生理活性を有する Isocoumarin 誘導体の合成 (第 2 報) 3,4-Dihydro-
isocoumarin 類の甘味と化学構造について¹⁾

大和正利, 橋垣国子, 桑野泰代,^{2a)} 小山鷹二^{2b)}

第一薬科大学,^{2a)} 岡山大学医学部薬学科^{2b)}

Syntheses of biologically Active Isocoumarins. II. Chemical Structure
and Sweet Taste of 3,4-Dihydroisocoumarins

MASATOSHI YAMATO, KUNIKO HASHIGAKI, YASUYO KUWANO^{2a)}
and TAKAJI KOYAMA^{2b)}

*Daichi College of Pharmaceutical Sciences^{2a)} and Pharmaceutical Institute,
Medical Faculty, University of Okayama^{2b)}*

(Received June 22, 1971)

On the basis of the previous findings, 3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-3,4-dihydro-isocoumarin (VIII) and β -(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethylbenzene (XV) were synthesized. Both VIII and XV had a sweet taste whereas VII, XIII, and XIV were all tasteless, suggesting the essential part (XV) of the molecule of sweet 3,4-dihydroisocoumarins.

前報¹⁾において phylloidalcin の構造変換および関連化合物の合成により 3,4-dihydroisocoumarin 類の甘味と化学構造について報告したが今回はこれらの知見に基づいてさらに phylloidalcin の甘味発現の基本構造を追求した知見を追補する。

まず phylloidalcin の 8 位の hydroxy 基の効果を確かめるために Chart 1 に示した方法によって 3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-3,4-dihydroisocoumarin (VIII) を合成した。(a) の方法では (IV) の diazonium 塩を常法により希硫酸中で分解すると脱アミノ化された 3-(4-methoxyphenyl)-isocoumarin が得られたにすぎないので Gilman³⁾ らの方法に従い diazoniumborofluoride 体 (V) として安定な結晶を得たのち、氷酢酸中で加熱することにより目的を達した。しかし収率はきわめて不良であった。この場合に中間体として得られた 3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-isocoumarin (VII) は甘味がなく無味であったが、これを sodiumborohydride で還元して得られた 3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-3,4-dihydroisocoumarin (VIII) は強い甘味を呈した。(b) の方法は 3-(4-acetoxyphenyl)-isocoumarin (IX) を塩化アルミと熔融して Fries 転位をさせて methyl ketone 体 (X) としたのち、Bayer-Villiger 反応を行なった。(C) の方法は Ogilialoro-Perkin 反応を応用した方法で最も収率がよく簡単な 3,4-dihydroisocoumarin 誘導体の合成法で Muller⁴⁾ らの方法と違って直接脱カルボキシル化が同時に起こった 2-(3-hydroxy-4-methoxystyryl)-benzoic acid (XIII) が得られた。このものは全く甘味を呈しないが、これを冷時に濃硫酸で閉環シラクトン化した VIII は甘味を呈した。このことより phylloidalcin の 8 位の hydroxy 基を除いても甘味が発現すること、また両方の phenyl 基に挟まれた炭素-炭素の結合が不飽和である stilbene 誘導体や isocoumarin 誘導体では無味であるが、これらをラクトンに閉環、または還元することにより飽和結合である 3,4-dihydroisocoumarin 誘導体とすると甘味を呈するようになることを認めた。つぎに、ラクトン環の効果を確かめるために β -(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-ethylbenzene (XV) の合成を行なった。すなわち、phenyl acetic acid と isovanillin を無水酢酸ナトリウムと熔融して 3-hydroxy-4-methoxystilbene (XIV) としたの

1) 第 1 報: 大和正利, 北村武夫, 橋垣国子, 桑野泰代, 芳田典子, 小山鷹二, 薬誌, 92, 367 (1972).

2) Location: a) Takamiya, Tamagawa-chō, Fukuoka-shi; b) Tushima, Okayama-shi.

3) H. Gilman, W.G. Bywater, P.T. Parker, *J. Am. Chem. Soc.*, 57, 885 (1935).

