 総 説

新合成甘味料ジヒドロカルコンの化学

神谷真太郎*・江崎幸子*

The Chemistry of Dihydrochalcones, New Artificial Sweetening Agents

SHINTARO KAMIYA* and SACHIKO ESAKI*

1. 緒言

1963 年頃アメリカ農務省西部研究所の HOROWITZ と GENTILI はかんきつ類に豊富に含まれているフラバノン配糖体の呈味性と化学構造の関係を研究していたが、グレープフルーツや文旦の苦味成分であるナリンジンをアルカリで開環して得られたナリンジンカルコンが砂糖のような甘味を呈することに興味をいだき、さらにこれを接触還元してナリンジンジヒドロカルコンに誘導したところ、サッカリンとほぼ同程度の甘さを有することを見出した¹⁾。さらにダイダイなどに含まれているネオヘスペリジンを同様処理したところ、得られたネオヘスペリジンジヒドロカルコンがサッカリンの約 10 倍も甘いことを見出した¹⁾。そこでこれらのジヒドロカルコン(以下 DHC) 類を新合成甘味料として特許出願し、これが公示された時期が、たまたまクロに毒性が認められ使用禁止となった時期と重なったため、世間の注目を浴びるようになった。すでにわが国においても DHC は、広く紹介され、これに関する総説²⁾³⁾⁴⁾も数多くみられる。

著者らの研究室では、十数年来かんきつのフラボノイド配糖体に関する研究をおこなっているので、DHC の問題にも興味をいだき、ここ数年来研究をおこなっている。すでに本誌において、「かんきつフラボノイド化学の最近の進歩」と題する総説⁵⁾を書いた折、一部 DHC のことにも触れておいたが、最近静岡大学農学部の中林敏郎教授が米国の糖業関係の会社・研究所を視察され、帰国された折、DHC の動物試験や毒性に関する多数の資料を持ち帰られ、著者の研究と併せて、本誌に総説を書くようすすめられたので、筆をとった次第である。

かんきつのフラバノン配糖体およびそれより誘導される DHC 配糖体は苦味と甘味が近縁関係にあることを示す好例であると思われるので、本総説ではフラバノン配糖体の苦味の問題についてもとりあげ、併せて論ずることにしたい。

2. かんきつ類に含まれるフラバノン配糖体の種類と呈味性

かんきつ類には、よく知られているヘスペリジン、ネオヘスペリジン、ナリンジンなど 8 種類のフラバノン配糖体が含まれており、さらに、これらはルチノース系とネオヘスペリドース系に大別される。これらを表 1 に示す。

これらのうち、糖部分において、L-ラムノースが D-グルコースの 6 位水酸基に α -結合したルチノシドはナリルチンを除いてすべて無味であるのと対照的に、グルコースの 2 位水酸基に α -結合したネオヘスペリドシドはアグリコンの種類によって程度の差はあるが、いずれも苦い。特にナリンジンとボンシリンはキニーネの約 5 分の 1 の苦味を有するといわれ、植物配糖体のうちでもっとも苦いものの一つである。

一方、これら苦味のあるフラバノン配糖体を酸化して、フラボン配糖体に変換すると(第 1 図)、ことごとく無味となる⁶⁾。フラボン骨格は平面構造を有しているから、HOROWITZ⁷⁾ らは、苦味の発現には、フラバノンがつぎ(第 2 図)のような、半椅子型(half chair conformation)の構造を有することに、起因しているのであろうと推察している。

3. フラバノン配糖体の化学構造と呈味性に関する著

* 静岡女子大学 食品化学研究室 (静岡市谷田 409)

Food Chemistry Laboratory, Shizuoka Women's University. Yada 409, Shizuoka-shi.

第 1 表 かんきつフラバノン配糖体の構造と苦味

R ₁	R ₂	X=ルチノシル	苦味度*	X=ネオヘスペリドシル	苦味度*
OCH ₃	H	ジジミン	0	ボンミリン	100
OCH ₃	OH	ヘスペリジン	0	ネオヘスペリジン	10
OH	H	ナリルチン	中程度の苦味	ナリンジン	100
OH	OH	エリオントリン	0	ネオエリオントリン	10 以下

