

博士論文

酸素漂白過程における非フェノール性リグニン部位の
酸化機構に関する研究

大村知士

東京大学大学院
農学生命科学研究科生物材料科学専攻
木材化学研究室

2013

目次

第1章 序論

1-1 緒言

1-1-1 クラフト蒸解によるリグニン分解機構

1-1-2 酸素漂白によるリグニンの分解機構

1-2 リグニン部分構造の命名

1-3 酸素漂白過程におけるリグニンの酸素消費量に関する既往の研究

1-4 本研究の目的

第2章 本研究における実験方法

2-1 緒言

2-2 本研究で使用する酸素アルカリ処理

2-2-1 酸素アルカリ処理における活性酸素種(Active Oxygen Species, AOS)生成

2-2-2 酸素アルカリ処理における AOS 生成

2-2-3 酸素アルカリ処理における遷移金属イオンの影響

2-2-4 酸素アルカリ処理における温度の影響

2-2-5 酸素アルカリ処理におけるアルカリ濃度の影響

2-2-6 酸素アルカリ処理におけるリグニンモデル化合物の分解要因

2-3 本研究で酸素アルカリ処理に用いるリグニンモデル化合物

第3章 活性酸素種の攻撃に基づく β -O-4 結合開裂に伴う非フェノール性芳香核の遊離フェノールへの変換に関する検討

3-1 緒言

3-2 様々な β -O-4 型リグニンモデル化合物の酸素アルカリ処理における β -O-4 結合開裂の検討

3-2-1 最も一般的に非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 2-(2-methoxyphenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol (veratrylglycerol- β -guaiacyl ether, VG)の酸素アルカリ処理における β -O-4 結合開裂の検討

3-2-1-1 目的

3-2-1-2 実験

3-2-1-3 結果と考察

3-2-2 フェノール性芳香核を有する β -O-4 型リグニンモデル化合物 2-(3,5-dichlorophenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol (guaiacylglycerol- β -dichlorophenyl ether, GDC) および 2-(3,5-difluorophenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol (guaiacylglycerol- β -difluorophenyl ether, GDF)の酸素アルカリ処理における β -O-4 結合開裂の検討

3-2-2-1 目的

3-2-2-2 3,5-Dichlorophenol(DCPh)および 3,5-difluorophenol(DFPh)の安定性の検討

3-2-2-2-1 実験

3-2-2-2-2 結果と考察

3-2-2-3 GDC および GDF の酸素アルカリ処理における β -O-4 結合開裂の検討

3-2-2-3-1 実験

3-2-2-3-2 結果と考察

3-2-3 非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol (veratrylglycerol- β -dichlorophenyl ether, VDC)の酸素アルカリ処理における β -O-4 結合開裂の検討

3-2-3-1 目的

3-2-3-2 実験

3-2-3-3 結果と考察

3-2-3-4 Methyl β -D-glucopyranoside (MGP)の酸素アルカリ処理における分解の検討

3-2-3-4-1 目的

3-2-3-4-2 実験

3-2-3-4-3 結果と考察

3-2-4 非フェノール性 β -O-4 モデル化合物 methyl [4-[2-(3,5-dichlorophenoxy)-1,3-dihydroxypropyl]-2-methoxy]phenoxyacetate (carboxymethylated GDC, CMGDC)の酸素アルカリ処理における β -O-4 結合開裂

3-2-4-1 目的

3-2-4-2 実験

3-2-4-3 結果と考察

3-2-5 非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol (veratrylglycerol- β -difluorophenyl ether, VDF)の酸素アルカリ処理における β -O-4 結合開裂

3-2-5-1 目的

3-2-5-2 実験

3-2-5-3 結果と考察

3-3 本章のまとめ

第4章 活性酸素種の攻撃においてリグニン側鎖部位水酸基の種類が及ぼす影響に関する検討

4-1 緒言

4-2 AOS の攻撃に基づく β -O-4 結合開裂機構における α -位水酸基の影響

4-2-1 α -位水酸基をメチル化したフェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-methoxypropan-1-ol (α -methylated guaiacylglycerol- β -difluorophenyl ether, α -OMe-GDF)の酸素アルカリ処理における β -O-4 結合の開裂

4-2-1-1 目的

4-2-1-2 実験

4-2-1-3 結果と考察

4-2-2 α -位水酸基をメチル化した非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)-3-methoxy-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propan-1-ol (α -methylated veratrylglycerol- β -difluorophenyl ether, α -OMe-VDF)の酸素アルカリ処理における β -O-4 結合の開裂

4-2-2-1 目的

4-2-2-2 実験

4-2-2-3 結果と考察

4-2-3 ヒドロキシメチル基とヒドロキシメチレン基の AOS との反応性の比較

4-2-3-1 目的

4-2-3-2 実験

4-2-3-3 結果と考察

4-3 結果と考察

第5章 結論

第 1 章

序論

1-1 緒言

木材は種々の物質の集合体であり、あるものは細胞壁の構成成分として、そして、あるものは細胞内腔や特殊組織の含有成分として存在する。主成分は、多糖類のセルロースとヘミセルロース、そして、リグニンである。これら3つの主成分で、全体の約95%を占めている。

リグニンはフェニルプロパン構造を基本骨格とし、前駆体であるパラクマリルアルコール、シナピルアルコール、そして、コニフェリルアルコールが脱水素重合によって、エーテル結合や炭素-炭素結合を形成して生成した高分子である。Fig.1-1に、リグニンユニット間結合様式を示す。これらの結合様式の存在割合は樹種によって異なるが、樹木中のリグニンユニット間結合の50%程度は β -O-4型で構成されると考えられている。

紙・パルプは木材から生産される最も重要な製品の1つである。クラフトパルプは代表的な化学パルプで、わが国の木材パルプの約8割がこの方法で生産されている。製紙用化学パルプを製造するには、多糖類の重合度をできる限り保持したままで、リグニンを分解して取り除く必要がある。現在の化学パルプ製造法では、まず蒸解工程においてリグニンの大部分を取り除き、続いて漂白という多糖類に対しては比較的温和な条件の下で、パルプの品質悪化を抑えながら残存するリグニンを取り除く方法が用いられている。

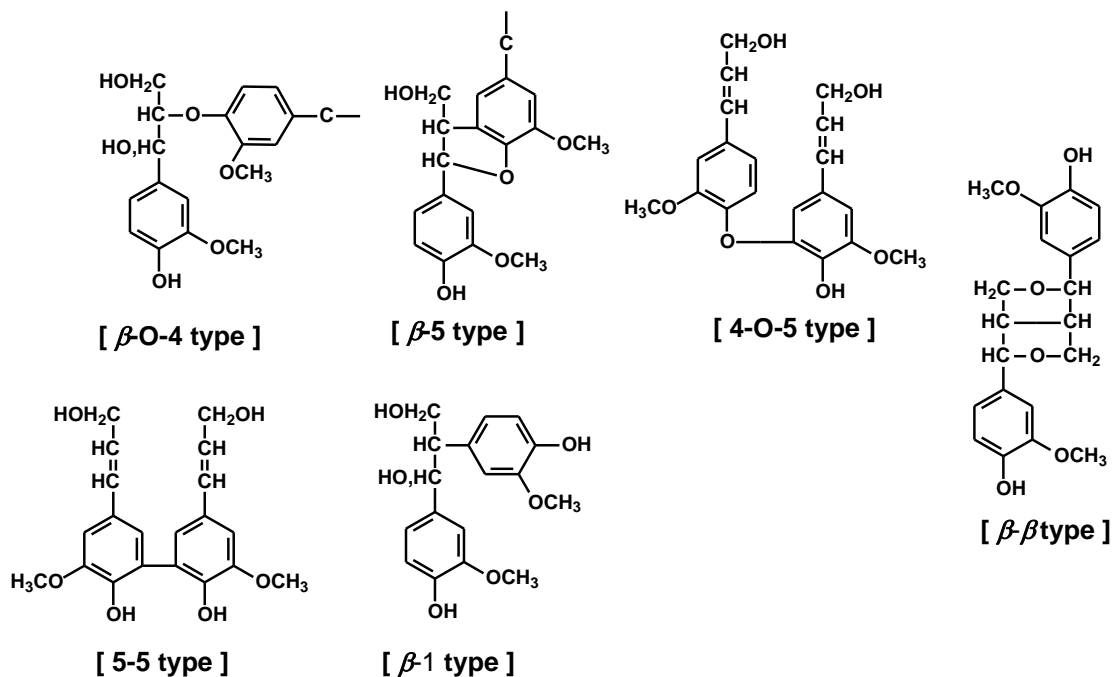


Fig.1-1 Type of linkage in lignin produced by the dehydrogenative polymerization

1-1-1 クラフト蒸解におけるリグニン分解機構

クラフトパルプ製造時における蒸解工程では、木材チップを170°C近くの高温アルカリ混合液(NaOHとNa₂Sが含まれる)で処理する。クラフト蒸解工程では、リグニンユニット間

の炭素-炭素結合は比較的安定であり、エーテル結合を開裂させてリグニンを低分子化し、これを溶出させることで脱リグニンを行っている。クラフト蒸解の主要な反応である β -エーテル結合の開裂機構¹⁻³⁾を、Fig.1-2 に示す。

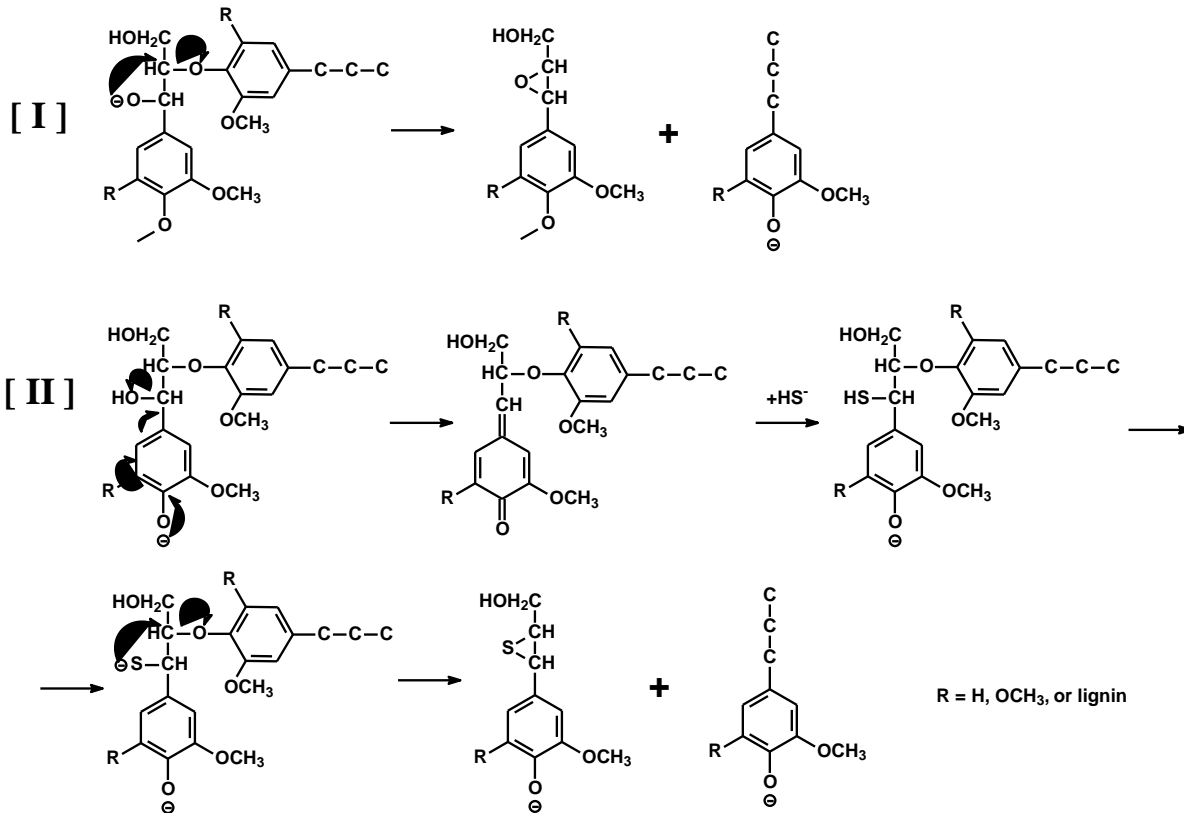


Fig.1-2 Cleavage route of β -O-4 linkage in lignin during kraft cooking

Fig.1-2-[I]は非フェノール性部位の反応で、これはアルカリ性水溶液中で解離した α -位アルコキシド(α -位の定義は Fig.1-3)が β -位炭素(β -位の定義は Fig.1-3)を攻撃し、分子内求核置換反応によって β -エーテル結合が開裂される。この反応では、非フェノール性 β -O-4型リグニン部位が分解され、新たなフェノール性部位が生成している。

フェノール性 β -O-4型リグニン部位の分解機構を Fig.1-2-[II]に示す。[I]の反応によって生成したフェノール性部位、または、元から木材中に存在したフェノール性部位がキノンメチド構造となった後、水硫化物アニオン(HS^-)が α -位炭素を攻撃し、 α -位炭素にチオール基が導入される。そして、アルカリ性水溶液中で解離した α -位チオール基が β -位炭素を攻撃し、分子内求核置換反応で β -エーテル結合の開裂を引き起こす。[II]の反応中間体であるキノンメチド構造は非常に反応性が高く、水硫化物アニオンと反応するだけでなく、他のリグニンユニットとも反応し、縮合型構造を生成し得る(Fig.1-4)。縮合反応はリグニンの高分子化につながり、クラフト蒸解における脱リグニンの阻害要因になり得る。系中に水硫化物アニオンが存在することでこの縮合反応が抑えられ、脱リグニン反応を促進すると

