

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：23201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14777

研究課題名(和文) 静電相互作用を利用したモノリグノール重合の制御

研究課題名(英文) Electrostatic effects of acyl groups on the polymerization of monolignol

研究代表者

岸本 崇生 (Kishimoto, Takao)

富山県立大学・工学部・准教授

研究者番号：60312394

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)： p-クマロイル基などの電子吸引性の置換基でアシル化されたリグニンには -0-4構造という特定の構造が非常に多い。本研究は、モノリグノールにアシル基を導入し、モノリグノールラジカルの電荷密度を変えることにより、モノリグノールの脱水素重合の制御を行うことを計画した。電子吸引性のp-クマロイル基の導入されたシナピルアルコールを合成し、酸化銀による酸化カップリングを行ったところ、-0-4構造をもつ2量体の生成を確認した。収率や反応のメカニズムなど詳細についてはさらに検討を要する。

研究成果の概要(英文)： Recently, highly acylated (acetylated and/or p-coumaroylated) lignins were isolated from the herbaceous plants sisal, kenaf, abaca, and curaua. The structures of all these highly acylated lignins were characterized by the significant predominance of -0-4 structures (up to 94%). In this investigation, biomimetic oxidations of sinapyl alcohol p-coumarate were carried out with Ag₂O to better understand the high frequency of -0-4 structures in highly acylated natural lignins. The -0-4-coupled dimers were isolated from reaction products of sinapyl p-coumarate. Further investigations are necessary to understand more about reaction mechanisms of acylated monolignols.

研究分野：木質バイオマス化学

キーワード：リグニン 脱水素重合 アシル基

1. 研究開始当初の背景

リグニンには、 β -O-4 構造を始め β -5、 β - β などの部分構造をもつ非常に複雑なポリマーであり、モノリグノールのランダムな重合により形成されるとされている。一方、DEL RIOらは、ケナフやマニラ麻などの非木材繊維のリグニンは、 γ 位の大部分がアセチル基などのアシル基によりエステル化されていること、シリングル/グアイアシル(S/G)比が高いこと、 β -O-4 構造量が非常に多い(最大 94%)ことを報告した(J. Agric. Food Chem., 2008)。しかし、このような γ 位が高度にエステル化されたリグニンの β -O-4 構造量がなぜこれほどまで多いのかは不明である。

β -O-4 構造は、樹木リグニンでは部分構造の 50~60%を占め、リグニンの理化学的性質に影響を与える重要な構造である。申請者は、モノリグノールの脱水素重合に関して、シナピルアルコールとコニフェリルアルコールの共存下で β -O-4 構造量が多くなることを報告した(J. Agric. Food Chem., 2010)。また、シナピルアルコールおよびシナピルアルコール γ アセテートの酸化銀 Ag_2O による重合を行い、シナピルアルコールの重合では β -O-4 構造量が 30% 程度であるのに対し、シナピルアルコール γ アセテートでは 80%以上になることを見出した。化学計算により、シナピルアルコール γ アセテート由来のラジカルは、電子吸引性のアセチル基により β 位の負電荷が小さくなり、O4位の負電荷との間の静電(クーロン)反発が小さくなることが β -O-4 構造量が多い理由であると推定した(図1, 2)。そこで、ラジカル同士の静電相互作用がリグニンの化学構造決定にかかわる重要な因子の一つであり、 γ 位の置換基や反応溶媒を変えてモノリグノールラジカルの接近時の静電相互作用を制御することにより、モノリグノールの重合の制御や、さらにはフェノール類の重合の制御が可能であると考えた。

2. 研究の目的

モノリグノールへの電子吸引性の置換基の導入や、反応溶媒の種類の変更により、モノリグノールラジカルの電荷密度を変え、ラジカル同士の接近時の静電相互作用(クーロン反発)を制御することにより、モノリグノールの脱水素重合の制御を行うことを計画した。一部の非木材繊維リグニンには、アセチル基とともに p -クマロイル基がエステル結合でリグニンの γ 位に導入されていることが分かっている。 p -クマロイル基などの電子吸引性の置換基が導入されたモノリグノールを合成し、酸化銀や有機溶媒耐性ペルオキシダーゼを用いて水系~非水溶媒中で重合し、反応生成物の化学構造解析を行う。これらにより、ラジカル同士の静電相互作用