* ナリンジンの苦味を 100 とした場合のモル濃度における比較値

第 1 図

第 2 図 フラバノン骨格

者らの研究

ナリンジンやボンシリンのような配糖体の強い苦味と化学構造との関係を知ることは、呈苦味性の機構を知る上で大変興味深いと思われるが、従来の研究はもっぱらアグリコン部分を少し修飾したものについてのみ調べられており、糖部分の苦味に対する役割については全く知られていなかった。そこで著者らは、ナリンジン分子中のネオヘスペリドース (2-0- α -L-ラムノピラノシル-D-グルコピラノース) を、他の糖でおきかえた多数のナリンゲニン配糖体を合成し、呈味性との関係を調べてみた。合或に用いた糖は、1 $\rightarrow$ 2 結合のものとしては、2-0- α -D-グルコピラノシル-D-グルコピラノース (コージビーオス)、2-0- β -D-グルコピラノシル-D-グルコピラノース (ソホロース)、2-0- α -D-ガラクトピラノシル-D-グルコピラノース、2-0- β -D-グルコピラノシル-D-ガラクトピラノース、2-0- α -L-キノボピラノシル-D-グ

ルコピラノース、2-0- α -L-キノボピラノシル-D-ガラクトピラノース、2-0- β -L-キノボピラノシル-D-グルコピラノースおよび 2-0- β -L-キノボピラノシル-D-ガラクトピラノースの 8 種類であり、1 $\rightarrow$ 4 結合の糖としては、マルトース、セロピオース、ラクトースを、1 $\rightarrow$ 6 結合の糖としては、メリピオース (6-0- α -D-ガラクトピラノシル-D-グルコピラノース) を用いた。これらの糖類は市販以外のものはすべて合成した。

L-キノボピラノシル二糖の場合を例にとってその合成法を第 3 図に示した⁸⁾。

すなわち、1, 3, 4, 6-テトラアセチル- α -D-グルコース (I) または α -D-ガラクトース (II) を 2, 3, 4 トリアセチル- α -L-キノボピラノシルプロミド (III) とアセトニトリル溶媒中シアン化第二水銀と臭化第二水銀を縮合剤として反応させ、2- α -(IV) および 2- β -L-キノボピラノシル- α -D-グルコースアセテート (V) または、2- α -(VI) と 2- β -L-キノボピラノシル-D-ガラクトースアセテート (VII) の混合物を得た。(V) はエーテル溶液から直ちに結晶化したが、(IV) はいったん α -ブロム体 (VIII) としたのち、酢酸第二水銀と反応させ β -アセテート (IX) としてエーテルから結晶を得た。また (VI) と (VII) はメタノールから分別結晶させることにより容易に単離された。ついで (IV), (IX), (VI), (VII), にそれぞれ臭化水素飽和氷酢酸を作用させて相当するアセトハロゲン誘導体 (X), (XI), (XII) を得た。これらをキノリン溶媒中炭酸銀の存在下でナリンゲニンと反応させ、得られた縮合生成物を 0.1 N ナトリウムメチラートで脱アセチルしたのち、シリカゲル (展開剤: 酢酸エチル-メタノール-水 80 : 14 : 10) およびポリアミド (展開剤: 50% メタノール) カラムクロマトグラフィーで精製し、目的の配糖体⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾ を結晶状に得た。[ナリンゲニン-7- β - α -L-キノボピラノシル

第3図 キノシリ糖の合成

第4図 ナリンゲニン配糖体の合成法

(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-グルコピラノシド] の場合を第4図に示した。他の配糖体の場合も上記と同様に処理して合成した。以上のようにして得られたナリンゲニン配糖体の苦味を第2表にまとめて示した。

第2表からもわかるように、試験した糖の範囲では α 1 $\rightarrow$ 2 結合の糖を有する配糖体 A, C, E, G, のみが苦く, β 1 $\rightarrow$ 2, α -および β 1 $\rightarrow$ 4, また α 1 $\rightarrow$ 6 結合を有する二糖をもった配糖体は全く無味であった。とくに化合物 E と G の苦味は, ナリンジンのその 2 倍であった。

このように二糖間の結合様式の差によって, 呈味性の全く異なることは興味深い現象である。

最近芝¹²⁾は, チーズに含まれる苦味ジケトピペラジン, シクロ (L-ロイシル-L-トリプトファン) の構造と苦味の関係について, その類縁体を徹底的に合成して調べた結果, 苦味強度を支配する最も重要な因子はその分子の疎水性度にあることを見事に実証している。また栗原¹³⁾も, 最近舌の苦味レセプターはタンパク質ではなく脂質である可能性が大きいことを報告しており, 脂質層とのアキラルな接触によって説明されると述べている。

