE 効果が現われ、B' 式に条件がよく一致した。したがって VI の構造式は 3 位に methyl 基がつく B' 式であることが証明された。したがってこの方法によっても I の構造式は A または B ということが判明した。つぎに、この A, B 2 式のいずれであるかを決定するため、Fig. 8 に示すごとく、前回と同様に、VI の NOE の測定を行なった。VI の構造式は A 環の 6 位が hydroxyl 基、8 位、methoxyl 基の A' 式と、7 位が methoxyl 基で 9 位が hydr-

Fig. 7. NOE of Monomethyl Ether (VI) (ppm) in CDCl_3

Fig. 8. NOE of Monomethyl Ether (VI) (ppm) in CDCl_3

oxyl 基の B'' 式の 2 式が考えられ、仮りに A'' 式の 6 位の hydroxyl 基を照射すると 5 位の水素にその効果が期待され、また 10 位の methoxyl 基を照射すると、6 位の hydroxyl 基にはその効果が期待されない。また B'' 式は 9 位の hydroxyl 基を照射した場合、5 位の水素にはその効果が期待されなく、10 位の methoxyl 基を照射すると 9 位の hydroxyl 基にはその効果が期待される。そこで VI の chelate しない hydroxyl 基 (9.91 ppm) を照射すると aromatic proton (7.32 ppm) に効果がなく、4.18 ppm の methoxyl 基を照射すると chelate しない hydroxyl 基 (9.91 ppm) に 13.52% の効果があり、この結果 VI は 7 位が methoxyl 基、9 位が hydroxyl 基である B'' 式に条件がよく一致し、物質 I の構造式は Fig. 5 に示す B 式であることが決定した。

また物質 I の構造式を MS の fragmentation の値より検討したその結果、高橋、林等が測定した 3-methyl-

Fig. 9. Fragmentation of Toralactone (I)

isocoumarin 誘導体と同じ開裂様式⁶⁾を示し, Fig. 9 に示すごとく, $m/e(M-15)^+=257$, $m/e(M-43)^+=229$ および $m/e(M-71)^+=201$ 等の fragmentation が現われており, A, B 環には 2 個の hydroxyl 基と 1 個の methoxyl 基, C 環には 1 個の methyl 基をもつことが判明した. Isocoumarin 誘導体の特徴的な, fragmentation という分子上の 1 個の proton をともなって, carbonyl 基が脱離して生じたと考えられる $m/e(M-29)=243$ の fragmentation peak が存在する. 以上の事実からも toralactone (I) の構造式は B 式が正しいことが証明された. すなわち, toralactone (I) は 9,10-dihydroxy-7-methoxy-3-methyl-1H-naphtho [2,3-c]pyran-1-one と決定された.

Dihydronaphtho- α -pyrone 誘導体の bis 体は真菌類の一種 *Trichophyton violaceum*⁷⁾ から発見されているが, toralactone (I) は naphtho- α -pyrone 核として最初の物質であり, 今後この誘導体の研究が期待される. *Cassia tora* L. の種子からは naphtho- γ -pyrone 誘導体である rubrofusarin および nor-rubrofusarin が発見され, さらに今回, 同一植物体よりこの異性体の naphtho- α -pyrone 誘導体の toralactone (I) が発見されたことは, 植物生化学上興味深い事実である.

実験の部

Toralactone (I) の抽出 *Cassia tora* L. 種子 1.0 kg を 25 liter の MeOH で 2 hr ずつ 5 回繰り返し抽出し, 各抽出液を合わせ, 溶媒を留去し, エキス状となし, つぎに 10% H_2SO_4 を 500 ml を加え, 1 hr 水浴上で煮沸し, 冷後, 析出する沈殿を濾取, 水洗し, 乾燥して黒褐色の粗結晶 (26 g) を得る. この結晶につきカラムクロマトグラム [吸着剤に Silica gel G (0.5 N 修酸水溶液処理) 展開溶媒に $CHCl_3$ を用いる] を行ない, 第 1 層 (黄褐色) より, 赤褐色の粗結晶 2.5 g を得. 再びこの結晶につき, カラムクロマトグラム (吸着剤 silica gel, 展開溶媒に $CHCl_3$ を用いる) を行ない精製する. 第 1 層 (黄褐色) より chrysophanol, physcion の混合物, 第 2 層 (黄色) より torachrysone, 第 3 層 (赤褐色) より rubrofusarin 第 4 層 (紫外線下で淡緑黄色の螢光を発する) より, 暗褐色の粗結晶を得た. これを $CHCl_3$ で 3—4 回再結晶を繰り返し, mp 253—254° の淡黄色針状晶 toralactone (I) 150 mg を得た. I は MeOH, ベンゼンに少量溶解, $CHCl_3$ に可溶, EtOH-Mg(OAc)₂ 濃硫酸に溶けて, 淡黄青色を呈す. 5% EtOH- $FeCl_3$ で汚緑色, Gibbs 反応は淡青色, 旋光性なし, UV λ_{max}^{EtOH} $m\mu$ (log ϵ): 268 (4.60), 278 (4.78), 392 (3.39).