考えられている。

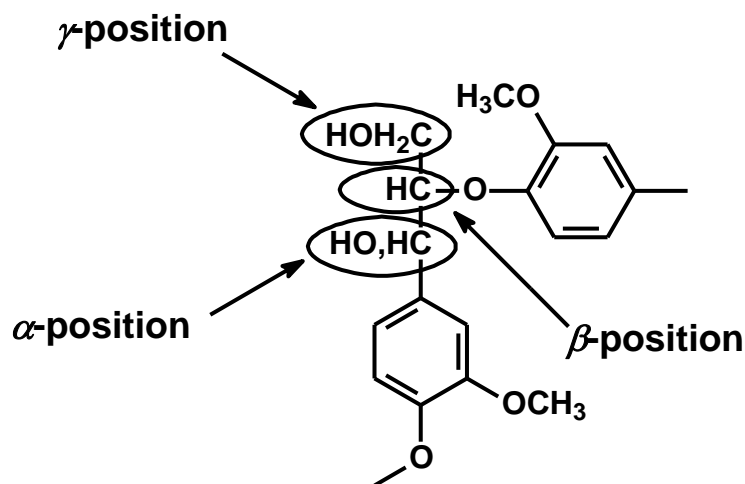


Fig.1-3 Definition of α -, β -, and γ -position of side-chain

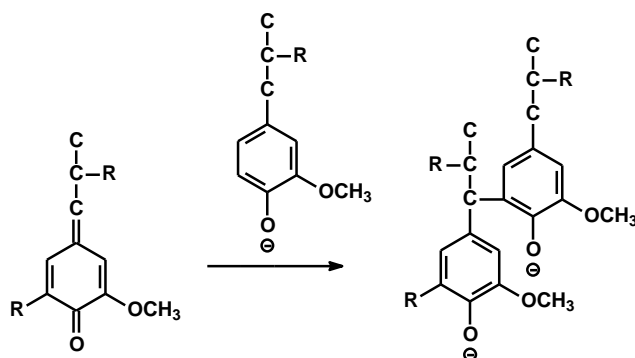


Fig.1-4 Condensation reaction of quinonemethide with another lignin structure

これらの分解機構から考えると、クラフト蒸解によって得られるクラフトパルプには、未分解のフェノール性リグニンユニット、非フェノール性 β -O-4型リグニンユニット、そして、上述の縮合反応によって生成したリグニンユニット等が残存している可能性がある。

また、キノンメチド構造を形成した後に γ 位(定義は Fig.1-3)がホルムアルデヒドとして脱離することによって生成するスチルベン構造も、クラフト蒸解中では安定である⁴⁻⁶⁾。そして、生成したホルムアルデヒドを介して2つの芳香環が結合した構造、または、キノンメチド構造との縮合物であるジフェニルメタン構造^{7,8)}、木材中に元来存在している β -5結

合、5-5 結合、そして、 β - β 結合等を持つリグニンユニットも、クラフトパルプ中に残存していると考えられる。これらの構造を、Fig.1-5 に示す。

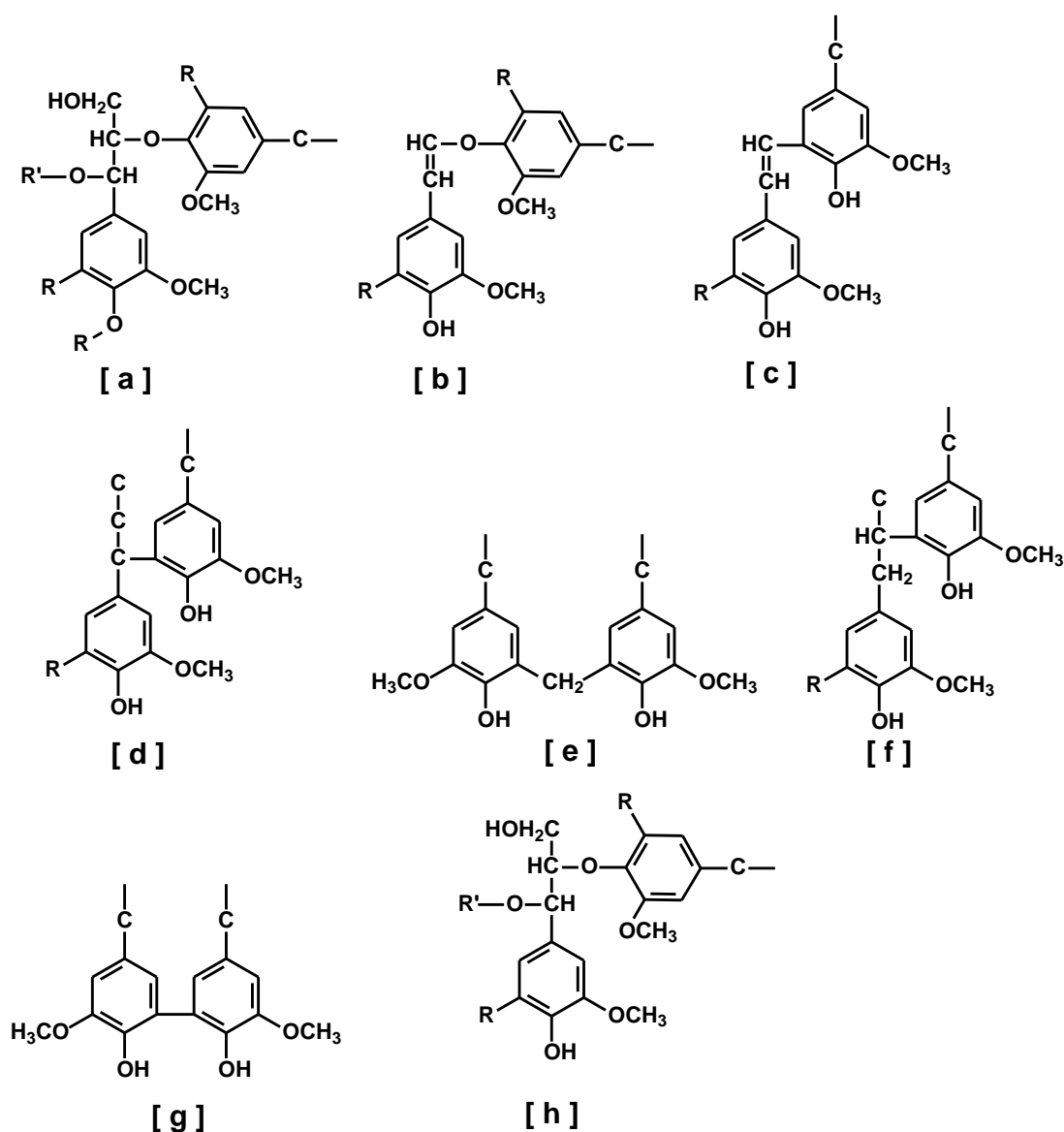


Fig.1-5 Structural feature of residual lignin in kraft pulp

(R : H or lignin R' : H, carbohydrate, or lignin)

1-1-2 酸素漂白によるリグニンの分解機構

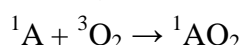
蒸解工程に引き続き、パルプは漂白工程に送られる。漂白工程では、セルロースの分解を抑えながらリグニンを選択的に分解してより高白色度のパルプを得るために、かつては塩素、アルカリ抽出、次亜塩素酸塩、そして二酸化塩素を適宜組み合わせさせた多段漂白を行っていた。塩素は経済的で、セルロースよりも残存リグニンなどの着色成分に対する反応性が非常に高いという特性を持つため、多段漂白でも脱リグニンを担う主要薬剤であり、初段に用いられてきた。塩素に続き、次亜塩素酸塩段、そして二酸化塩素段と進む多段漂白

が、長年採用されてきた。しかし近年、塩素での漂白によって生成する有機塩素化合物が問題となり、環境負荷の観点から漂白法の見直しが図られた。

塩素ガス(分子状塩素)による漂白の排液中には、毒性を持つ塩素化ダイオキシンや塩素化ジベンゾフラン等も含まれている。これらは自然界での安定性が高いため、分解されにくく蓄積する。これらやクロロホルムなどの有機塩素化合物による環境負荷を減らすため、分子状塩素ガスを使用しない ECF 漂白(Elemental Chlorine Free)や、二酸化塩素等の塩素系薬剤すべてを用いずに酸素やオゾンなどの酸素系薬品のみを使用する TCF 漂白(Totally Chlorine Free)が検討、実用化されている。

中でも分子状酸素は、ECF・TCF の導入以前から重視されていて、我が国では 70 年代後半以降からほとんどのパルプ製造工場で採り入れられており、最も重要な漂白試薬となっている。酸素は扱いが簡単で、排液や排ガスの環境負荷が少ないという利点がある。また、酸素漂白排液は蒸解工程の薬品回収システムに取り込むことができる。これらのことにより、酸素漂白は ECF、および TCF 漂白の初段として用いられている。

酸素漂白では、分子状酸素の存在がパルプ成分の分解に大きく関わっているが、空気中に存在する分子状酸素(三重項酸素)がオレフィン等の基底状態分子と直接結合する反応は、



のようにスピン禁制反応であり、スピン許容の



が大きい吸熱反応であるため⁹⁾、一般的に分子状酸素の反応は不活性であり、酸素漂白中において分子状酸素がセルロース等の多糖類、および、リグニンの芳香核部分と直接反応することは少ない。

クラフトパルプの酸素漂白処理はアルカリ性水溶液中で行われる。すなわち、アルカリ性水溶液によってリグニン中のフェノール性部位を解離させ電子リッチな部分を作る。ここから分子状酸素が 1 電子を引き抜くことで、フェノキシラジカルとスーパーオキシドアニオンラジカル($\cdot\text{O}_2^-$)が生成する段階が分子状酸素とリグニンとの初発反応である。これらが結合して過酸化物が生成し、これが遷移金属の触媒によって分解すると、酸素漂白において多大な影響力を持つ、活性酸素種(AOS)と呼ばれるラジカル種が発生する。また、多糖類の還元末端も分子状酸素と反応して AOS が発生すると考えられている¹⁰⁾。

酸素漂白処理におけるフェノール性リグニンユニット酸化機構を、Fig.1-6 に示す。

Fig.1-6 の[III]に示す反応では、アルカリ性水溶液中で解離したフェノール性水酸基と分子状酸素が反応し、 $\cdot\text{O}_2^-$ とフェノキシラジカルが発生するが、これは共鳴構造をとり、フェノール性酸素、および、芳香環の 1,3,5 位炭素がラジカル性を持つ。

[IV]は、ラジカルが芳香環 3 位の炭素上に存在する構造の性質が反映された場合の、 $\cdot\text{O}_2^-$ との反応による芳香環の開環機構を示す。この機構によってフェノール性芳香環が開環し、その結果としてリグニン中のカルボキシル基量が増加して水溶性が高くなるため、クラフトパルプから除かれていくと、一般的には考えられている。しかし、この機構では、一部がアルカリ性水溶液に可溶化するのみで、リグニン全体がこの機構のみによって水溶液に

可溶化するとは考え難い事を記述しておく。

上記の機構に基づく、Fig.1-5 に示すリグニンモデル化合物の内、フェノール性芳香環を持つ[b]~[h]の構造は、酸素漂白中で分解されると考えられる。

一方、フェノール性部位を持たない[a]のようなリグニン構造は、酸素漂白処理および酸素漂白条件を模した実験的条件による処理である酸素アルカリ処理において、かなり安定な構造と考えられている。実際に、非フェノール性リグニンモデル化合物である 3,4-dimethoxybenzyl alcohol を単独で、酸素アルカリ条件下で処理した場合、その酸化分解はまったく進まない¹¹⁾。このように、非フェノール性リグニンユニットは、分子状酸素とは反応しないことが知られている。

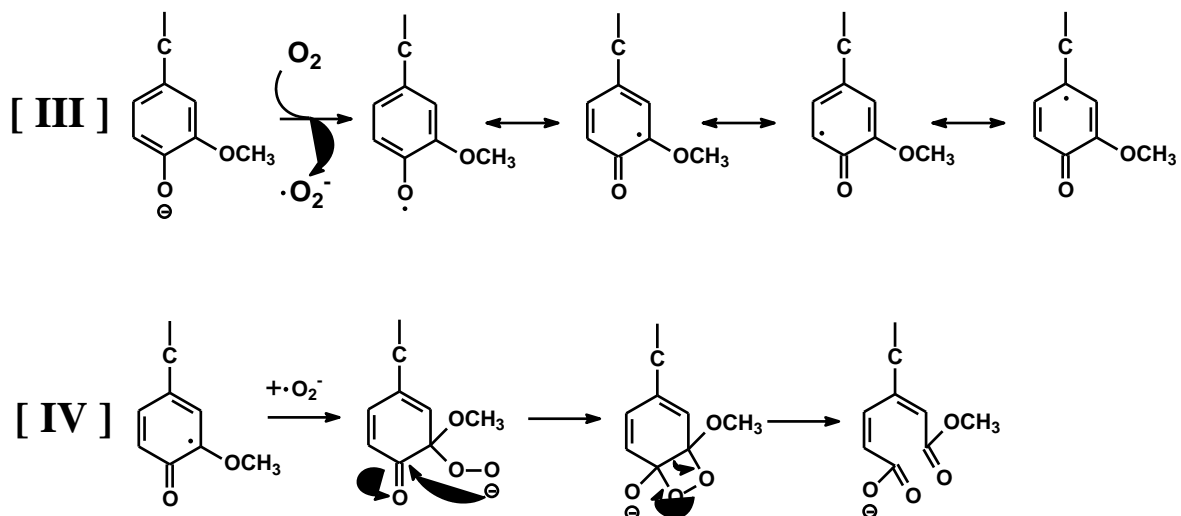


Fig.1-6 Reaction between molecular oxygen and a phenolic lignin moiety and the consecutive ring opening reaction

1-2 リグニン部分構造の命名

酸素漂白条件下において、リグニンモデル化合物を用いたリグニンの酸化機構の検討においては、リグニンモデル化合物の部分構造に注目した考察が行われるため、それら部分構造の名前を決めておくと便利である。これらを Fig.1-3、Fig.1-7、そして、Fig.1-8 に示す。Fig.1-7 および Fig.1-8 に、リグニン構造の一つである β -O-4 型構造の二量体モデル化合物について示す。