上記の考えに従うと, フラバノン配糖体の場合はフラバノン骨格が疎水性部分に相当していると思われるが, これだけでは苦味の説明がつかない。第2表に掲

げた配糖体のうち, 苦味を有する A, C, E, および G は第5図(1), (2)に示すような, また苦味を全く有しない B, D, F, H は第5図(3)に示したような, 共通の立体配座をそれぞれとることができる。従って第5図(1)(2)のような配座は舌のレセプターサイトのキラルな構造をもつタンパク質と相互に作用して苦味を発現するが, 第5(3)図の配座はタンパク質と相互作用し得ないのではないかと推察される。いずれにしてもフラバノン配糖体の呈味機構は苦味ペプチドの場合と異なって, レセプターサイトの脂質とタンパク質の両部分が関与しているように思われる。

4. かんきつフラバノン配糖体より誘導されるジヒドロカルコン配糖体の種類と呈味性

かんきつに含まれる 8 種類のフラバノン配糖体を接触還元して得られる DHC の呈味性は HOROWITZ ら⁶⁾によりすべて明らかにされた。それらをまとめると、第 3 表のようになる。

すなわち、サッカリンの甘さを 1 とするとナリンジン DHC とネオヘスペリジン DHC はそれぞれ 1 および 10

第 2 表 ナリンゲニン配糖体の構造と呈味性

化合物	X	苦味度
A	β -コージピオシル	50
B	β -ソホロシル	0
C	2- α -D-ガラクトピラノシル- β -D-グルコピラノシル	78
D	2- β -D-グルコピラノシル- β -D-ガラクトピラノシル	0
E	2- α -L-キノボピラノシル- β -D-グルコピラノシル	200
F	2- β -L-キノボピラノシル- α -D-グルコピラノシル	0
G	2- α -L-キノボピラノシル- β -D-ガラクトピラノシル	200
H	2- β -L-キノボピラノシル- β -D-ガラクトピラノシル	0
I	β -マルトシル	0
J	β -セロピオシル	0
K	β -ラクトシル	0
L	β -メリピオシル	0
M	ナリンジン	100
N	ボンシリ	100

苦味は各化合物の閾値をモル濃度で比較し、ナリンジンを 100 とした場合の相対値で示した。

倍の甘さをもつが、ネオエリオシトリンやボンシリンの DHC は、わずかに甘い、苦い程度である。このように B 環上の置換基のわずかな相違によって味が異なるのは興味深い。またネオヘスペリドシル基をルチノシド基で置換した DHC は甘味は全く呈さない、ナリルチン DHC のように、甚しく苦くなるから、HOROWITZ ら⁶⁾はグルコースの 6 位水酸基が甘味発現に必要と考え、これをメチル化した第 6 図のような化合物を合成し、甘味の減少を期待したところ、意外にも甘味に変化を生じないことを見出した。そこでこれら DHC の呈味性はグルコース部分の C-3, C-4, の水酸基が甘味レセプターサイトとの結合に重要な役割をもち、ラムノシル基のような立体的に大きい置換基がグルコースの 6 位に結合すると、レセプターへの接近を妨げられるため無味となるとであろうと消極的に推論している。

5. 現在注目されるジヒドロカルコンの製造法

現在工業的に注目されている DHC としては、ネオヘスペリジン DHC とヘスペレチン DHC-4'- β -マルトオリゴシドの 2 つであろう。

(1) β -ネオヘスペリジンジヒドロカルコン

すでにのべたようにこの物質は HOROWITZ らにより開発されたものであるが、原料のネオヘスペリジンが入手しがたい。夏みかん、だいだいなど多くのかんきつ類のとくに幼果に含まれているが量的にわずかであるのみならず、資源の見地からも十分ではない。以前高知県下で広く栽培されていた舟床みかん (*Citrus funadoko*) の果皮にはネオヘスペリジンのみが含まれており¹⁸⁾量的にも多いので好適な資源といえるが、病虫害にたいする抵抗

第 5 図 二糖の立体配座

第3表 かんきつフラボノ配糖体から誘導されたジヒドロカルコンの化学構造と呈味性

R ₁	R ₂	X=ルチノシル	甘味度	X=ネオヘスペリドシル	甘味度
OCH ₃	H	ジジミン DHC	0	ボンシリン DHC	わずかに苦い
OCH ₃	OH	ヘスペリジン DHC	0	ネオヘスペリジン	10.2
OH	H	ナリンチン DHC	非常に苦い	ナリンジン DHC	1.0
OH	OH	エリオシトリン DHC	0	ネオエリオシトリン DHC	わずかに甘い