がリグニンの化学構造決定に関わる因子であるかどうかを明らかにし、一般的なフェノール類の重合制御による機能性ポリマーやポリフェノール類の選択的合成へと展開するための基盤技術の確立を目指す。

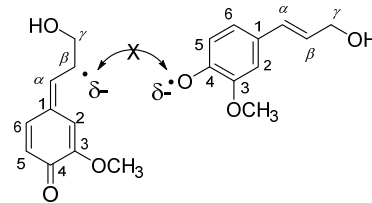


図1 β -O-4 結合形成時のモノリグノールラジカルの静電相互作用(反発)

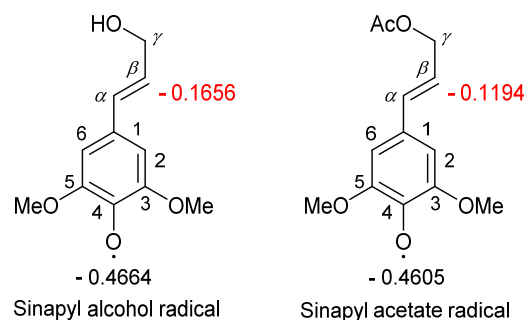


図2 シナピルアルコールとその γ アセテートの β 位およびO4位の電荷密度

3. 研究の方法

(1)有機溶媒耐性ペルオキシダーゼの調製

炭酸エステル基で活性化されたメトキシPEG化試薬(分子量 5000)を反応させ、西洋わさびペルオキシダーゼ(HRP)にポリエチレングリコール(PEG)を導入し、有機溶媒耐性 HRP を調製した。

(2)シナピルアルコール アセテートのペルオキシダーゼによる酸化カップリング

HRP および有機溶媒耐性 HRP(PEG-HRP)を用いて、シナピルアルコール γ アセテートの酸化カップリング反応を行った。

(3)シナピルアルコール - γ - p - クマレートの合成

p -クマール酸およびシナピン酸を出発物質とし、既往の方法を用いてシナピルアルコール - γ - p - クマレートを合成した。

(4)シナピルアルコール - p - クマレート

の酸化カップリング

酸化銀(Ag₂O)を用いてシナピルアルコール - p - クマレートの酸化カップリング反応を行った。

4. 研究成果

(1) 有機溶媒耐性ペルオキシダーゼの調製

アミノ基と選択的に反応する炭酸エステルで活性化されたメトキシ PEG 化試薬 (分子量 5000) を用いて, 西洋わさびペルオキシダーゼ (HRP) にメトキシ PEG 基を結合させた。PEG 化した西洋わさびペルオキシダーゼは, 遊離する p-ニトロフェノールの UV 測定, および, 電気泳動 (SDS-PAGE) 測定 (図 3) により, PEG 鎖の導入を確認した。



図 3 HRPおよびPEG-HRPのSDS-PAGE

(2) シナピルアルコール アセテートのペルオキシダーゼによる酸化カップリング

市販の HRP を用いてシナピルアルコール アセテートをジオキササン中で反応させたところ, 1 日間反応させても反応せず, 原料回収となった。一方, ジオキササン:緩衝液 1 : 1 の溶液中で, PEG-HRP を用いて反応させたところ, 図 4 に示す - 結合をもつ 2 種の異性体の生成を確認した。その他, 構造未同定の化合物が得られた。化合物の収率や未同定の化合物の化学構造など, 反応の詳細についてはさらに検討が必要である。

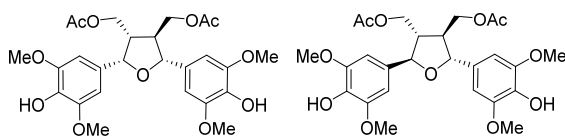


図 4 シナピルアルコール アセテートの PEG-HRP による酸化カップリング生成物

(3) シナピルアルコール - p - クマレートの合成

既往の方法を用いてシナピルアルコール - p - クマレート (8) を合成した。市販の p-クマル酸 (1) およびシナピン酸 (4) は, 無水酢酸/ピリジンを用いてアセチル基で保護し, それぞれアセチル基を持つ化合物 2 および化合物 5 に変換した。次に, 化合物 2 をオキサリルクロリドを用いて酸塩化物 3 に変換した。アセチル基で保護して化合物 5 は, 酸無水物に変換した後, 水素化ホウ素ナトリウムを用いて還元処理し, 化合物 6 を得た。次いで, ジメチルアミノピリジンを用いて化合物 3 および化合物 6 を反応させてエステル結合を形成して, 化合物 7 を得た。最後に, 化合物 7 をヒドラジンアセテートを用いて, シナピルアルコールと p - クマル酸との間のエステル結合を維持したまま, アセチル基のみ開裂させることにより, 目的の化合物 8 を合成した。