Fig.1-3 でも示したが、 β -O-4 結合に関与しない芳香環を A 環と呼ぶ。上記のように、A 環が非フェノール性であるモデル化合物は、酸素漂白処理条件下では分解されにくい。A 環のうち、プロパン鎖炭素と結合している芳香環炭素を 1 位炭素とし、これからグアイアシル芳香環をメトキシル基向きに 2 位、3 位、4 位、5 位、そして、6 位炭素と呼称する(Fig.1-8)。プロパン鎖部位を側鎖と呼び、これは第 1 級、および、第 2 級水酸基を持つ。本論文では、側鎖部分の最も A 環に近い炭素を α -位炭素、アリールエーテル結合を持つ炭素を β -位炭素、そして第 1 級水酸基を持つ炭素を γ -位炭素と呼称する。加えて、 α -位炭素または γ -位炭素に結合している水酸基を、 α -位水酸基または γ -位水酸基と呼称する(Fig.1-3)。 β -O-4 結合を構成する芳香環を B 環と呼ぶ。B 環は、アリールエーテル結合(β -O-4 結合)を構成するため非フェノール性である。B 環の炭素も A 環と同様に番号付けを行う、すなわち、メトキシル基を持つ炭素が 3 位、そして、フェノール性酸素を持つ炭素が 4 位となる。

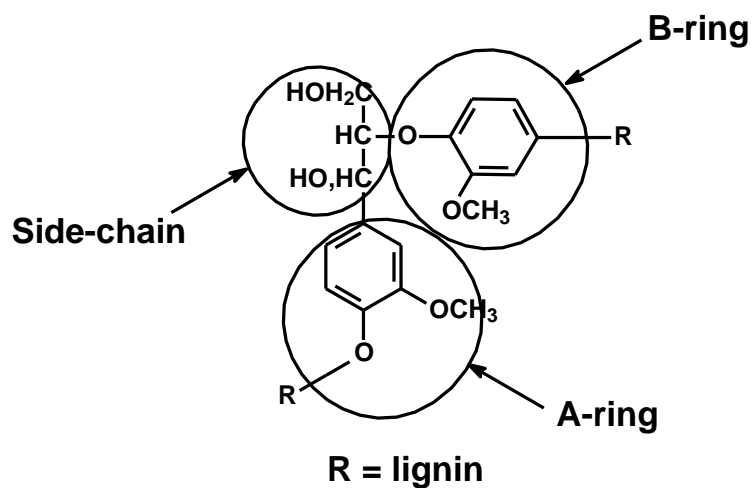


Fig.1-7 Definition of the A-ring, B-ring, and side-chain of β -O-4 type lignin substructure

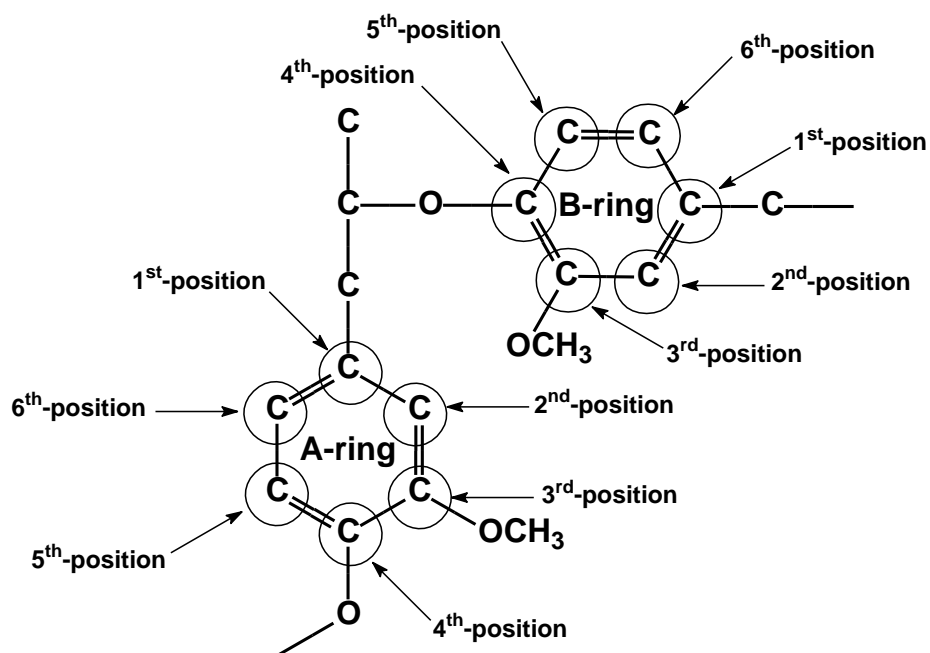


Fig.1-8 Definition of numbering the aromatic carbons in the A- and B-rings of β -O-4 type lignin substructure

1-3 酸素漂白過程におけるリグニンの酸素消費量に関する既往の研究

酸素漂白処理による脱リグニンを向上させる見地から、リグニンの酸化機構に関する研究が数多く行われてきた。Eckert ら¹²⁾は、フェノール性単量体リグニンモデル化合物として、4-*t*-butylsyringol (Fig.1-9)、および、4,6-di-*t*-butylguaiacol (Fig.1-9)に穏やかな条件で酸素アルカリ処理を行い、これらの酸化分解生成物としてフラン誘導体が得られる事を報告した。また、この生成過程では芳香環の開環反応が起きている事を予想し、Fig.1-10 のようなフェノール性芳香環の開環機構を提案した。Gierer ら¹³⁾は、4-*t*-butylguaiacol (Fig.1-9)を酸素アルカリ処理し、4-*t*-butylguaiacol の分解生成物として、*o*-キノン誘導体が生成することを報告した。Gierer ら¹⁰⁾は4-*t*-butylsyringol を穏やかな条件下で酸素アルカリ処理して、その生成物を分析し、pH の高い条件下ではムコン酸型構造が、そして、酸素アルカリ処理としては pH が低い条件下ではフランカルボン酸型構造が、主要な生成物であることを報告した。

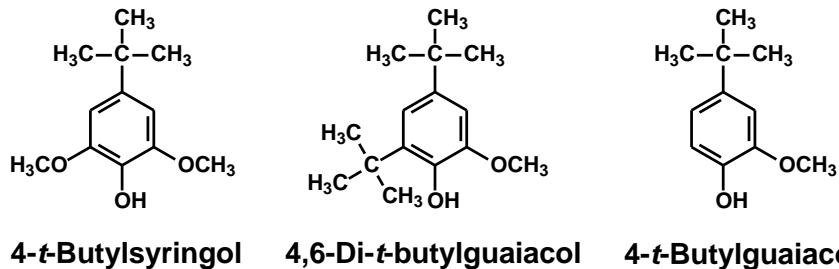


Fig.1-9 Structure of monomeric phenolic lignin model compounds used by Eckert *et al.* and Gierer *et al.*

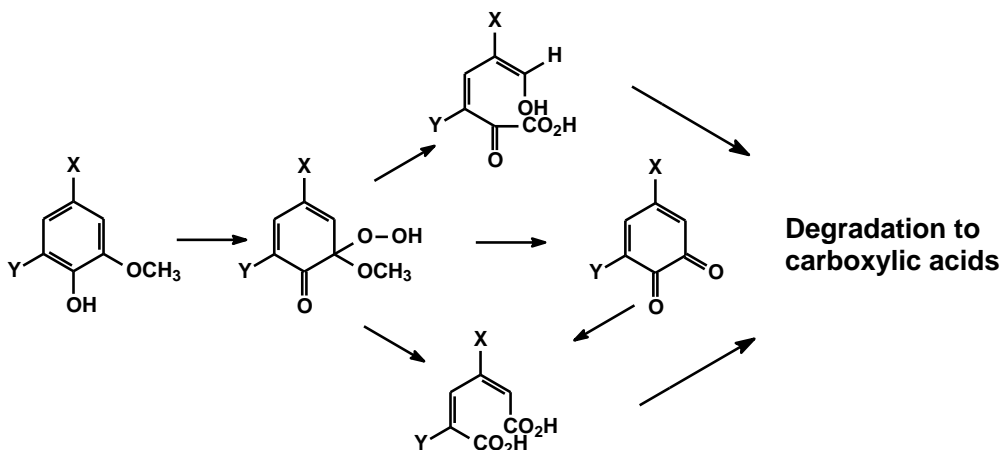


Fig.1-10 Cleavage reaction of an aromatic ring containing a phenolic hydroxyl group¹²⁾

これらの知見をまとめ、フェノール性芳香環の酸化生成物を図示すると、Fig.1-11 のようになる。Eckert ら、Gierer らの報告したこれらの分解生成物の生成に必要な酸素消費量を計算すると、フランカルボン酸型構造では 1.5 分子(6 電子分相当)、ムコン酸型構造では 1.0 分子(4 電子分相当)、*o*-キノン型構造では 0.5 分子(2 電子分相当)、そして、ビフェニル型構造では 0.25 分子(1 電子分相当)となる。すなわち、フェノール性単量体リグニンモデル化合物の酸素漂白処理による分解生成物を同定した結果、芳香環あたり最大で酸素分子 1.5 個消費されていることになる。

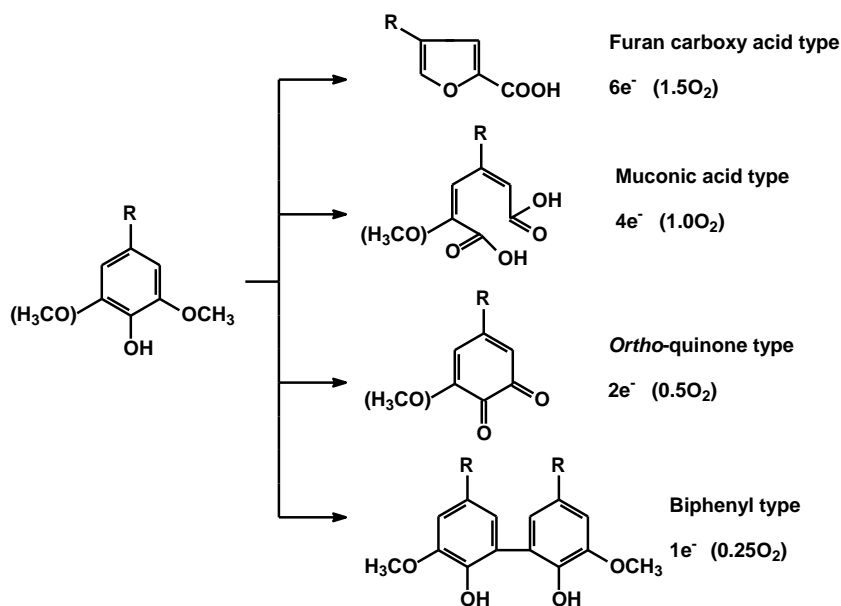


Fig.1-11 Reaction products in an oxygen alkaline treatment of a phenolic lignin model compound^{10,12,13,46,47)}

製紙工程における酸素漂白では、クラフトパルプ残存リグニンだけでなく、多糖類も分解されており、その結果、パルプの重合度低下が引き起こされている。酸素漂白処理はアルカリ性下で行われることが一般的である。そのため、多糖類の分解機構として、グリコシド結合を開裂させる、ピーリング反応(参考文献)、および、アルカリ加水分解反応(参考文献)等、が考えられる。これらの分解機構に加えて Yasumoto ら、Maekawa ら、Yokoyama らによって、酸素漂白条件下において、系中の pH が比較的高い条件では、フェノール性モデル化合物と分子状酸素との反応によって生成する AOS により、糖モデル化合物である、methyl β-D-glucopyranoside (MGP)が分解されること、すなわち、グリコシド結合以外の部分も分解される機構の存在が報告された^{32, 34, 41)}。

酸素漂白条件下で生成する機構が考えられ、比較的酸化力が高い AOS である ヒドロキシラジカル($\cdot\text{OH}$, pKa≒11.9)は、高 pH ではプロトンが解離し、オキシルアニオンラジカル($\cdot\text{O}^-$)の形で系中に存在していると考えられる。 $\cdot\text{OH}$ はリグニン中の芳香核部分を酸化するが^{23~27)}、 $\cdot\text{O}^-$ は負荷を帯びているため、芳香核のπ電子雲と反発するため、この部分を酸化し難いと考えられている⁴³⁾。上述した、反応系中の pH が比較的高い条件では、AOS に

よってMGPが分解されるという報告から、 $\cdot O$ そして負荷を帯びたAOSは単糖を分解すると考えられる。

酸素漂白処理条件下、特に $pH \geq 11.9$ の条件下において、フェノール性部位と分子状酸素との反応から生成するAOSが、糖のグリコシド結合以外を分解し得るということは、AOSがリグニン中の側鎖部分をも分解し得る、すなわち、リグニン中のフェノール性部位以外の部位も酸素を消費し得ると考えられる。

リグニンの酸素酸化機構の解明を目的としてモデル化合物を酸素漂白条件下で処理する場合、酸化分解の抑制が難しいことから、主要な反応生成物が得られにくいのが一般的である。上述したEckertら、Giererらのリグニンモデル化合物を用いた研究では、低温、長時間、共溶媒としてエタノールを添加、そして、低い酸素圧等、実際の酸素漂白と比較して非常に穏やかな条件下でリグニンモデル化合物と酸素を反応させて、その酸化分解生成物を得ている。主要な反応生成物が得られにくいという事実は、反応生成物によって反応機構を検討することが困難であることを示す。したがって、酸素とリグニンの反応機構を解明するためには、別のアプローチが必要であると考えられる。その試みの一つとして、以下に詳しく記すように、本研究室のTongおよびImaiは、リグニンの総体としての酸化反応の進行度を速度論的に検討した。

Tong¹⁴⁻¹⁶⁾は、酸素アルカリ処理中にリグニンがどの程度酸化されるのかについて、酸素漂白中のリグニンがどの程度酸化されて脱リグニンされるのか、という点を明らかにすることを目的として、間接的な方法を用いて検討した。この方法はFig.1-12に示すように、酸素酸化前後のリグニンの過マンガン酸カリウム消費量の相違が、酸素酸化中におけるリグニンの酸化の程度に対応するという仮定に基づいている。Tongは、クラフトパルプから単離した残存リグニン(未漂白針葉樹クラフトパルプから抽出, isolated residual lignin, IRL)を酸素アルカリ処理し、その前後での過マンガン酸カリウム消費量を調べた。その結果を、Fig.1-13に示す。