甘味度はサッカリンを1とした場合の比較値で示した。

第6図 6'''-メチルネオヘスペリジンジヒドロカルコン

性が弱いため現在ではほとんど栽培されていない。

従って現在米国では、カリホルニヤ、フロリダ両州で広く栽培されているグレープフルーツに含まれているナリンジンを抽出分離し、これから第7図に示す反応式に従って、ネオヘスペリジンに誘導し、これを水素添加してネオヘスペリジン DHC とする方法がとられている。最近動物実験に供するため REBERTSON ら¹⁴⁾が、上記の方法に従って経済的に合成する条件を、詳細に検討しているの、そのうち最も収率の高い方法をのべておく。

(A) フロロアセトフェノン-4-ネオヘスペリドの製造

14.1% の水酸化カリウム水溶液を 200 ガロンの反応槽に入れ、かくはんしながら 0.425 ポンドのナリンジンを加えて溶解させたのち 100°C に 1.2 時間加熱する。冷却後、かくはんしながら濃塩酸を加えて PH6.3±0.5 に調節して放置すると、フロロアセトフェノン-4-ネオヘスペリドシドの結晶が析出するので、再び 70°C に加温して溶かし、徐々に冷却して結晶を析出させると大きく過しやす結晶形が得られる。最後に純品をろ集し、水洗、乾燥する。収量 59.1% (未反応のナリンジン 5.3% を含む)

(C) ネオヘスペリジンの製造

200 ガロンの反応容器に水酸化カリウムの水溶液を用意しておき、100°C に加熱し、激しくかくはんしながら、0.17 ポンドのフロロアセトフェノン-4-ネオヘスペリドシドを加え、ついで、1.8 ポンドのイソバニリンを 1.2 時間かけてゆっくり加える。添加反応液の温度を 100°C に 10~20 分保ったのち冷却して 2 倍量の水を加え、12 N 塩酸で pH 6.0±0.5 に中和する。放置するとネオヘスペリジンが結晶してくるので反応液の温度を 75°C に再び加温し、未反応のフロロアセトフェノン-4-ネオヘスペリドを溶解したのち、ネオヘスペリジンをろ集した。収量 0.047 ポンド (38.3%)。

(C) ネオヘスペリジンジヒドロカルコンの製造

14.5% の水酸化カリウム水溶液を 75 ガロンの水素添加装置に入れ、ラネーニッケルを加え、激しくかくはんしながら 50 ポンドのネオヘスペリジンを加える。水素を導入したのち、12 psig の圧の下で室温で 65 時間反応させる。還元反応終了後、pH 6.0±0.5 まで濃塩酸で中和し、1~2 日放置すると、結晶が完全に析出するのでこれをろ集し、水洗、乾燥する。熱水から再結、収量 94%。

(2) ヘスペレチンジヒドロカルコン-4-β-マルトオリゴシド

摘果温州みかんに多量に含まれているヘスペリジンは DHC に変換しても無味であるが、これに糸状菌ラムノシダーゼを働かせて、ラムノースを除去するとヘスペレチン DHC-4'-β-D-グルコシド (HDHCG) を生成する。これは砂糖の 70~80 倍の甘さを有するといわれている。しかしこの物質は溶解度が 0.1% 程度のものであって、人工甘味料としては、殆んど問題にされていない。そこで大阪市立工業研究所の岡田ら¹¹⁾は、本物質にでん粉を混合し、これに *Bacillus macerans* や *Bacillus megate-*

rium から調製した シクロデキストリングリコシルトランスフェラーゼを作用させると、ヘスペレチンDHC-4'-β-グルコシドのグルコシド部分にグルコースが、1~3個結合したものが生成し、溶解度を増すことを見出した(第8図)。

この場合、HDHCG は水によく溶けないので、あらかじめメタノールなどの溶媒に溶解しデキストリン水溶液に加えて酵素を作用させると、配糖体のグルコース部分にさらにグルコースが転位縮合する。得られたものについて、ペーパークロマトグラフィーで分析してみると、もとの物質のほかに、ジ-、トリ-、テトラグルコシドと思われるスポットが得られる。このものをβ-アミラーゼにより消化すると、テトラ以上の高重合物が消失することや、グルコアミラーゼで処理するともとのモノグルコシドにもどることから、この物質はα 1→4 グルコシド結合をした構造をもつものの混合物である