4) Muller, E., *Ann. Chem.*, 491, 251 (1931); Muller, E., Gawlick, H., Kreutymann, W., *Ann. Chem.*, 515, 97 (1934).

ち接触還元を行ない XV を得た。この XV は甘味を呈したがその中間体である XIV は無味であった。これらの事実より、phyllodulcin のラクトン環は甘味発現に直接関係がないものと考えられる。また前述の VII と VIII, XIII と VIII との関係とをあわせて考察すると、両方の phenyl 基の中間に存在する炭素-炭素の結合が不飽和である化合物は自由回転が阻害されて味蕾の甘味 receptor site との結合を不可能にしているものと考えられる。

結 論

3,4-Dihydroisocoumarin 類の中で天然に存在する phyllodulcin のみが呈する甘味についてはその 8 位の hydroxy 基、ラクトン環が甘味発現に直接関係していないことを認めた。また、3,4-位が不飽和である isocoumarin 類や stilbene 類は他の条件 (3 位に hydroxy 基、4 位に methoxy 基、両端の phenyl 基の間に 2 コの炭素結合がある) が満足されても甘味を呈しないが、これを飽和結合とすると甘味が発現することを認めた。Phyllodulcin の構造より 8 位の hydroxy 基、ラクトン環を取り除いた構造を有する β -(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-ethylbenzene (XV) が甘味を有することよりこの化合物が phyllodulcin の甘味発現のための基本構造をなしていると考えられる。

(a)

(b)

(c)

Chart 1

考 察

Phyllodulcin の構造の変換した β -(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-ethylbenzene (XV) が甘味を有し、その中間体である 3-hydroxy-4-methoxystilbene (XIV) が無味であることなどから一方の置換基をもたない phenyl 基が味蕾の receptor site の周辺で Van der Waals の吸着をされたのち、3 位に hydroxy 基と 4 位に methoxy 基をもった方の phenyl 基が自由に曲折して味蕾の receptor site と静電的に Shallenberger⁵⁾ らの説のごとく AH 部と B 部として水素結合するときに甘味が感じられるようになるものと考えられる。この点についてはさらに検討中である。

実 験 の 部

融点は柳本微量融点測定装置を使用し、すべて未補正、赤外線吸収 (IR) スペクトルは日本分光 IRA-1 型、核磁気共鳴 (NMR) スペクトルは日本電子 JNM-PS-100 型を使用、TMS を内部基準として測定、Mass Spectra は日本電子 OL-SG 型を使用した。

[1]. 3-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)-3,4-dihydroisocoumarin (VIII) の合成 (a 法)

3-(3-Nitro-4-hydroxyphenyl)-isocoumarin (II) の合成 A. Rose⁶⁾ らの方法で合成した 3-(4-hydroxyphenyl)-isocoumarin (I) 2.5 g (0.01 mole) を無水ベンゼン、無水エーテル各 100 ml の混合溶媒に溶解し、濃硝酸 4.2 g と濃硫酸 3.6 g よりなる混酸を外部より氷水で冷却して加え、10° に 2 時間、さらに 30° に 2 時間攪拌したのち、冷後析出した黄色の結晶をろ取、水洗後、メタノールより再結晶した。mp 240—241° 収量 1.7 g (59%)。Anal. Calcd. $C_{15}H_9O_5N$: C, 63.61; H, 3.20; N, 4.95. Found: C, 63.36; H, 3.30; N, 4.58.

3-(3-Nitro-4-methoxyphenyl)-isocoumarin (III) の合成 3-(3-Nitro-4-hydroxyphenyl)-isocoumarin (II). 10 g (0.035 mole) を乾燥アセトン 600 ml に溶かし、methyl iodide 110 g (0.774 mole) と無水炭酸カリ 25 g (0.18 mole) をそれぞれ 5 回に分けて加え、反応溶液がジアゾ試薬に対して陰性となるまで加熱還流させた。ろ液をろ取し、アセトンを留去し、その残渣を 70% アセトンより再結晶すると mp 207—210° の黄色結晶 3.5 g (32%) が得られた。Anal. Calcd. $C_{16}H_{11}O_5N$: C, 64.64; H, 3.73; N, 4.71. Found: C, 64.61; H, 3.52; N, 4.73.