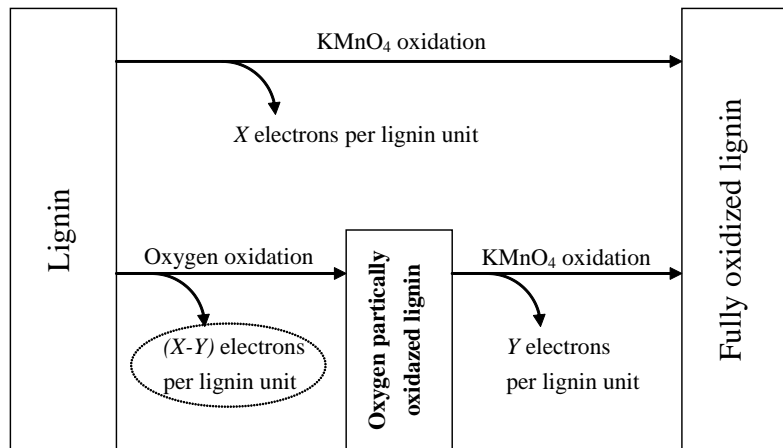


Fig.1-12 The method for the analysis of the extent of lignin oxidation applied by Tong *et al.*

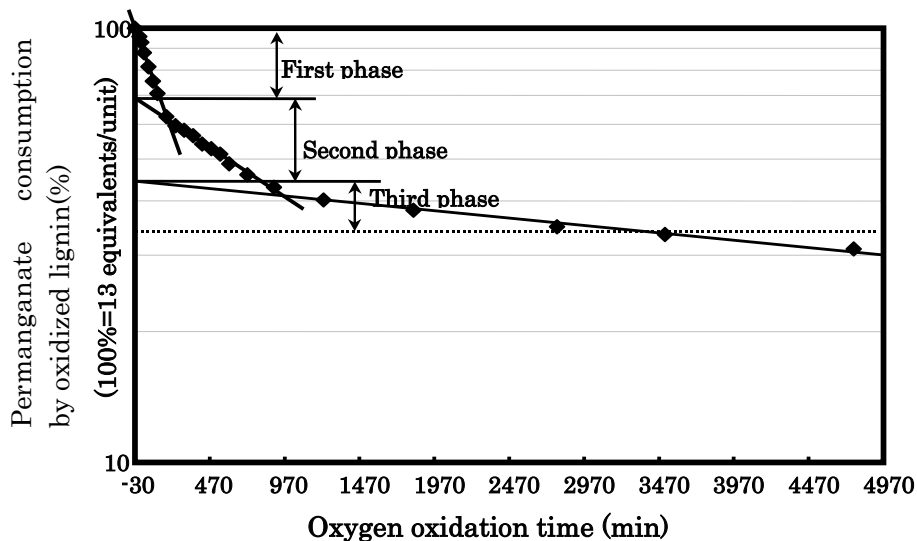


Fig.1-13 Logarithmic plot for the permanganate consumption by the oxygen oxidized lignin samples used by Tong *et al.*

IRL の 1 ユニットあたりの分子量を 200 と仮定すると、酸素アルカリ処理前の IRL の 1 ユニットあたりの過マンガン酸カリウム消費量は、13.9 電子相当量であった。IRL を酸素アルカリ処理すると、酸素アルカリ処理後の IRL の過マンガン酸カリウム消費量は、酸素アルカリ処理の程度に応じて徐々に減少し、最終的には 4.9 電子相当量でほぼ一定となった。Tong はこの差(9.0 電子相当量)が、酸素アルカリ処理において IRL が受けた酸化の程度を示すと考えた。これを酸素量に換算すると、IRL の 1 ユニットあたり 2.25 分子の酸素と反応したことになる(酸素 1 分子を 4 電子相当量と換算)。なお、この IRL にはフェノール性

だけでなく、多くの非フェノール性のユニットが存在することを付け加えておく、前述のように、フェノール性リグニンモデル化合物の分解生成物に基づく、芳香核 1 個あたり最大で 1.5 分子の酸素を消費すると計算されるため、この Tong の結果は、この値と比較するとかなり大きい。Tong が得た数値を前提にすると、酸素酸化に対して反応性に富むフェノール性ユニットだけでなく、モデル実験では酸素酸化に対して安定であることが示されている非フェノール性ユニットも、十分に酸化されたと考えるのが合理的である。

Imai は、リグニンモデル化合物やリグニン試料を酸素アルカリ処理したときに消費される酸素量を、酸素流量計を用いることによって直接測定した。Imai は、フェノール性水酸基を持つ単量体および二量体 β -O-4 型モデル化合物合計 4 種類、非フェノール性の単量体モデル化合物 1 種類、そして、未精製針葉樹クラフトリグニンを酸素アルカリ処理し、経時的に酸素流量を測定した^{17,18)}。その結果を、Fig.1-14 に示す。

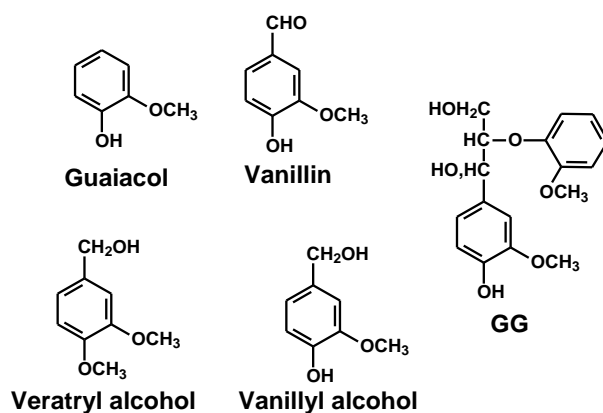
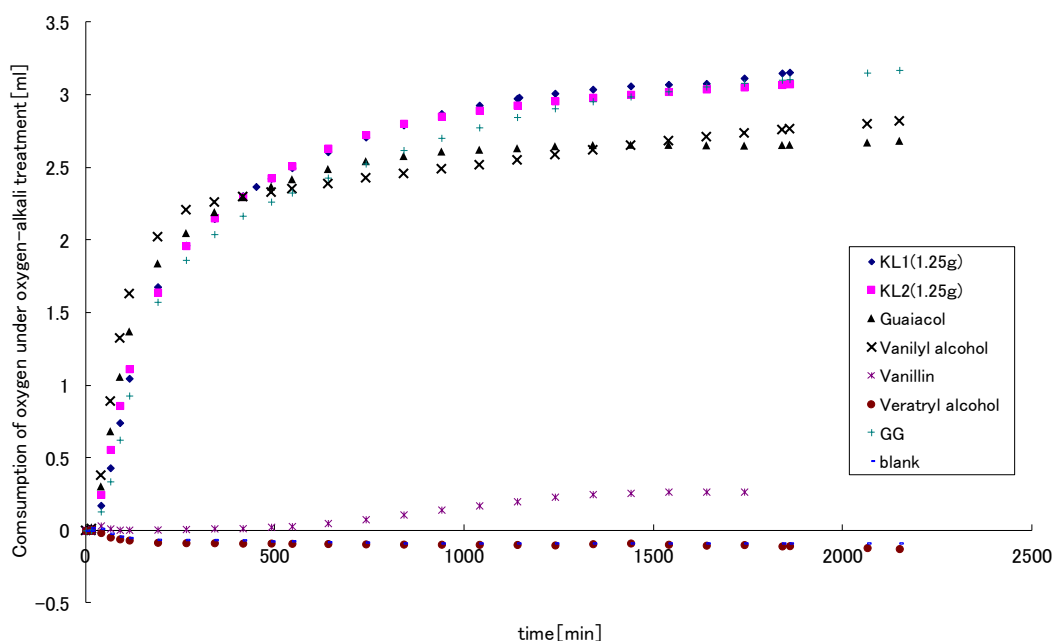
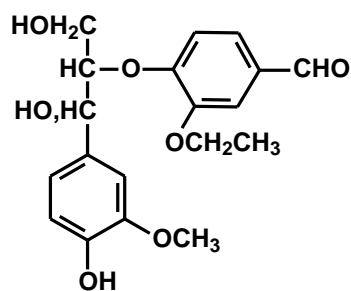


Fig.1-14 Oxygen consumption oxygen in the oxygen-alkali treatments of kraft lignin(KL) and lignin model compounds *GG : guaiacylglycerol- β -guaiacyl ether

Fig.1-14 からわかるように、長時間の酸素アルカリ処理により、クラフトリグニン は 1 ユニットあたり、つまり芳香核 1 個あたり 3 分子以上の酸素を消費した。この値は前述の、フェノール性モデル化合物の分解生成物の構造に基づいて計算した値である、酸素 0.25~1.5 分子よりもかなり大きいことから、Tong の結果と同様に、クラフトリグニン中のフェノール性部位だけでなく、酸素酸化に安定な非フェノール性部位にも、酸素酸化が進行することを示唆すると考えられた。また、一般的にフェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物として用いられる 2-(2-methoxyphenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol (guaiacylglycerol- β -guaiacol, GG, Fig.1-14)を用いた場合、1 芳香核あたり 3 分子以上の酸素を消費することが示され、フェノール性の A 環だけでなく非フェノール性の、B 環の酸化が十分に進行すること強く示唆された。非フェノール性芳香環の酸化反応としては、AOS が関与して直接的に環開裂に到ることも想定されるが、まずフェノール性芳香環へ変換されるとも考えられる。

非フェノール性のフェノール性芳香環への変換機構として、AOS による芳香環の水酸化による水酸基の導入、そして、エーテル結合の開裂による新たなフェノール性水酸基の生成が考えられた。AOS が関与する酸素漂白処理条件において、非フェノール性の veratryl alcohol(Fig.1-14)の酸化があまり進まない³²⁾ことから、非フェノール性のフェノール性ユニットへの変換は、ヒドロキシラジカル(\cdot OH)による芳香環の水酸化反応よりも、エーテル結合の開裂によって引き起こされると考えるのが合理的であろう。そして、リグニン中の主なエーテル結合は、アルキル-アリールエーテル結合であるが、この結合のうちの 1 つである芳香環のメトキシル基が水酸基に変換されるとは考え難い¹¹⁾。そこで、リグニンの側鎖部位が酸化されることによって、 β -O-4 結合のようなエーテル結合の開裂が引き起こされる可能性に注目する必要がある。

Imai ら¹⁹⁾は、この“非フェノール性ユニットの酸素酸化は、側鎖の酸化分解に伴うアリールエーテル結合の開裂によって、これがフェノール性に変換されるために引き起こされる”という可能性を検証するため、フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 2-(2-ethoxy-4-formylphenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol (guaiacylglycerol- β -ethylvanillin ether, GE, Fig.1-15)を合成し、酸素アルカリ処理に供した。フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物として一般的に用いられる GG では、B 環が側鎖の酸化分解に伴い 2-methoxyphenol (guaiacol, Fig.1-14)として遊離しても、guaiacol が酸素酸化を受けるため、その定量的な検出が不可能である。そこで Imai らは、酸素漂白条件下で安定な 3-ethoxy-4-hydroxybenzaldehyde (ethylvanillin)を B 環に持つ GE を用いた。しかし、GE をアルカリ性水溶液に溶解させた時点で B 環が遊離し、ethylvanillin が生成した。すなわち、アルカリの作用により容易に GE からエチルバニリンが遊離した。このため、“ β -O-4 型リグニンモデル化合物の側鎖の酸化分解に伴い β -O-4 結合が開裂し、B 環が遊離する”という現象を、この実験によっては検証できなかった。



2-(2-Ethoxy-4-formylphenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol

Guaiacylglycerol- β -ethylvanillin ether, GE

Fig.1-15 Structure of the dimeric phenolic β -O-4 type model compound used by Imai et al. for confirming the β -O-4 bond cleavage during oxygen-alkali treatment

1-4 本研究の目的

前述のように、Tong および Imai によって、“酸素アルカリ処理においては、リグニン中の β -O-4 結合などを構成する非フェノール性部位は、その側鎖の酸化分解に伴いアリアルエーテル結合が開裂した結果として、フェノール性部位に変換される。このため、元のリグニン中では非フェノール性であった部位の分子状酸素による酸化反応が進行する。”という可能性が示唆された。

本研究ではこの可能性を検証すること、すなわち、酸素漂白条件において β -O-4 結合が開裂し新たなフェノール性部位が生成するかどうかについて検討することを、目的とした。そしてさらに、この β -O-4 結合開裂機構の検討も目的とした。

第 2 章

本研究における実験方法

2-1 緒言

1-4 で記述したように、本研究における第一の目的は、リグニンの非フェノール性部位に対する酸素酸化の進行が、リグニンのフェノール性部位と分子状酸素との反応で生成する活性酸素種(AOS)がアリールエーテル結合を持つリグニンの非フェノール性部位を攻撃し、その結果としてアリールエーテル結合が開裂して新たなフェノール性芳香核が遊離する現象によって引き起こされるのかどうか、について検討することである。

そこで、パルプの酸素漂白過程と類似の条件下で数種類の β -O-4 型リグニンモデル化合物を酸素アルカリ処理し、これらのモデル化合物の消失、およびこれらの β -O-4 結合が開裂することで遊離する B 環由来のフェノール性化合物の定量を試みた。なお、 β -O-4 結合が開裂しない反応によってもモデル化合物は消失し得るため、モデル化合物の消失に対して定量的に B 環由来のフェノール性化合物が生成するとは限らない事を記述しておく。

2-2 本研究で使用する酸素アルカリ処理

本研究では、リグニンモデル化合物に対して、実際の製紙工程で用いられている酸素漂白処理に類似させた条件下で、酸素アルカリ処理を行う。本章では、本研究で行う酸素アルカリ処理の特徴等について、記述する。

製紙工程で用いられている酸素漂白処理条件は、製紙工場ごとに条件が異なる、製品の性質によって様々な条件をとり得る、酸素漂白処理を行う装置が巨大であり装置部位によって反応条件が異なる、等の理由から一様な条件を決めることができない。そのため、本研究では、酸素漂白処理条件と比較して、同程度であり反応系全体が均一な温度、高い酸素圧、初期アルカリ濃度が一定であり、そして系中の金属イオンの影響を Fe イオンのみ起因できる条件である、酸素アルカリ処理を用いた。