うと考えられている。従ってこの DHC に対して岡出らはヘスペレチン-DHC-4'-β-マルトオリゴシドと名づけている。溶解度は HDHCG に比べて 10~20 倍増大したのべている。わが国で DHC を生産しようとすれば

第7図 ネオヘスペリジン DHC の製造工程

この物質が現在最も有力であると思われるが、ネオヘスペリジン DHC と比べるとやはり甘味が弱い点が欠点である。

第8図 ヘスペレチンジヒドロカルコン-4'-β-マルトオリゴシドの製造工程

第9図 ヘスペレチンジヒドロカルコン-4'-[α -L-キノピラノシル-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-グルコピラノシド] アセタートの合成法とNMR

6. ジヒドロカルコン配糖体の化学構造と呈味性に関する著者らの研究¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾

ネオヘスペリジン DHC は他の甘味植物配糖体グリチルリチンやステビオシドと比較して構造が簡単であり、合成も比較的容易であるなどの点から化学構造と甘味発現との関係を調べる上で誠に適当な材料と思われる。KRBECHER¹⁷⁾はネオヘスペリジン DHC のB環上のメトキシ基をエトキシ基、プロポキシ基で置換したものを合成し、エトキシ基による置換の場合は甘味に変化はないが、プロポキシ基の場合は甘さが2倍になることを報告している。しかし現在まで、糖の部分の化学修飾による甘味発現への影響について検討した報告はあまり見られなかった。わずかに HOROWITZ¹⁸⁾が、ヘスペレチン DHC-4'- β -D-ガラクトシドおよび- β -D-キシロシドを合成し、サッカリンの1~2倍甘いことを報告している。そこで著者らはこの点の解明を企図し、目下、ネオヘスペリジン DHC の類縁体を多数合成して、呈味性との関係を研究中であるが、現在までに得られた知見をここに紹介したいと思う。

糖は、前述の苦味配糖体の場合と大体同じものを用いた。これらの糖 α -のアセトブロン誘導体をキノリン溶媒中炭酸銀を縮合剤としてヘスペレチンの7位の水酸基に結合させたのち、脱アセチルしてヘスペレチン-7- β -グリコシドとし、さらに10%カセイカリ水溶液中でパラジウム炭素(10%)を触媒として3.5 kg/cm²の水素圧の下で接触還元し、DHC配糖体に導いた。得られたDHCはm.p. $[\alpha]_D^{20}$, UV, IR および NMR などを用いて同定したが、とくに NMR は DHC の構造を確認

第4表 ジヒドロカルコン配糖体の化学構造と甘味度

化合物	X	甘味度*
A'	β -コージビオシル	0
B'	β -ソホロシル	0
C'	2- α -D-ガラクトピラノシル- β -D-グルコピラノシル	0
D'	2- β -D-グルコピラノシル- β -D-ガラクトピラノシル	0
E'	2- α -L-キノボピラノシル- β -D-グルコピラノシル	3.4
F'	2- β -L-キノボピラノシル- β -D-グルコピラノシル	0.34
G'	2- α -L-キノボピラノシル- β -D-ガラクトピラノシル	3.4
H'	2- β -L-キノボピラノシル- β -D-ガラクトピラノシル	0.34
I'	β -マルトシル	0.21
J'	β -セロビオシル	0.53
K'	β -ラクトシル	0.53
L'	β -メリビオシル	0
M'	2- α -L-マンノピラノシル- β -D-グルコピラノシル	0.20
N'	2- α -L-マンノピラノシル- β -D-ガラクトピラノシル	0.07
O'	2- β -D-アラビノピラノシル- β -D-グルコピラノシル	0
P'	2- α -D-マンノピラノシル- β -D-グルコピラノシル	0
Q'	2- α -L-ラムノピラノシル- β -D-ガラクトピラノシル	10.2
R'	β -L-キノボピラノシル	1.97
S'	β -D-グルクロニル	0
T'	ネオヘスペリジン DHC	10.2
U'	サッカリン	1