3-(3-Amino-4-methoxyphenyl)-isocoumarin (IV) の合成 3-(3-Nitro-4-methoxyphenyl)-isocoumarin (III) 2 g (0.006 mole) をメタノールに溶解し、Adams の白金触媒 0.3 g を加えて接触還元して水素の吸収がもはやみられなくなったのち、触媒をろ別し、溶媒を留去した残渣をメタノールより再結晶した。mp 168—170° 収量 1.2 g (71%)。Anal. Calcd. $C_{16}H_{13}O_3N$: C, 71.90; H, 4.90; N, 5.24. Found: C, 71.52; H, 4.90; N, 5.13.

3-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)-3,4-dihydroisocoumarin (VIII) の合成 3-(3-Amino-4-methoxyphenyl)-isocoumarin (IV) 2.14 g (0.008 mole) を塩酸 10 ml と水 30 ml に溶解し懸濁溶液のまま、氷冷して 5° 以下としたものに 0.6 g の亜硝酸ナトリウムの飽和水溶液を滴下して加え、別に調製した fluoroboric acid⁷⁾ 2.8 g を加えて強力に 10° 以下で攪拌すると diazoniumfluoroborate (V) は水に難溶の沈殿として析出し、これをろ取、水洗、メタノール、ついでエーテルで洗浄し、酢酸中約 10 時間加熱還流させた。この間ときどき反応液の一滴をろ紙につけて、 β -naphthol 試薬を点滴してほとんど呈色しなくなることを終末点とした。冷後、氷水中に注入し酢酸エチルで抽出し、溶媒を留去した残渣をクロロホルムを溶媒としてシリカゲルを用いて溶出クロマトを行ない分離精製した。最初に溶出した mp 161—162° の結晶は塩化第二鉄反応、およびジアゾ試薬に対して反応陽性を示し、後に溶出した結晶は mp 107—108° の 3-(4-methoxyphenyl)-isocoumarin であった。最初に溶出した mp 161—162° の結晶は Mass Spectrum m/e : 268 (M^+) をあたえ、 $C_{16}H_{12}O_4$ (VII) の分子量に相当した。収量 0.2 g (10%)。このものを 0.1 g (0.0037 mole) とリエタノール 10 ml と 4% の水酸化ナトリウム水溶液 6 ml の混合液に溶解させ sodiumborohydride 0.4 g を用いて常法により 6 時間加熱還流した。冷後、希硫酸酸性としてエタノールを留去し、酢酸エチルで抽出し、水洗乾燥後、溶媒を留去し、残渣をエタノールより再結晶した。mp 144—145° の結晶 50 mg (50%) が得られた。このものはエタノール溶液として強い甘味を有する。IR ν_{max}^{NaCl} cm^{-1} : 3470 (OH), 1705 (C=O) を示し、別途 (C) 法で合成した VIII の IR 吸収スペクトルとよく一致した。

(b) 法

3-(4-Acetoxyphenyl)-isocoumarin (IX) の合成 Rose⁶⁾ らの方法で得た 3-(4-hydroxyphenyl)-isocoumarin (I) を 15 g (0.063 mole) と無水酢酸 75 g を無水酢酸ナトリウム 6 g と共に 1 時間加熱したのち、氷水中に注入して析出した結晶をろ取し、メタノールより再結晶した。mp 162—164° 収量 15 g (84%)。Anal. Calcd. $C_{17}H_{12}O_4$: C, 72.85; H, 4.32. Found: C, 72.63; H, 4.30.

3-(3-Acetyl-4-hydroxyphenyl)-isocoumarin (X) の合成 3-(4-Acetoxyphenyl)-isocoumarin (IX) を 7 g (0.025 mole) と無水塩化アルミニウム 12.5 g (0.094 mole) を混合し、150—160° に油浴上 1 時間溶融した。冷後、希塩酸を加えて分解し、析出した結晶をろ取水洗後、ジオキサンより再結晶した。mp 208—210° 収量 6 g

5) R.S. Shallenberger, T.E. Acree: *Nature*, **216**, 480 (1967).