2-2-1 活性酸素種(Active Oxygen Species, AOS)によるリグニンモデル化合物の分解

1-1-2 に記述したように、酸素漂白および酸素アルカリ処理におけるリグニンの酸化反応においては、分子状酸素とフェノール性部位、または、糖の還元末端との反応¹⁰⁾から生成する活性酸素種 (AOS)が、大きく関わっている。分子状酸素がこれらの部位を 1 電子酸化する (1 電子還元される)ことによるスーパーオキシドアニオンラジカル($\cdot\text{O}_2^-$)の生成が初発反応であるが、分子状酸素は最大で 4 電子分の酸化が可能である(Fig.2-1)。Fig.2-1 に示すように、分子状酸素が還元されると、AOS としてスーパーオキシドアニオンラジカル($\cdot\text{O}_2^-$)とその共役酸(ヒドロペルオキシラジカル、 $\text{pK}_a \approx 4.9$ 、 $\cdot\text{OOH}$)、そして、オキシルアニオンラジカル($\cdot\text{O}^-$)とその共役酸(ヒドロキシラジカル、 $\text{pK}_a \approx 11.9$ 、 $\cdot\text{OH}$)が発生する²⁰⁻²²⁾。Ek ら、Gierer らは、ヒドロキシラジカルの様々なリグニンモデル化合物に対する反応性を検討し、これがリグニンモデル化合物を酸化分解することを報告した²³⁻²⁷⁾。

しかし、Ek ら、Gierer らの研究では、実際の酸素漂白条件とはかなり異なった条件を用いているため、彼らの報告をそのまま酸素漂白条件下に対して適用することはできないと考えられる。

2-2-2 酸素アルカリ処理における AOS 生成

実際の製紙工程で用いられる酸素漂白条件下において、フェノレートアニオンと分子状酸素との反応(Fig.2-2 上段)、または、多糖類の還元末端のエノーレートアニオンと分子状酸素との反応(Fig.2-2 中段)が初発反応である。本研究では、可能な限り酸素漂白処理過程に近い条件を再現するために、酸素アルカリ処理における初発反応として、フェノキシド基と分子状酸素との反応を用いた。酸素アルカリ処理するリグニンモデル化合物の A 環がフェノール性である場合、この A 環が分子状酸素と反応することによって系中に、 $\cdot\text{O}_2^-$ およびフェノキシラジカルが生成する。加えて、 $\cdot\text{O}_2^-$ によって過酸化部位が生成した場合、これと金属イオンが反応し、 $\cdot\text{OH}$ または $\cdot\text{O}^-$ 等の AOS が系中に生成する(Fig.2-3 下段)。しかし、A 環が非フェノール性のリグニンモデル化合物の酸素アルカリ処理では、この反応による AOS の生成が期待できないため、系中にフェノール性化合物を添加した。

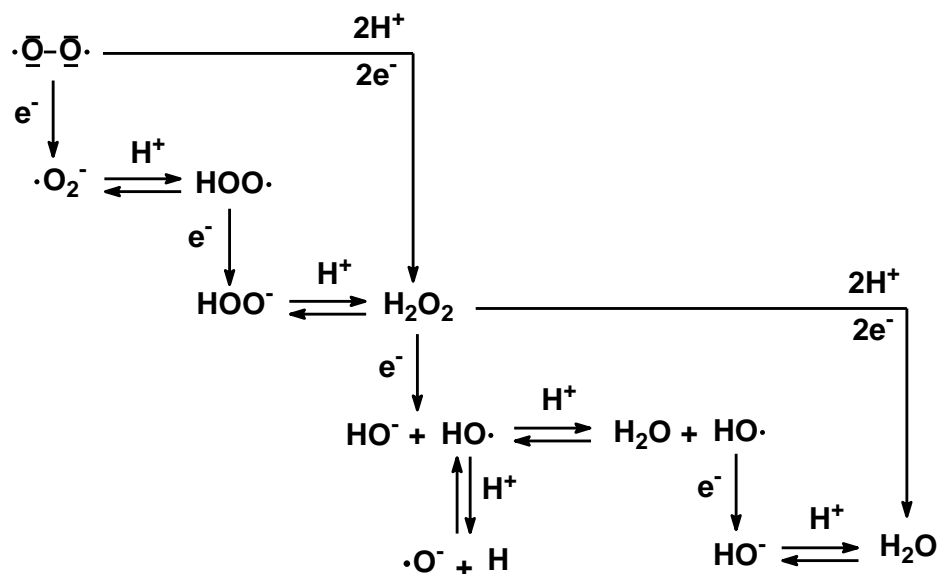


Fig.2-1 Four steps of one-electron transfer and two steps of two-electron transfer stepwise reduction of oxygen molecule

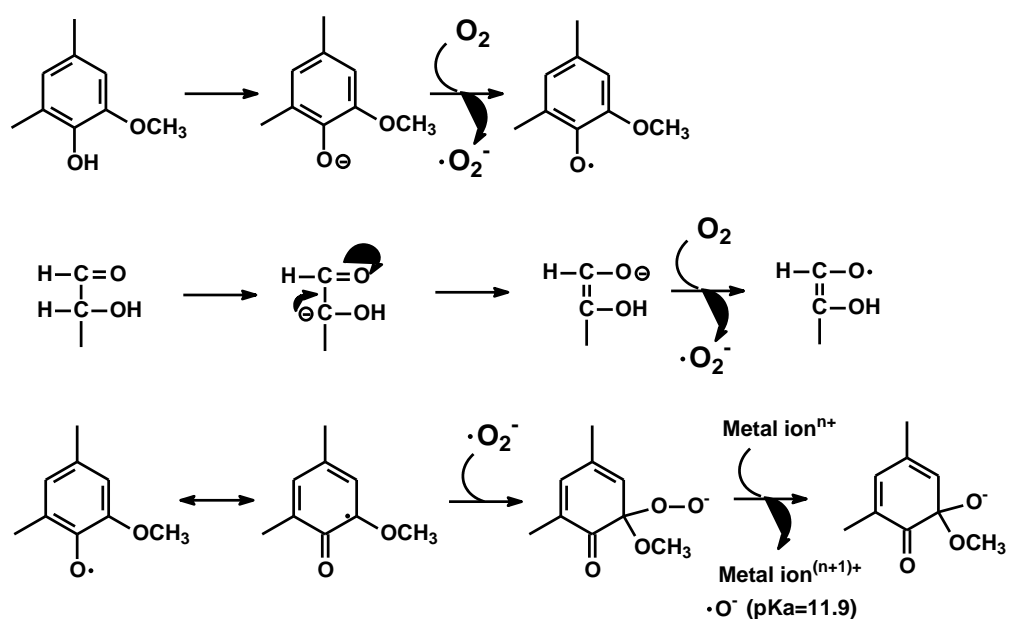


Fig.2-2 Initial reactions between phenolic lignin and oxygen and between reducing end group of carbohydrates and oxygen in oxygen bleaching process. And secondary reaction between phenoxyl radical and transition metal in oxygen bleaching process.

2-2-3 酸素アルカリ処理における遷移金属イオンの影響

上述の酸素漂白過程における初発反応に続いて、リグニン中に過酸化物が生成すると、これが遷移金属の触媒によって分解することによって、系中に AOS が生成すると考えられている。

Ericsson ら²⁸⁾は、酸素漂白処理に類似させた条件下で cotton linter をリグニンサンプルと共に処理した場合に、系中に、鉄、銅、コバルト等の遷移金属イオンが存在することによって、cotton linter の重合度低下が促進されることを報告した。彼らはこの結果を、分子状酸素による多糖類およびリグニンの分解により生成した過酸化物が、Haber らが示した反応機構⁴⁸⁾に従って分解することによって、AOS が生成していたことに起因すると考えた。樹木中、そして、酸素漂白に供されるパルプ懸濁液中には、鉄イオンを始め、銅イオン、コバルトイオン、マンガンイオン等が含まれており^{29,30,49)}、実際の酸素漂白処理においても、Ericsson らによって考えられた金属イオンの影響による AOS の生成は、十分に起こり得ると考えられる。酸素漂白条件下における遷移金属イオンは、系中にごく微量に存在するだけであってもその作用を示し³¹⁾、また、遷移金属イオンの存在量だけでなく金属イオンの存在比、が重要であること³²⁾も示されているため、酸素漂白条件下における AOS の生成挙動を検討するためには、金属イオンの影響を十分に考慮する必要があると考えられる。

本研究においては、金属イオンの影響を可能な限り排除するために、反応装置、反応に使用するプラスチックおよびガラス器具の洗浄、そして、実験に使用する反応溶液に、オルガノ製超純水製造装置(ピューリック Z)で製造した超純水を使用した。しかし、超純水を使用したとしても、系中に微量に存在し得る金属イオンの影響を受ける可能性があり、金属イオンの影響を完全に排除して酸素アルカリ処理を行うことが非常に困難であると考えられた。このため、酸素アルカリ処理に使用する反応溶液を調製する際に、可能な限り金属イオンを取り除いたうえで、反応溶液を 20ppm Fe³⁺溶液とすることで、酸素アルカリ処理における金属イオンの影響を鉄イオンの影響のみに限定できると仮定して、実験を行った。

2-2-4 酸素アルカリ処理における温度の影響

実際の製紙工場では、100 °C~130 °C の反応温度でクラフトパルプに酸素漂白処理が行われている³³⁾。本研究における酸素アルカリ処理では、95 °C で処理を行った。

2-2-5 酸素アルカリ処理におけるアルカリ濃度の影響

1-1-2 において記述したように、製紙工場における酸素漂白処理は、強いアルカリ性条件下で行われる。また、酸素漂白に用いられる反応溶液の pH が低下すると、フェノール性水酸基の解離が抑制され、脱リグニン速度が著しく低下する⁵⁰⁾。Yokoyama らは、酸素アルカリ処理において、初期 pH が高くないと、反応中に pH が低下することを報告した³²⁾。そのため、一定な条件を保持するためには、酸素アルカリ処理において十分なアルカリ濃度が必要だと考えられる。本研究では、反応溶液を 0.5 mol/l 水酸化ナトリウム溶液(pH≒13.5)とした。2-2-2 に記述したように、酸素アルカリ処理中では、AOS として・O が生成し

得る。この共役酸である $\cdot\text{OH}$ ($\text{pK}_a \approx 11.9$)は、非フェノール性芳香環を分解し得る AOS である^{24-27,32)}ため、本実験では、反応溶液の pH を約 13.5 とすることで、系中に生成するであろう $\cdot\text{O}^{\cdot}$ の、 $\cdot\text{OH}$ への変換を妨げている。

2-2-6 酸素アルカリ処理におけるリグニンモデル化合物の分解要因

本研究における酸素アルカリ処理では、以下の要因によってリグニンモデル化合物が分解されると考えられる。すなわち、

①酸化反応の関与しないアルカリのみの作用による分解

②分子状酸素が直接関与する酸化分解

③分子状酸素とフェノール性化合物等との反応から発生する AOS による酸化分解

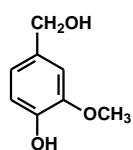
これら 3 種類の機構による $\beta\text{-O-4}$ 型リグニンモデル化合物の分解について検討を行うために、リグニンモデル化合物に対して、窒素アルカリ処理、酸素アルカリ処理、および AOS 発生源となるフェノール性化合物 4-hydroxy-3-methoxybenzyl alcohol(vanillyl alcohol, VA, Fig.2-3)を添加した酸素アルカリ処理を行った。

窒素アルカリ処理においては、上記の、①の機構でのみ $\beta\text{-O-4}$ 型リグニンモデル化合物の分解が起きるため、この機構について検討できる。酸素アルカリ処理においては、上記の①および②の機構で $\beta\text{-O-4}$ 型リグニンモデル化合物の分解が起きるため、窒素アルカリ処理結果との比較により、②の機構が検討できると考えられる。なお、分子状酸素がリグニンモデル化合物を直接酸化分解すると分解生成物が生じるが、この過程において、あるいは、この分解生成物がさらに分子状酸素と反応する場合にはその過程において、AOS が生成し得るが、この場合には、③の機構によってもリグニンモデル化合物が分解される可能性がある。そして、VA を添加した酸素アルカリ処理においては、①、②、および③の機構で $\beta\text{-O-4}$ 型リグニンモデル化合物の分解が起きるため、VA を添加しない酸素アルカリ処理の結果との比較により、③の機構が検討できると考えられる。この処理においては、添加する VA の濃度を調製することにより、 $\beta\text{-O-4}$ 型リグニンモデル化合物の AOS 生成量に対する分解挙動を検討した。

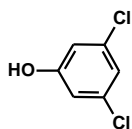
また、これ以降本論文中では、「反応開始時の VA 濃度が $x \text{ mmol/l}$ になるように VA を系中に添加した酸素アルカリ処理」を $\text{VA} * x$ 酸素アルカリ処理と記述する。例えば、 $\text{VA} * 1$ 酸素アルカリ処理は、「反応開始時の VA 濃度が 1 mmol/l になるように VA を系中に添加した酸素アルカリ処理」を示す。

2-3 本研究で酸素アルカリ処理に用いるリグニンモデル化合物

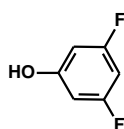
Fig.2-3 に本論文で出発物質として用いる化合物の構造を示す。各モデル化合物に関する説明は、それらモデル化合物を酸素アルカリ処理する章において行う。



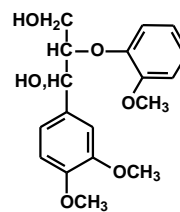
4-Hydroxy-3-methoxybenzyl alcohol
(Vanillyl alcohol, VA)



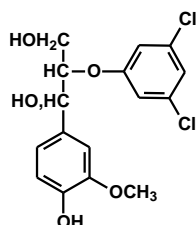
3,5-Dichlorophenol
(DCPh)



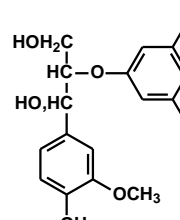
3,5-Difluorophenol
(DFPh)



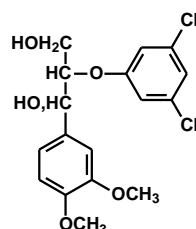
2-(2-Methoxyphenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol
(Veratrylglycerol-β-guaiacyl ether, VG)