* モル濃度による比較値

第10図 単糖の立体配座

する手段として、きわめて有用であった。一例としてヘスペレチン DHC-4'-[α -L-キノボピラノシル-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-グルコピラノシド]の合成の工程とそのアセタートの NMR を第9図に示した。NMR チャートの各プロトンのケミカルシフトを δ 値 (ppm) で表わすと、つぎのようであった。アセトキシル基: 2.0—2.15, 2.2, 2.32; 2 $\times$ メチレン基: 2.0—3.07 (マルチプレット); C-4-メトキシル基: 3.8 (シングレット); H-2 と H-6: 6.88 (ダブルレット, $J=2H_z$); H-5: 6.97 (ダブルレット, $J=2H_z$); H-3', H-5': 6.7 (シングレット); 糖のプロトン: メチル基: 1.3 (ダブルレット, $J=6H_z$); 3.7—3.9 (2H); 5.0—5.33 (3H)

これらの合成した DHC の化学構造と呈味性との関係を第4表に示した。

上記の表からわかるように、ネオヘスペリン DHC 分子中の L-ラムノシル基が α - または β -D-グルコシル, α - または β -D-ガラクトシル, α -D-マンノシルの各残基でそれぞれ置換されると甘味は完全に消失する (化合物 A', B', C', D', P')。第10図に示したように、これらの糖はいずれも C-1 型の立体配座を有しているの、一般に C-1 型の立体配座を有する D 系列の糖は甘味発現を打ち消すと結論することができそうである。一方 L-ラムノースの安定な立体配座は 1C 型であることが知られており、この立体配座が甘味発現に必要なのではないかと考えられた。そこで同じ 1C 型を有する L-キノボース (6-デオキシ L-グルコース), L-マンノースおよび D-アラビノースで置換してみた。すなわち α - または β -L-キノボシル, α -L-マンノシル, β -D-アラビノシルの各残基で置換すると, β 置換の場合, 化合物 F' と H' はサッカリンの 0.34 倍の甘さであったが, 化合物 O' は無味であった。一方 α -置換の場合は, 化合物 E' と G' はともにサッカリンの甘味の 3.4 倍, M' は 0.2 倍であった。すなわち, α -L-ラムノースを α -L-キノボースで置換すると, 甘味は約 3 分の 1 に減少するがなお相当の甘味を保持することがわかった。しかし α -L-マンノシル基で置きかえた化合物 M' は甘味が 50 分の 1 に減少した。また化合物 Q', I', からわかるように, アグリコンに直接結合する糖は D-グルコースでも D-ガラクトースでも甘味に変わりがないことがわかった。以上の結果から, つぎのような考察を行った。1962 年 SHALLENBENDER¹⁰⁾ は甘味物質の化学構造に共通する重要な因子として, 甘味物質の分子内には 2.5—4Å の距離内

にプロトン供与基と AH プロトン受容基 B があり, それぞれ舌の甘味レセプターとの間に二重水素結合を形成することによって甘味が発現するという仮説を提唱している (第11図)。そして, 単糖の立体構造と甘味との関係の考察において, 糖の甘味の強さはそれらの分子内水素結合の強さが強くなるにつれて弱くなることを指摘し, これを立体配座と結びつけ, 糖が甘味を有する構造的要素として隣り合った水酸基がゴーシュあるいはスタガードの配座をとることをあげた。そしてこの配座の意味はプロトン供与基 AH とプロトン受容基 B が近くにあるが, 分子内水素結合をつくることのできない距離 (AH と B が 2.5—4Å) にあると考えている。この仮説に基いて, DHC の甘味発現機構を考えてみると, L-ラムノースと L-キノボースおよび D-グルコースと D-ガラクトースはそれぞれ互いに C₂ および C₄ エピマーであるが, これらの糖の立体配座をニューマン投影図で示してみると第12図のようになる。すなわち L-ラムノースの C₂-OH と C₃-OH の投影角は, C₃-OH 軸を中心に考えると反時計方向 (-) に 60° であり, L-キノボースは時計方向 (+) に 60° で, いずれもゴーシュ型であり, 同様に D-グルコースと D-ガラクトースの C₃-OH と C₄-OH の角度もそれぞれ $\pm 60^\circ$ でゴーシュ型である。