IR λ_{max}^{Nujol} cm^{-1} : 1680 (olefinic C=C), 1639 (chelated C=O), 1608, 1580 (aromatic). Anal. Calcd. $C_{15}H_{12}O_5$: C, 66.17; H, 4.41; mol. wt 272. Found: C, 66.20; H, 4.39; mol wt, [mass] 272, mass spectrum の測定条件: 日立 RMU 6E を使用, イオン化電圧 70Ve, イオン加速電圧 1800V, 全放射電流 80 μA , target 電流 60 μA , イオンソース温度 250°

Toralactone Monoacetate (IV) と Toralactone Diacetate (II) Toralactone (I) 100 mg を pyridine 1.2 ml に溶解し, Ac_2O 3 ml を加え 30 分室温にて放置後に, $CHCl_3$ を用い, silica gel カラムクロマトグラムを行ない 2 層に分離し, 第 1 層 (紫外線下で青色の螢光を発する) から, MeOH で再結晶を行ない, mp 215—216° 淡黄色針状晶 toralactone monoacetate (IV) 30 mg を得た. 5% EtOH- $FeCl_3$ で暗緑色, EtOH-Mg(OAc)₂ で緑黄色, Gibbs 反応は淡青色, UV λ_{max}^{EtOH} $m\mu$ (log ϵ): 275 (4.60), 286 (4.80), 382 (3.40), IR ν_{max}^{Nujol} cm^{-1} : 1766 (OAc), 1690 (olefinic C=C), 1665 (chelated C=O), 1635, 1612, 1580. Anal. Calcd. $C_{17}H_{14}O_6$: C, 65.00; H, 4.40; mol. wt 314. Found: C, 64.71; H, 4.42; mol. wt 314 (mass). NMR は Fig. 2 に示すごとくである

第 2 層 (紫外線下で青色の螢光を発する) より, MeOH で再結晶を行ない, mp 234—242° の白色針状晶 toralactone diacetate (II) 40 mg を得た. II は 5% EtOH- $FeCl_3$, EtOH-Mg(OAc)₂, Gibbs 反応陰性. UV λ_{max}^{EtOH} $m\mu$ (log ϵ): 274 (4.61), 284 (4.78), 311 (3.60), 323 (3.60), 380 (3.39). IR ν_{max}^{Nujol} cm^{-1} : 1770 (OAc), 1730 (non-chelated C=O), 1680 (olefinic C=C), 1627, 1610, 1568. NMR ppm ($CDCl_3$): 7.27 (H, s) [arom. H], 6.85 (H, d, $J=2.5$ cps), 6.83 (H, d, $J=2.5$ cps) [arom. H], 5.37 (H, br. s, with shoulder) [olefinic H], 3.42 (3H, s) [arom. OCH_3], 2.28 (3H, s), 2.17 (3H, s) [arom. $COCH_3$], 1.94 (3H, s, with shoulder) [olefinic CH_3]. Anal. Calcd. $C_{19}H_{16}O_7$: C, 64.00; H, 4.50; mol. wt. 356. Found: C, 63.50; H, 4.72; mol. wt. (mass) 356.