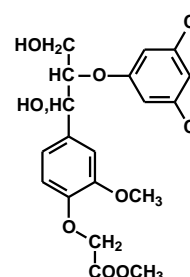
2-(3,5-Dichlorophenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol
(Guaiacylglycerol-β-dichlorophenyl ether, GDC)



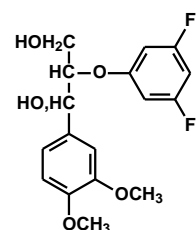
2-(3,5-Difluorophenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol
(Guaiacylglycerol-β-difluorophenyl ether, GDF)



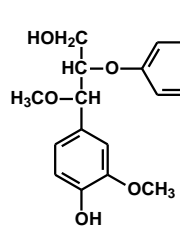
2-(3,5-Dichlorophenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol
(Veratrylglycerol-β-dichlorophenyl ether, VDC)



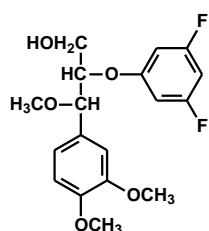
Methyl [4-(2-(3,5-dichlorophenoxy)-1,3-dihydroxypropyl)-2-methoxyphenoxy]acetate
(Carboxymethylated GDC, CMGDC)



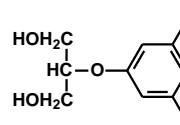
2-(3,5-Difluorophenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol
(Veratrylglycerol-β-difluorophenyl ether, VDF)



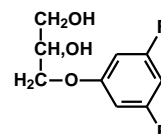
2-(3,5-Difluorophenoxy)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-methoxypropan-1-ol
(α-Methylated guaiacylglycerol-β-difluorophenyl ether, α-OMe-GDF)



2-(3,5-Difluorophenoxy)-3-methoxy-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1-ol
(α-Methylated veratrylglycerol-β-difluorophenyl ether, α-OMe-VDF)



2-(3,5-Difluorophenoxy)propane-1,3-diol
(Propane-1,3-diol-difluorophenyl ether, PDF)



3-(3,5-Difluorophenoxy)propane-1,2-diol
(Propane-1,2-diol-difluorophenyl ether, PDF-2)

Fig.2-3 Structures of model compounds used in this thesis

第 3 章

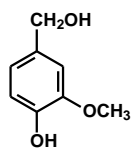
活性酸素種の攻撃に基づく β -O-4 結合開裂に伴う
非フェノール性芳香核の遊離フェノールへの変換
に関する検討

3-1 緒言

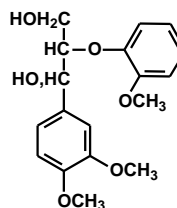
この章では、Tong および Imai らの示唆した“リグニンの酸素アルカリ処理において、その側鎖の酸化分解に伴い β -O-4 結合が開裂し、非フェノール性ユニットがフェノール性ユニットに変換されるため、元々非フェノール性であったユニットの酸素酸化が十分に進行する。”という可能性を検討することを目的とし、まず、初めに最も一般的な非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物である 2-(2-methoxyphenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol (veratrylglycerol- β -guaiacyl ether, VG, Fig.3-1)をフェノール性化合物である 4-hydroxy-3-methoxybenzyl alcohol (vanillyl alcohol, VA, Fig.3-1)と共に酸素アルカリ処理し、VA と酸素との反応で生成する AOS による、VG の分解を検討した。

次に、後述するが、酸素アルカリ処理中において検出するに十分な安定性を持つ、3,5-dichlorophenol (DCPh, Fig.3-1)および 3,5-difluorophenol (DFPh, Fig.3-1)を、B 環として持つフェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 2-(3,5-dichlorophenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol (guaiacylglycerol- β -dichlorophenyl ether, GDC, Fig.3-1)および 2-(3,5-difluorophenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol (guaiacylglycerol- β -difluorophenyl ether, GDF, Fig.3-1)の酸素アルカリ処理を行い、GDC および GDF の分解とこれに伴う DCPh および DFPh の生成を分析することによって、 β -O-4 結合の開裂を検討した。

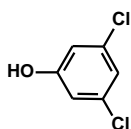
そしてさらに非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol (veratrylglycerol- β -dichlorophenyl ether, VDC, Fig.3-1)を、有機溶媒を共存させた系で、methyl [4-[2-(3,5-dichlorophenoxy)-1,3-dihydroxypropyl]-2-methoxy]phenoxyacetate (carboxymethylated GDC, CMGDC, Fig.3-1)および 2-(3,5-difluorophenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol (veratrylglycerol- β -difluorophenyl ether, VDF, Fig.3-1)を、有機溶媒を共存させない系で、それぞれ酸素アルカリ処理し、これらの分解と分解に伴う DCPh および DFPh の生成を分析することによって、 β -O-4 結合の開裂について、を検討した。



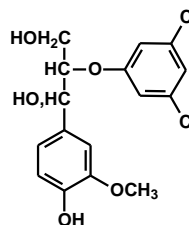
4-Hydroxy-3-methoxybenzyl alcohol
(Vanillyl alcohol, VA)



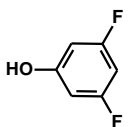
2-(2-Methoxyphenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol
(Veratrylglycerol- β -guaiacyl ether, VG)



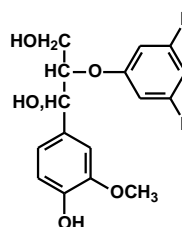
3,5-Dichlorophenol
(DCPh)



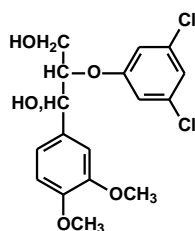
2-(3,5-Dichlorophenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol
(Guaiacylglycerol- β -dichlorophenyl ether, GDC)



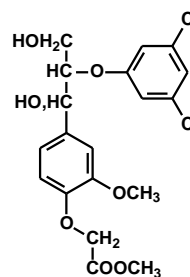
3,5-Difluorophenol
(DFPh)



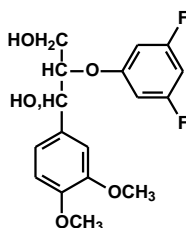
2-(3,5-Difluorophenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol
(Guaiacylglycerol- β -difluorophenyl ether, GDF)



2-(3,5-Dichlorophenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol
(Veratrylglycerol- β -dichlorophenyl ether, GDC)



Methyl [4-{2-(3,5-dichlorophenoxy)-1,3-dihydroxypropyl}-2-methoxyphenoxy]acetate
(Carboxymethylated GDC, CMGDC)



2-(3,5-Difluorophenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol
(Veratrylglycerol- β -difluorophenyl ether, VDF)

Fig.3-1 Structures of model compounds used in this chapter

3-2 様々な β -O-4型リグニンモデル化合物の酸素アルカリ処理における β -O-4結合開裂の検討

3-2-1 最も一般的な非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物 2-(2-methoxyphenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol (veratrylglycerol- β -guaiacyl ether, VG)の酸素アルカリ処理における β -O-4結合開裂の検討

3-2-1-1 目的

1-4に記述したように、Tong および Imai らの示唆した“リグニンの酸素アルカリ処理において、その側鎖の酸化分解に伴い β -O-4結合が開裂し、非フェノール性ユニットがフェノール性ユニットに変換されるため、元々非フェノール性であったユニットの酸素酸化が十分に進行する”という可能性を検討するために、本項では他のモデル化合物に先だて、非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物として最も一般的に用いられる2-(2-methoxyphenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol (veratrylglycerol- β -guaiacyl ether, VG, Fig.3-2)を使用した。

2-1にも記述したように、酸素漂白におけるリグニンの非フェノール性部位の分解は、分子状酸素と解離したフェノール性部位との反応で発生する活性酸素種(AOS)の攻撃に起因する、と考えられている。このため、分子状酸素との反応によって AOS の生成源となるフェノール性化合物 4-hydroxy-3-methoxybenzyl alcohol (vanillyl alcohol, VA, Fig.3-2)を系中に添加し、酸素アルカリ処理を行った。これによって、VGの分解に伴ってこの β -O-4結合が開裂し、非フェノール性のB環がフェノール性化合物である2-methoxyphenol (guaiacol, Fig.3-2)として遊離する可能性を検討できると考え、VGの分解挙動、並びに、元々B環であったguaiacolの生成挙動を検討した。

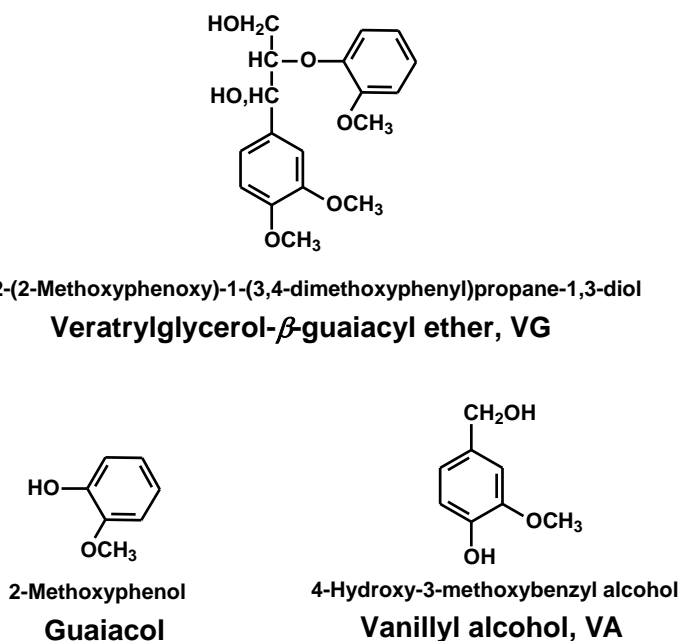


Fig.3-2 Structure of the model compounds used in this section

3-2-1-2 実験

VG の合成方法を、Fig.3-3 に示す。

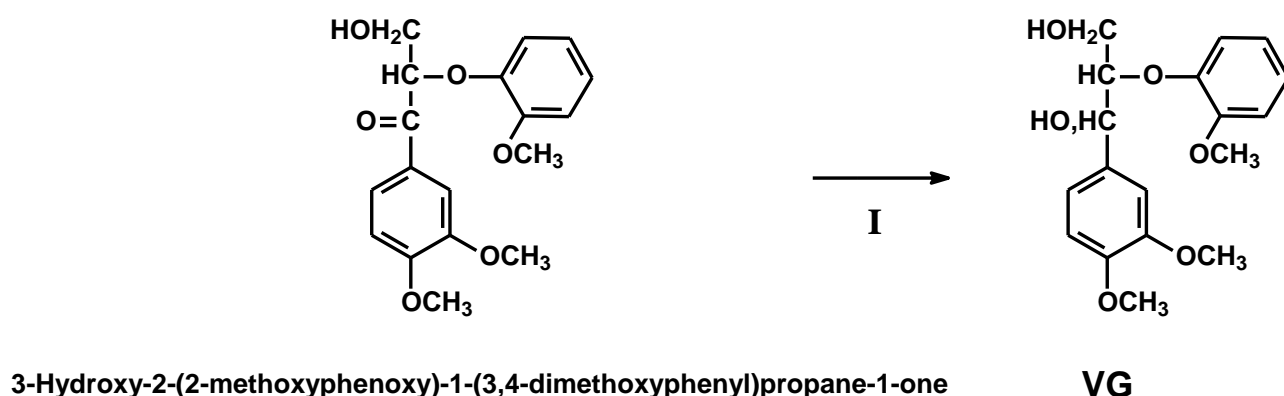


Fig.3-3 Synthetic route of VG

I α -位カルボニル基のヒドリド還元

当研究室の学生から頂いた 3-hydroxy-2-(2-methoxyphenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1-one (A) 1.03 g (3.01 mmol)を 300 ml 容ガラス製ナスフラスコ中でエタノール 100 ml に溶解し、これに NaBH_4 150 mg 加え、室温で 1 晩攪拌しながら反応させた。反応終了後、酢酸を加えて残存する NaBH_4 を分解し、これにイオン交換水を加えた後、酢酸エチル 100 ml で 3 回抽出した。酢酸エチル層を合わせてこれを水で 3 回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。酢酸エチル層を自然ろ過の後、濃縮して VG と思われる化合物を主要構成物とするシロップ 1.02 g を得た。このシロップの主成分が VG であることを HPLC で確認した後、これを分取用薄層クロマトグラフィーで分取して、VG 約 700 mg (2.10 mmol)を得た。収率は、69.8 %であった。

酸素アルカリ処理

上記の方法で合成した VG を酸素アルカリ処理した。

反応装置

酸素ボンベと直結でき、内部がテフロンコーティングされたオートクレーブを用いた (Fig.3-4)。反応によって反応系中の酸素が消費されても酸素圧を一定に保つことができる。反応に先立って、イオン交換水、超純水の順でよく洗浄し乾燥させた。

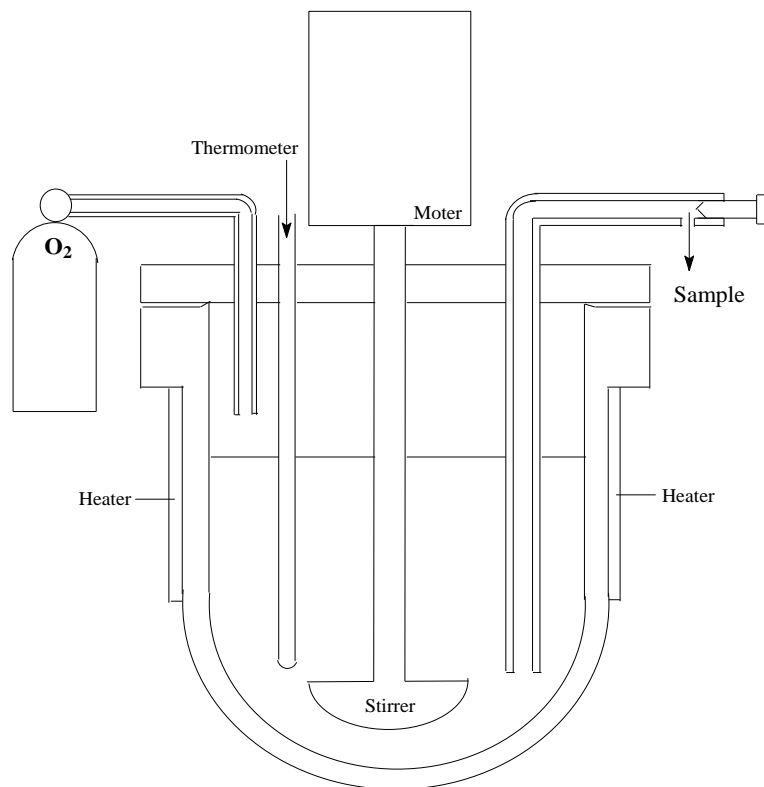


Fig.3-4 Reaction vessel used in this thesis

試薬の調製

10 mol/l NaOH 水溶液の調製

Aldrich 製の 99.99+ % NaOH 120 g を 500 ml 容プラスチック製ビーカーにとり、超純水 200 ml 程度に溶解した。これを 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、超純水でメスアップして 10 mol/l NaOH 水溶液 300 ml を得た。