第11図

第12図

第 13 図

従って、これらの化合物がすべて強い甘味を保持するのは、このような理由によるのではないかと推察している。

つぎに、化合物 M', N' からわかるように、ネオヘスペリジン DHC 分子中 L-ラムノシル基の非極性の C⁹ メチル基を極性をもつヒドロキシメチル基で置換すると、甘味が激減する。従って、メチル基のような非極性基が甘味発現の重要な因子であることが推論される。これを裏づけるものとして、ヘスペレチン DHC-4'-β-D-グルコシドの CH₂OH をメチル基で置換したヘスペレチン DHC-4'-β-L-キノボシドはサッカリンの約 2 倍の甘さを有し、また COOH で置き換えたヘスペレチン DHC-4'-β-D-グルクロニドは全く無味であることがわかった。従ってネオヘスペリジン DHC の強力な甘味発現には L-ラムノースの 1C 立体配座とメチル基が大きな影響をもつことがわかった。

一方、マルトース、セロビオース、およびラクトースの残基をもつ DHC はかなりの甘味を有しているので、1→4 結合の二糖では α-結合でも β-結合でもよいし、また D-系列の糖でも甘味発現に有効であることを示している。その他、1→3 結合をもつ二糖が甘味発現にどのような影響を与えるかは興味ある問題であって今後の研究課題であろう。

7. 微生物によるジヒドロカルコン類の生化学的分解

微生物が DHC 類を代謝し得るかということは、きわめて興味深い問題であって、その分解過程を明らかにすることは、人体における代謝研究のモデルケースともな

り得るし、また食品に添加されるようになった場合、微生物汚染に対する予防装置などを講じる際にも必要であろう。

DHC の微生物による分解については、比較的研究が少ないが、天然 DHC の一種であるフロリジンについては比較的多く行われている。カビ類によるフロリジンの分解については、JAYASANKAR ら²⁰⁾が調査した 60 種のカビのうち、*Aspergillus* および *Penicillium* 属を含む 37 種がフロリジンを炭素源として利用し、フロレンチン酸、フロログルシンおよび p-オキシ安息香酸などに分解することを認めている(第 13 図)。フロレンチンのフロログルシンとフロレンチン酸への分解酵素はカビ類にはかなり普遍的なもので、JAYASANKAR らは、この酵素をフロレンチンヒドラーゼと名づけている。バクテリアについての検索は CHATTERJEE²¹⁾ らが行っており、*Erwinia herbicola* に属する 3 株にカビと同様のフロレンチンヒドラーゼ活性を認めている。微生物によるネオヘスペリジンの DHC 分解性については、南川²²⁾は、*Asp. niger* を 0.1% フロリジンを含む合成培地で培養し、菌体よりフロレンチン加水分解酵素 C-アシルフェノールアシルヒドラーゼを単離してネオヘスペリジン DHC およびそのアグリコンに作用させたと、前者は分解されなかったが、後者からは、フロログルシノールとその分解産物とを検出している。ネオヘスペリジン DHC を基質とした場合の、微生物による分解に関する研究はおこなわれておらず、今後の興味深い研究課題であろう。

第5表 DHC 添加飼料による11カ月と2カ年の飼育がラットの肝臓と血漿成分におよぼす影響

血漿と肝臓の化学成分	対 照	10% DHC
血漿中の酵素活性 (M ユニット/ml)		
{ オルニチンカルバミルトランスフェラーゼ	0.6±0.2	1.1±0.9
{ グルタミンールオキザロ酢酸トランスフェラーゼ	74±13	50±4
{ アルカリホスファターゼ	52±8	42±3
血漿中のタンパク質 (g%)		
{ 総タンパク質	5.72±0.17	5.57±0.09
{ アルブミン	2.56±0.05	2.70±0.09
A/G 比	0.82±0.05	0.94±0.05
血漿尿素窒素 (mg%)	16.1±0.8	14.2±0.6
血漿コレステロール (mg%)	41±2	33±2
血漿チロキシン (μg%I)	3.06±0.08	3.30±0.29
肝臓 N-デメチラーゼ (munit/g)	485±58	495±28
肝臓タンパク質 (g%)	22.4±0.1	23.0±0.06
肝臓窒素 (mg/g)	85.3±0.4	36.6±0.7

8. ジヒドロカルコンの動物に対する作用

ネオヘスペリジン DHC (以下単に DHC とする) の発見以来、実用化をめざして、米国では動物に対する毒性試験が精力的に行われている。中林教授の持ち帰った数多くの資料を通覧すると、現在まで DHC の毒性はほとんど認められていないことがわかった。二、三の例をつぎに示した。Booth らは DHC を 0.5% 添加した飼料でラットを 148 日間飼育してみたが、その間毒性は認められず、また *in vivo* と *in vitro* での代謝実験によると、DHC はネオヘスペリジンの代謝様式とよく似ており、人体に対しても安心であろうと推定している。また、ラットに飼料に 10% の DHC を添加したものを 11 カ月間与えたものについて、血漿と肝臓の化学成分に対する影響を調べて、第5表に示したような結果を得ている。その結果、血漿中のコレステロール量のわずかな減少を認めたが、その他の試験した項目については、対照と比べてほとんど差は認められなかった。また 5% DHC 添加実験を 2 カ年継続した結果も影響はほとんどみられなかった。