Toralactone Monomethyl Ether (VI) と Toralactone Dimethyl Ether (III) I 100 mg を CH_2N_2 の ether 溶液 60 ml (N-nitrosomethylurea 1 g を使用) に加え, 氷室に 2 日間保ち, つぎに溶媒を留去すると黄色の油状物質を得る. これを $CHCl_3$ を用い silica gel のカラムクロマトグラムを行ない, 最初に流下してくる緑黄色の螢光を発する層より, 黄色粗結晶を得た. この結晶につき繰り返しカラムクロマトグラムを行ない, MeOH より再結晶し mp 199—204° の淡黄色針状晶 toralactone monomethyl ether (VI) 20 mg を得る. 5% EtOH- $FeCl_3$ で暗緑色, 5% KOH 溶液, EtOH-Mg(OAc)₂ で緑黄色の螢光を発する. Gibbs 反応は淡青色, UV λ_{max}^{Nujol} $m\mu$ (log ϵ): 269 (4.60), 279 (4.78), 393 (3.40). IR ν_{max}^{Nujol} cm^{-1} : 1743 (non-chelated C=O), 1680 (olefinic C=C), 1640, 1605,

6) 第 5 回有機化合物マスペクトロメトリー討論会 (1970).

7) A.S.Ng, G. Just, *Can. J. Chem.*, **47**, 1223 (1969).

1572. NMR ppm (CDCl_3): 7.23 (H, s) [arom. H], 6.60 (H, d, $J=2.5$ cps), 6.52 (H, d, $J=2.5$ cps) [arom. H], 6.13 (H, br. s with shoulder) [olefinic H], 4.12 (3H, s), 3.87 (3H, s) [arom. OCH_3], 2.21 (3H, s with shoulder) [olefinic, CH_3], 9.91 (H, s) [arom. OH]. *Anal.* Calcd. $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_5$: C, 66.70; H, 5.50; mol. wt. 286. Found: C, 66.52; H, 5.41; mol. wt. (mass) 286.

つぎに流下してくる紫外線下で淡紫色螢光を発する層より得た樹脂状物質を MeOH で再結晶して mp 181° の無色針状晶 toralactone dimethyl ether (III) 35 mg を得る. III は 5% EtOH- FeCl_3 , 5% KOH 溶液, EtOH- $\text{Mg}(\text{OAc})_2$ および Gibbs 反応はいずれも陰性である. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ m μ (log ϵ): 268 (4.61), 278 (4.79), 392 (3.39). IR $\nu_{\text{max}}^{\text{NaI/ol}}$ cm^{-1} : 1750 (non-chelated C=O), 1680 (olefinic C=C), 1620, 1582. NMR ppm (CDCl_3): 7.23 (H, s) [arom. H], 6.66 (H, d, $J=2.5$ cps), 6.47 (H, d, $J=2.5$ cps) [arom. H], 6.14 (H, br. s. with shoulder) [olefinic H], 3.99 (3H, s), 3.98 (3H, s), 3.92 (3H, s) [arom. OCH_3], 2.24 (3H, s with shoulder) [olefinic CH_3]. *Anal.* Calcd. $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_5$: C, 68.00; H, 5.30; mol. wt. 300. Found: C, 68.36; H, 5.48; mol. wt. (mass) 300.

接触還元による Toralactone Monoacetate (IV) より Dihydrtoralactone Monoacetate (V) への誘導 Toralactone monoacetate (IV) 50 mg を AcOH 5 ml に溶かし, パラジウム石綿を触媒として常法により接触還元し, 濾過し, 濾液に水 10 ml を加え, CHCl_3 で抽出し, 展開溶媒 [アセトン:ベンゼン (1:9)] を用い, silica gel カラムクロマトグラムで精製し, 最初に流下してくる紫外線下で赤紫色の螢光を発する層より得た粗結晶を MeOH により再結晶で mp $199\text{--}201^\circ$ の無色針状晶 dihydrtoralactone monoacetate (V) 25 mg を得た. V は EtOH- FeCl_3 暗緑色, EtOH- $\text{Mg}(\text{OAc})_2$ で緑黄色, Gibbs 反応は淡青色を呈する. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ cm^{-1} : 1765 (OAc), 1640 (chelated C=O), 1630, 1615, 1585. NMR ppm (CDCl_3): 13.08 (H, s) [arom. OH], 7.35 (H, s) [arom. H], 6.93 (H, d, $J=2.3$ cps), 6.80 (H, d, $J=2.3$ cps) [arom. H], 4.77 (H, m) [methine H], 3.03 (2H, d) [methylene H_2], 3.97 (3H, s) [arom. OCH_3], 2.43 (3H, s) [arom. COCH_3], 1.55 (3H, d) [parafin CH_3].

謝辞 本研究にあたり元素分析, IR, NMR, MS などの測定を実施された東京大学薬学部, 日立製作所那珂工場応用開発課, 日製産業精機部, および本学薬学科分析教室の諸氏に深くお礼申し上げます.