18 mmol/l FeCl₃ 水溶液

Aldrich 製の 99.99+ % 無水 FeCl₃ 873.9 mg を 50 ml 容ガラス製ビーカーにとり、精密分析用 HCl 2.94 g に溶解した。これを 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、超純水でメスアップして 300 ml にして 18 mmol/l FeCl₃ 溶液(Fe³⁺として 1000 ppm)を得た。

反応溶液

反応溶液の調製に使用する器具は、あらかじめイオン交換水、超純水の順でよく洗浄し乾燥させた。

この実験では 3 種類の反応溶液を調製し反応に用いた。その調製を以下に示す。

No.1 VG 102 mg を 250 ml 容キャップ付きポリプロピレン製ボトルにとり、これに超純水 200 ml を加え、60 °C の水浴中で 4 時間置き VG をすべて超純水中に溶解させた。この溶液を 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、および、

18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml を入れ、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、VG 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、そして、FeCl₃ 0.36 mmol/l の反応溶液を得た。

No.2 VG102 mg を 250 ml 容キャップ付きポリプロピレン製ボトルにとり、これに超純水 200 ml を加え、60 °C の水浴中で 4 時間置き VG をすべて超純水中に溶解させた。この溶液を 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、および、VA 45.2 mg を入れ、VA をすべて溶解させた後、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、VG 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、そして、VA 1.0 mmol/l の反応溶液を得た。

No.3 VG 102 mg を 250 ml 容キャップ付きポリプロピレン製ボトルにとり、これに超純水 200 ml を加え、60 °C の水浴中で 4 時間置き VG をすべて超純水中に溶解させた。この溶液を 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、および、VA 452 mg を入れ、VA をすべて溶解させた後、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、VG 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、そして、VA 10 mmol/l の反応溶液を得た。

No.1 の溶液を 2 回調製し、「窒素アルカリ処理」および「酸素アルカリ処理」にそれぞれ用い、No.2 の反応溶液は「VA*1 酸素アルカリ処理」に、そして No.3 の反応溶液は「VA*10 酸素アルカリ処理」に用いた。

反応

反応溶液をオートクレーブに移した後、オートクレーブ内の空気を酸素で 3 回置換してから酸素圧をゲージ圧で 1.1 MPa とし、攪拌しながら 1 回目のサンプリングを行った。その後昇温を開始し、目標温度は 95 °C であるが 92.5 °C になった時点を反応時間 0 分としてサンプリングを行った(約 9 分後)。その後、一定時間ごとにサンプリングを行った。サンプリングでは、酸素圧が下がらないように注意しながら、溶液を採取した。なお、温度は反応時間 10 分程度で 95 °C に到達した。

サンプリングの際には、管部分にある初流約 2 ml は捨て、さらに約 2 ml 程度を 10 ml 容メスシリンダーに採取して直ちに冷却し、そこからホールピペットで正確に 1 ml を 3 ml 容ガラス製サンプル管にとり、酢酸 0.1 g を加えて pH≒5 に調整した。そこに 2.0 mmol/l 2,6-dichlorophenol メタノール内部標準溶液を 1 ml 加えた。2 μm メッシュのフィルターでろ過した後、HPLC に直接インジェクトして分析を行った。また窒素アルカリ処理においては、調製した 300 ml の反応溶液に対してオートクレーブに移す前に窒素ガスを 30 分程度、溶液中に吹き込んでおき、溶液中の溶存酸素を可能な限り除去したうえで、酸素の代わりに窒素を使用した。

分析

島津製高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を以下のような条件に設定し、分析を行った。

HPLC 測定条件

カラム：Luna 5u C18(2) 100A (phenomenex 製、長さ 150 mm)

移動層：水：メタノール (90:10—10 min —90:10—20 min—20:80—3 min—20:80)

流速：1.0 ml/min 分析時間：33 分

検出器：PDA 検出波長：254 nm

3-2-1-3 結果と考察

VG および VA の分解挙動を Fig.3-5 に、VG の分解に伴って遊離した guaiacol の生成挙動を Fig.3-6 に、それぞれ示す。

アルカリの作用による VG の分解、および、その β -O-4 結合開裂に伴う guaiacol 生成を検討するために行った窒素アルカリ処理では、VG の大幅な分解は確認されなかった。しかし、VG の B 環由来の生成物である guaiacol は反応期間を通して徐々に生成し、360 min の時点で 2.4 % (対初期量 VG)が確認された。この結果から、VG は 95 °C、0.5 mol/l アルカリ性水溶液中ではアルカリの作用によって若干分解され、 β -O-4 結合の開裂が引き起こされることが明らかになった。

分子状酸素の攻撃に起因する VG の分解を検討するために行った VA を添加しない酸素アルカリ処理においても、反応時間 360 min の時点で VG がほぼ 100 % 残存していることから、この反応条件下では、VG は分子状酸素によってはほとんど分解されないことが示された。しかし、窒素アルカリ処理と異なり B 環である guaiacol の蓄積が確認できなかった。酸素アルカリ処理によっても窒素アルカリ処理と同様に、アルカリの作用によって VG が若干量分解され guaiacol が生成したはずであるが、guaiacol は本実験条件下では分子状酸素によって分解される¹¹⁾ため、検出されなかったと考えられる。Guaiacol が分子状酸素に分解されれば、この反応によって AOS が系中に発生³⁴⁾し、この AOS が VG を分解する可能性が考えられるが、本処理では VG はほとんど分解されなかった。

AOS 発生源となる VA を酸素アルカリ処理中に添加すると VG の明確な分解が観測され、360 min の間に 10~20 % が分解された。一方、反応の初期段階では guaiacol の生成が確認されたが、反応時間が進むにつれて検出量が減少した。これは上述したように、guaiacol の分子状酸素による分解に起因すると考えられる。なお VA を VG の 10 倍量添加した場合には、反応時間 20 min において、VG の 8~9 % の分解に対して約 4 % (対 VG の初期量)の guaiacol が、すなわち、消失した VG に対して半分弱程度の guaiacol が検出された。

前述のように、guaiacol は VG の β -O-4 結合が開裂することで生成する。したがって上記の結果は、VG の非フェノール性部位である B 環が、フェノール性の guaiacol に変換されることが示されたが、これは Tong、Imai の示唆した“リグニンの酸素アルカリ処理において、その側鎖の酸化分解に伴い β -O-4 結合が開裂し、非フェノール性ユニットがフェノール性ユニットに変換されるため、元々非フェノール性であったユニットの酸素酸化が十分に進行する”という可能性を支持する。しかし、guaiacol の生成量が VG の分解量に対してかなり少なく、またその蓄積も確認できなかったため、本検討では上記の可能性を支持するに留まり、定量的知見等を得ることはできなかった。

VA を添加した酸素アルカリ処理における VG の分解は、-9 min~60 min で顕著に起こっており、これ以降ではかなり穏やかであった。Fig.3-5 に示すように、VA*1 酸素アルカリ処理においては 45 min 頃、VA*10 酸素アルカリ処理においては 60 min 頃に、それぞれ VA が全て消失した。VA が残存する間に発生する AOS は、VA と分子状酸素との反応から発

生する類の化学種が主要をなし、VA が消失してから生成する AOS は、VA と酸素との反応によって生成するのではなく、分解生成物と酸素との反応によって生成するものか、あるいは、連鎖反応による VG の自動酸化の過程で生じる VG 過酸化ラジカルのような化学種であると推測される。VA が残存する期間と消失してからの期間における VG の分解挙動の相違は、このように反応に関与する AOS の種類や量が異なっているためと考えられる。

VA を添加した酸素アルカリ処理では、VA の添加量が VG の 10 倍であっても、これが VG と同量の場合と比較して、VG 残存量および guaiacol 生成量の間には若干の差が見られる程度(Fig.3-5, Fig.3-6)であった。AOS 発生源である VA の添加量を増加させると、AOS 生成量は増加すると考えられるが、一般的に VA を含めたフェノール性化合物は AOS の補足剤として働くため³⁵⁻³⁷⁾、VA を多く添加して、多くの AOS が発生したとしても、VG の酸化分解に実際に寄与した量がそれ程多くなかったのかも知れない。また、AOS の生成量が増大すると、AOS 同士によるラジカル停止反応の頻度が増加する事も、考えられる。本実験では、VA と分子状酸素との反応によって AOS が生成させている。

速度論の話をする。

以上のように、VG は 95 °C、0.5 mol/l NaOH の条件下では、アルカリの作用による一般的な隣接基関与による β -O-4 結合の開裂反応に抵抗性を持つこと、そして既に知られているように、分子状酸素によってはほとんど分解されないことが示された。一方、VG は VA と分子状酸素との反応から発生する AOS によって分解され、その結果として β -O-4 結合が開裂して B 環が guaiacol として遊離すること、すなわち、非フェノール性の B 環が遊離してフェノール性化合物に変換されることが示された。しかし、生成した guaiacol が分子状酸素によって分解されるため guaiacol 生成量に基づいて β -O-4 結合の開裂を定量的に検討することはできなかった。

β -O-4 型のリグニンモデル化合物の酸素アルカリ処理において、AOS の攻撃に起因する β -O-4 結合の開裂を定量的に検討するためには、B 環が系中にフェノール性化合物として遊離した際にこれが酸素アルカリ処理中に十分な安定性を持つ事が必要である。

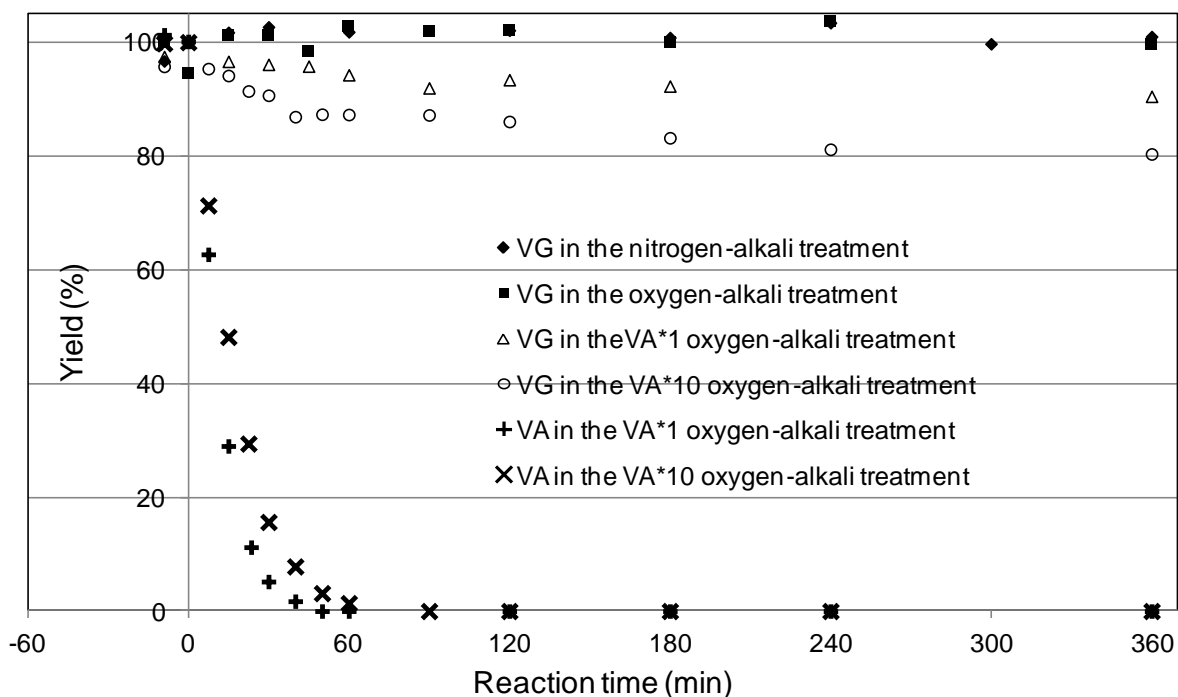


Fig.3-5 Change in the yields of VG and VA in the nitrogen-, oxygen-, VA*1 oxygen-, or VA*10 oxygen-alkali treatment of VG