つぎに、Gould は、2 年間 5% DHC 添加飼料で飼育したラットの二代目子孫について各種臓器 (副腎、脳、生殖腺、心臓、腎臓、骨盤、肝臓、盲腸、乳腺、肺、脾臓、脳下垂体、子宮、前立腺、気管、膀胱) の病理学的検査を行った結果、異常が認められないことを報告している (第5表)。

9. ネオヘスペリジンジヒドロカルコンの用途²⁸⁾

ネオヘスペリジン DHC は砂糖の 1500 倍、サッカリンの 10 倍の甘味を有し、近い将来、人工甘味料として、かなり広く使用されるようになることが期待されている。現在カリフォルニア州にある Neutralite と California Aromatics & Flavor Inc. の両社で試験的に製造されており、その月産額は、前者で 500 ポンド、後者で 1000 ポンドである。また Neutralite 社の製品は 1 ポンドあたり 75~125 ドルで販売されているが、この価格はサッカリンの 50~60% コスト高になるという。将来、キャンデー、ソフトドリンク、口紅などに应用することを計画しているようである。

終りに当り、原稿の整理と図表の作製に尽力頂いた当研究室の小西福子助手に謝意を表します。

文 献

- 1) HOROWITZ, R. M. and GENTILI, B.: U. S. Patent, 3887321 (1963).
- 2) 有吉安男: 化学と生物, **12**, (4), 274 (1974).
- 3) 佐藤昌康編: 味覚・嗅覚の科学, (朝倉書店) p. 138 389.
- 4) 岡田茂孝: 化学と生物, **11**, (11), 712 (1973).
- 5) 神谷真太郎・江崎幸子: 食品工誌, **18**, (1), 38 (1971).
- 6) HOROWITZ, R. M. and GENTILI, B.: *J. Agr. Food Chem.*, **17**, 696 (1969).
- 7) HOROWITZ, R. M.: *Biochemistry of Phenolic Compound*, ed. HARBONE, J. B. (Academic Press), p. 545 (1964).

-
- 8) KAMIYA, S., ESAKI, S. and KONISHI, F.: *Agr. Biol. Chem.*, **40**, (2), 273 (1976).
9) KAMIYA, S., KONISHI, F. and ESAKI, S.: *ibid.*, **38**, (10), 1785 (1974).
10) KAMIYA, S., ESAKI, S. and KONISHI, F.: *ibid.*, **39**, (9), 1757 (1975).
11) KAMIYA, S., ESAKI, S. and KONISHI, F.: *ibid.*, 印刷中 (1976).
12) 芝 哲夫: *ファルマシア*, **12**, (4), 313 (1976).
13) NISHIURA, M., ESAKI, S. and KAMIYA, S.: *Agr. Biol. Chem.*, **33**, (8), 1109 (1969).
14) ROBERTSON, G. H., CLARK, J. P. and LUNDIN, R.: *Ind. and Engr. Chem.*, Product Development, June (1974).
15) ESAKI, S., KAMIYA, S. and KONISHI, F.: *Agr. Biol. Chem.*, **39**, (7), 1385 (1975).
16) KANIYA, S., ESAMI, S. and KONISHI: *ibid.*, **39**, 1757 (1975).
17) KAMIYA, S., ESAKI, S. and KONISHI, F.: *ibid.*, 未発表
18) HOROWITZ, R. M.: 日本特許, 34K2, 16, D2 (1974).
19) SHALLENBERGER, R. S. and ACREE, T. E.: *Nature*, **216**, 480 (1967).
20) JAYASANKER, N. J., BANDONI, R. J. and TOWERS, G. H. N.: *Phytochemistry*, **8**, 379 (1969).
21) CHATTERJEE, A. K. and GIBBIN, L. N.: *J. Bacteriol.*, **100**, 594 (1969).
22) 南川隆雄: *化学と生物*, **8**, (4), 255 (1970).
23) SELTZER, K. J.: *Chem. and Eng.*, Aug. 25, 27 (1975).
-