6) A. Rose, N.D. Buu-Hoi and P. Jaquignon, *J. Chem. Soc.*, **1965**, 6100.

7) E. Starky, D. T. Flood, *Org. Sym., Coll.* **2**, 225, 295. (1950).

(85.5%). *Anal.* Calcd. $C_{17}H_{12}O_4$: C, 72.85; H, 4.32. Found: C, 72.53; H, 4.30. NMR (10% solution in $CDCl_3$) δ : 2.75 (3H, s, $COCH_3$), 6.85—8.42 (8H, m, aromatic and olefinic protons), 12.53 (1H, s, OH).

3-(3-Acetyl-4-methoxyphenyl)-isocoumarin (XI) の合成 3-(3-Acetyl-4-hydroxyphenyl)-isocoumarin (X) を 8 g (0.028 mole) とし、無水炭酸カリウムで乾燥したアセトン 1200 ml に溶解し、無水炭酸カリウム 30 g と methyl iodide 30 ml を 5 時間おきに 3 回にわけて加え加熱攪拌した。反応終了後に汙過して得た汙液を濃縮し、析出した結晶をアセトンより再結晶した。mp 198—200° 収量 7 g (83%). *Anal.* Calcd. $C_{18}H_{14}O_4$: C, 73.46; H, 4.80. Found: C, 73.10; H, 5.01. NMR (10% solution in $CDCl_3$) δ : 2.62 (3H, s, $COCH_3$), 3.95 (3H, s, OCH_3), 6.90—8.35 (8H, m, aromatic and olefinic protons).

3-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)-3,4-dihydroisocoumarin (VIII) の合成 3-(3-Acetyl-4-methoxyphenyl)-isocoumarin (XI) 2 g (0.006 mole) を氷酢酸 75 ml に溶解し、*p*-toluenesulfonic acid 0.36 g を添加後、40% 過酢酸 9 ml を加えて 15 時間 40° に加温して攪拌した。冷後反応液を氷水中に注入し、酢酸エチルで抽出し、酢酸エチル層を 5% 炭酸水素カリウム溶液で洗浄して酢酸を除き水洗乾燥後溶媒を留去して得られた淡黄色の油状物を精製することなく、4% 水酸化ナトリウム溶液 70 ml とエタノール 80 ml を加えて sodiumborohydride 2 g (0.053 mole) を加えて 6 時間攪拌しながら加熱還流させた。冷後希硫酸で酸性としたのちエタノールを留去し、残渣を酢酸エチルで抽出、水洗乾燥後溶媒を留去し、クロロホルムを溶出溶媒としてシリカゲルを用いて溶出クロマトを行ない分離し、ジアゾ試薬に対して反応陽性のフラクションをベンゼンより再結晶して mp 145—146° の無色結晶を得た。収量 0.3 g (15.8%). *Anal.* Calcd. $C_{16}H_{14}O_4$: C, 71.10; H, 5.22. Found: C, 70.92; H, 5.24. NMR (solution in $CDCl_3$). 3 位の 1H と 4 位の 2H は ABX 型のパターンを示す。 δ : 3.09 (1H, q, $J_1=16.4$ cps, $J_2=3.9$ cps, $-C_{(4)}H_2-$), 3.37 (1H, q, $J_1=16.4$ cps, $J_2=10.4$ cps, $-C_{(4)}H_2-$), 3.96 (3H, s, OCH_3), 5.49 (1H, q, $J_1=10.4$ cps, $J_2=3.9$ cps, $-C_{(3)}H-$), 5.76 (1H, s, OH), 6.85—8.22 (7H, m, aromatic protons). Mass Spectrum m/e : 270 (M^+).