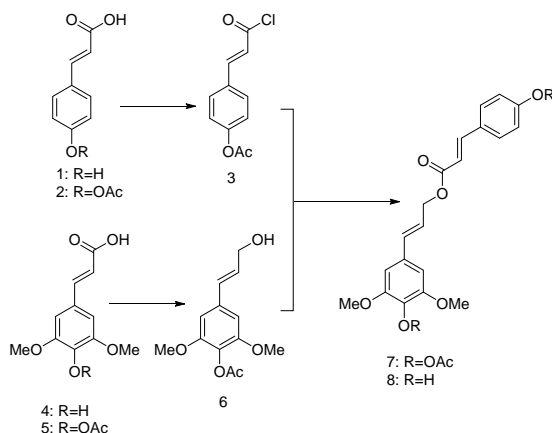


図 5 シナピルアルコール-γ-p-クマレートの合成

(3) シナピルアルコール - p - クマレートの酸化カップリング

シナピルアルコール アセテートと同様に, 酸化銀(Ag₂O)を用いてシナピルアルコール - p - クマレート (8) の酸化カップリングを行った。溶媒にアセトンを用いた場合には, 2 量体と思われる複数の化合物が生成したが, その化学構造は未同定であり, さらに検討が必要である。一方, 溶媒にジオキササンを用いた場合には, β-O-4 構造をもつ 2 量体の生成が確認できた (図 6)。その他の生成物や生成物の収量については, さらに検討が必要である。

以上のように, シナピルアルコール アセテートについては, PEG-HRP を用いて酸化カップリング反応を検討した。シナピルアルコール - p - クマレートについては, 酸化銀を用いて酸化カップリング反応を検討した。それぞれのアシル化モノリグノールの反

応生成物の同定・定量について、さらに反応のメカニズムについて、継続して検討していく必要がある。

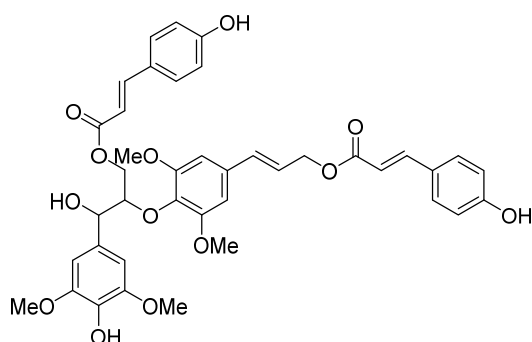


図6 シナピルアルコール γ -p-クマレートの
 Ag_2O による酸化カップリング生成物

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計 4 件)

Takao Kishimoto, Nana Takahashi, Masahiro Hamada and Noriyuki Nakajima. Biomimetic oxidation of sinapyl γ -acetate, The 28th International Conference on Polyphenol, 2016.7.10-7.15, Vienna.

齋藤真冬、岸本崇生、濱田昌弘、中島範行、「 β -O-4 型リグニンモデル化合物のアシドリシスによる解重合反応」、平成 28 年度有機化学北陸セミナー、2016.10.7-10.8 (金沢)

Takao Kishimoto, Nana Takahashi, Masahiro Hamada and Noriyuki Nakajima. Effect of g-acetyl group on the oxidative coupling of sinapyl acetate by Ag_2O , International Symposium on Wood Fiber and Pulping Chemistry (ISWFPC2015), 2015.9.9-9.11, Vienna.

岸本崇生、高橋奈々、濱田昌弘、中島範行、「シナピルアルコール - アセテートの酸化銀によるカップリング」、リグニン討論会、2015.11.5-11.6 (つくば)

6. 研究組織

(1)研究代表者

岸本 崇生 (KISHIMOTO, Takao)
富山県立大学・工学部・准教授
研究者番号: 60312394