(c) 法

Homophthalic acid 6.7 g (0.036 mole) に無水酢酸カリウム 8.5 g (0.043 mole) を加え、さらに isovanilin 5 g (0.033 mole) と共に油浴上 170—180° に攪拌して溶融し、4 時間この温度で反応した。反応中に内容物は一度融解したのち再び固化する。冷後、反応混合物に水を加えて塊を碎き、酢酸エチルで抽出し、酢酸エチル層を 5% 炭酸水素カリウム溶液で抽出したアルカリ層を前の水層と合せて希硫酸酸性とすると結晶が析出した。再びこれを酢酸エチルにとり水洗乾燥後溶媒を留去し、残渣をエタノールより再結晶すると mp 151—154° の結晶 XIII が得られた。収量 1.3 g (14.8%). *Anal.* Calcd. $C_{16}H_{14}O_4$: C, 71.10; H, 5.22. Found: C, 70.83; H, 5.35. IR $\nu_{max}^{Nujol} cm^{-1}$: 3100—3400 (OH), 1675 (C=O), 1580 (C=C) このものは 2-(3-hydroxy-4-methoxystyryl)-benzoic acid (XIII) であることがわかったのでこれをラクトン化するために (XIII) 0.5 g を寒剤で冷却して 5° 以下で濃硫酸 5 ml を加えて全溶させ、5 分間攪拌したのち、氷水中に注入し、ついで酢酸エチルで抽出、酢酸エチル層を 5% 炭酸水素カリウム溶液で抽出して未変化の (XIII) を除き、水洗乾燥後溶媒を留去した。残渣をエタノールより再結晶すると mp 145—146° の結晶約 0.2 g (40%) を得た。この結晶のエタノール溶液は甘味を呈した。 *Anal.* Calcd. $C_{16}H_{14}O_4$: C, 71.10; H, 5.22. Found: C, 70.99; H, 5.05. IR $\nu_{max}^{Nujol} cm^{-1}$: 3485 (OH), 1700 (lactone C=O). XIII の 1580 (C=C) は消失。

[II] β -(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)-ethylbenzene (XV) の合成

Phenyl acetic acid 5.4 g (0.039 mole) と isovanilin 5 g (0.043 mole) および無水酢酸ナトリウム 3.5 g (0.043 mole) との混合物を油浴上 170—180° に 3 時間攪拌しながら加熱し、冷後水を加えて塊を碎き、酢酸エチルで抽出。酢酸エチル層を 10% 炭酸水素カリウム溶液で抽出し、水洗乾燥後溶媒を留去した。残渣をシリカゲルを用いてエーテルを溶出溶媒としてクロマトで分離した。mp 156—157° の結晶 0.5 g (6.8%) を得た。このものは 3-hydroxy-4-methoxystilbene (XIV) に相当する。 *Anal.* Calcd. $C_{15}H_{14}O_2$: C, 79.62; H, 6.24. Found: C, 79.20; H, 6.45. IR $\nu_{max}^{Nujol} cm^{-1}$: 3400 (OH), 1590, 1520 (C=C). このものは無味であった。この XIV を 1 g (0.004 mole) とし氷酢酸 200 ml に溶解し、20% パラジウム炭 0.3 g と共に接触還元を行ない、水素の吸収が終ったのち触媒を汙別し、減圧下に溶媒を留去し、70% エタノールより再結晶すると mp 94—94.5° の無色結晶 0.9 g (90%) を得た。 *Anal.* Calcd. $C_{15}H_{16}O_2$: C, 78.92; H, 7.06. Found: C, 78.67; H, 6.82. NMR (solution in $CDCl_3$) δ : 2.83 (4H, s, ethylene protons), 3.82 (3H, s, OCH_3), 5.10—5.82 (1H, broad, OH), 6.60—6.82 (3H, m, aromatic protons), 7.17 (5H, s, aromatic protons) この化合物のエタノール溶液は甘味を呈した。

謝辞 本研究は文部省試験研究助成金の一部によって行なったものであり深謝する。Mass spectrum, NMR の測定に協力頂いた吉富製薬株式会社中西美智夫研究所長に厚く感謝する。