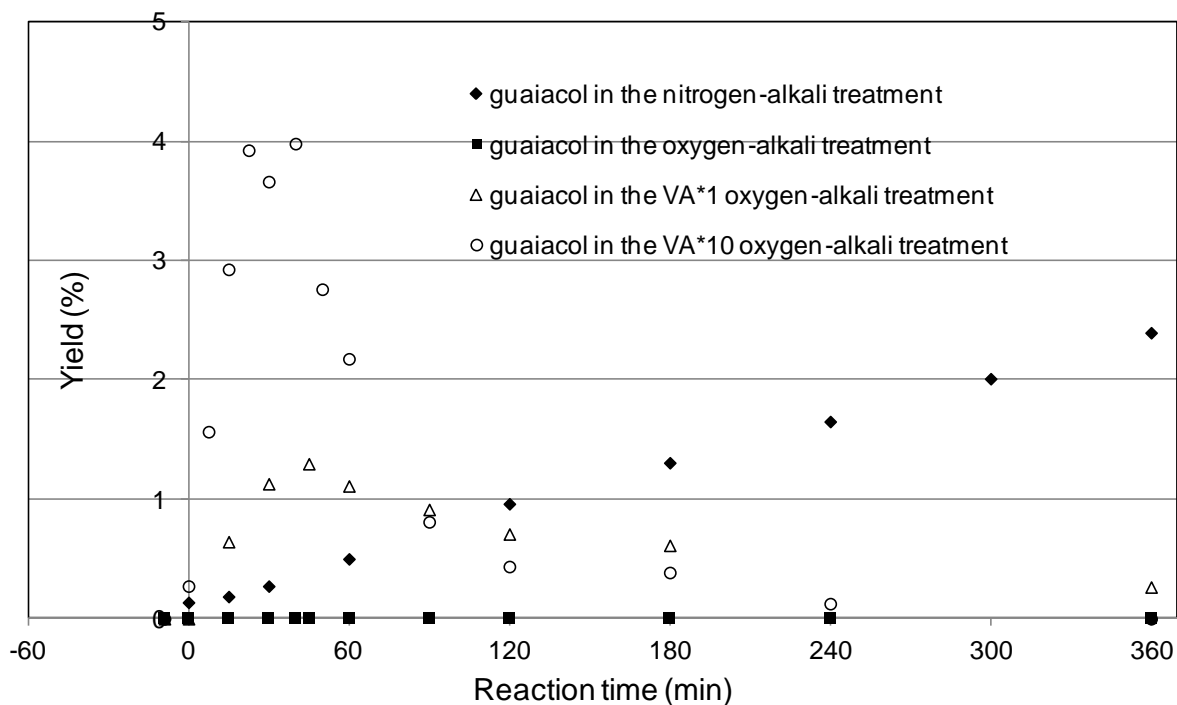


Fig.3-6 Change in the yield of guaiacol in the nitrogen-, oxygen-, VA*1 oxygen-, or VA*10 oxygen-alkali treatment of VG

3-2-2 フェノール性芳香核を有する β -O-4 型リグニンモデル化合物 2-(3,5-dichlorophenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol (guaiacylglycerol- β -dichlorophenyl ether, GDC)および 2-(3,5-difluorophenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol (guaiacylglycerol- β -difluorophenyl ether, GDF)の酸素アルカリ処理における β -O-4 結合開裂の検討

3-2-2-1 目的

3-2-1 の結果から、Tong、Imai の示唆した“リグニンの酸素アルカリ処理において、その側鎖の酸化分解に伴い β -O-4 結合が開裂し、非フェノール性ユニットがフェノール性ユニットに変換されるため、元々非フェノール性であったユニットの酸素酸化が十分に進行する”という現象が実際に起こることが確認されたが、これを定量的に検討するためには、B 環がフェノール性化合物として系中に遊離した際に酸素アルカリ処理中で安定であり、さらに、AOS によっても分解され難い構造を持っていなければならない。

このような B 環となり得るフェノール性化合物として、4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (vanillin)が考えられる。しかし、vanillin のような α -位にカルボニル基を持つ化合物を B 環に持つ β -O-4 型のモデル化合物は、アルカリ性下で非常に不安定であるため、本実験のような 0.5 mol/l NaOH の条件下では、室温でもすぐに vanillin が遊離してしまう^{19, 38)}。そこで、酸素アルカリ処理に対して抵抗性を持つことが期待される 3,5-dichlorophenol (DCPh, Fig.3-7)および 3,5-difluorophenol (DFPh, Fig.3-7)に注目し、これらそれぞれを B 環として持つ β -O-4 型リグニンモデル化合物 2-(3,5-dichlorophenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol (GDC, Fig.3-7)、および、2-(3,5-difluorophenoxy)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propane-1,3-diol (GDF, Fig.3-7)の使用を計画した。すなわち、これらの酸素アルカリ処理における分解と、分解に伴うフェノール性化合物 DCPh または DFPh の生成挙動を定量することによって、非フェノール性芳香環のフェノール性化合物への変換を、定量的に検討可能と考えた。そこでまず、DCPh および DFPh の酸素アルカリ処理における安定性について、検討を行った。

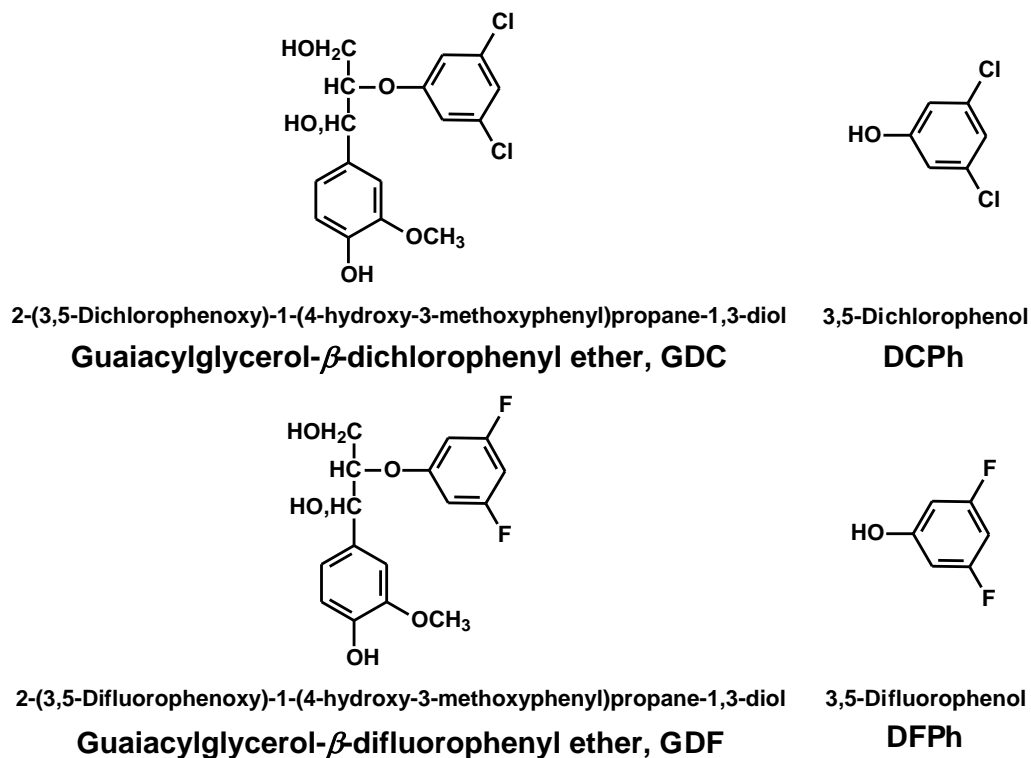


Fig.3-7 Structure of the model compounds used in this section

3-2-2-2 3,5-Dichlorophenol (DCPh)および 3,5-difluorophenol (DFPh)の安定性の検討

3-2-2-2-1 実験

Aldrich より購入した DCPh および DFPh に酸素アルカリ処理、VA*1 酸素アルカリ処理、そして、VA*10 酸素アルカリ処理を施した。

反応装置

酸素アルカリ処理に用いた反応装置は 3-2-1-2 に記述したものをを用いた。

反応溶液

反応溶液の調製に使用する器具は、あらかじめイオン交換水、超純水の順でよく洗浄し乾燥させた。

DCPh の実験では 3 種類の反応溶液を調製し反応に用いた。その調製を以下に示す。溶液の調製に用いた 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液と 10 mol/l NaOH 水溶液は、3-2-1-2 に記述した方法で調製したものをを用いた。

No.4 DCPh 440 mg を 300 ml 容ガラス製ビーカーにとり、これに超純水 100 ml、および 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml を加え、DCPh を完全に溶解させた。この溶液を 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml を入れ、超純水を加えて

300 ml とした。これにより、DFPh 9.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l の反応溶液を得た。

No.5 DCPh 48.9 mg を 300 ml 容ガラス製ビーカーにとり、これに超純水 100 ml、および 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml を加え、DCPh を完全に溶解させた。この溶液を 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6.0 ml、VA 45.2 mg を入れ、VA を完全に溶かした後、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、DFPh 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、VA 1.0 mmol/l の反応溶液を得た。

No.6 DCPh 48.9 mg を 300 ml 容ガラス製ビーカーにとり、これに超純水 100 ml、および 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml を加え、DCPh を完全に溶解させた。この溶液を 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、VA 452 mg を入れ、VA を完全に溶かした後、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、DFPh 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、VA 10 mmol/l の反応溶液を得た。

No.7 DFPh 39.0 mg を 300 ml 容ガラス製ビーカーにとり、これに超純水 100ml、および 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml を加え、DFPh を完全に溶解させた。この溶液を 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、VA 46.2 mg を入れ、VA を完全に溶かした後、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、DFPh 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、VA 1.0 mmol/l の反応溶液を得た。

No.8 DFPh 39.0 mg を 300 ml 容ガラス製ビーカーにとり、これに超純水 100 ml、および 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml を加え、DFPh を完全に溶解させた。この溶液を 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、VA 462 mg を入れ、VA を完全に溶かした後、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、DFPh 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、VA 10 mmol/l の反応溶液を得た。

No.4 の反応溶液は「酸素アルカリ処理」に用い、No.5 および No.7 の反応溶液は「VA*1 酸素アルカリ処理」に、そして、No.6 および No.8 の反応溶液は「VA*10 酸素アルカリ処理」にそれぞれ用いた。

反応

3-2-1-2 に記述した方法に従った。内部標準液は 4 mmol/l 2,6-dichlorophenol メタノール溶液を用いた。

分析

島津製高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を以下のような条件に設定し、DCPh の分析を行った。

HPLC 測定条件

カラム：Luna 5u C18(2) 100A (phenomenex 製、長さ 250 mm)

移動層：水：メタノール=45：55

流速：0.8 ml/min 分析時間：45 分

検出器：PDA 検出波長：280nm

島津製高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を以下のような条件に設定し、DFPh の分析を行った。

HPLC 測定条件

カラム：Luna 5u C18(2) 100A (phenomenex 製、長さ 250 mm)

移動層： 水：メタノール=45：55

流速：0.8 ml/min 分析時間：45 分

検出器：PDA 検出波長：254 nm

3-2-2-2-2 結果と考察

Fig.3-8 および Fig.3-9 に、DCPh および DFPh それぞれの分解挙動を示す。DCPh は酸素アルカリ処理中では、ほとんど分解されず、VA*1 酸素アルカリ処理においても 360 min の時点において、約 92.0 %が残存していた。この結果から、DCPh はこれらの処理に対して高い安定性を持つことが示された。一方、VA*10 酸素アルカリ処理においては、反応時間が進むにつれて減少しており、分子状酸素と VA との反応から発生した AOS によって、DCPh は分解された。したがって、DCPh が AOS との反応において十分な抵抗性を持つとは言い難いものの、DCPh を B 環として持つ GDC を酸素アルカリ処理し、その β -O-4 結合が開裂して DCPh が遊離した場合に、これを十分に検出可能であろう判断し、この GDC をモデル化合物として用いることを決定した。

Fig.3-9 からわかるように、VA*1 および VA*10 酸素アルカリの両処理において、DFPh に大きな分解は観測されなかったことから、DFPh は本実験条件下では、AOS が生成する場合であっても十分に安定であることが分かった。この結果から、DFPh を B 環として持つ GDF を、モデル化合物として使用することを決定した。

このように、B 環に 3,5-dichlorophenoxy 基、および、3,5-difluorophenoxy 基を持つ β -O-4 型リグニンモデル化合物 GDC および GDF がそれぞれ酸素アルカリ処理中で分解し、 β -O-4 結合の開裂に伴ってこれらの B 環が遊離するならば、DCPh および DFPh が系中に蓄積すると考えられるため、これらを定量することによって、GDC および GDF の β -O-4 結合開裂を、特に GDF の場合には定量的に検討できる事が期待される。

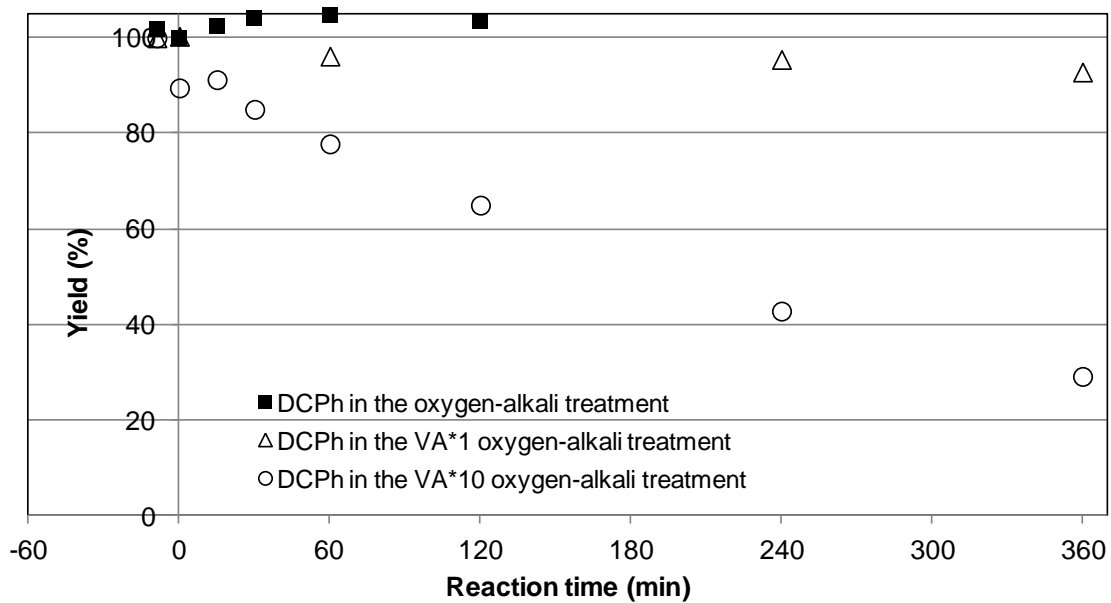


Fig.3-8 Change in the yield of DCPH in the oxygen-, VA*1 oxygen-, or VA*10 oxygen-alkali treatment of DCPH

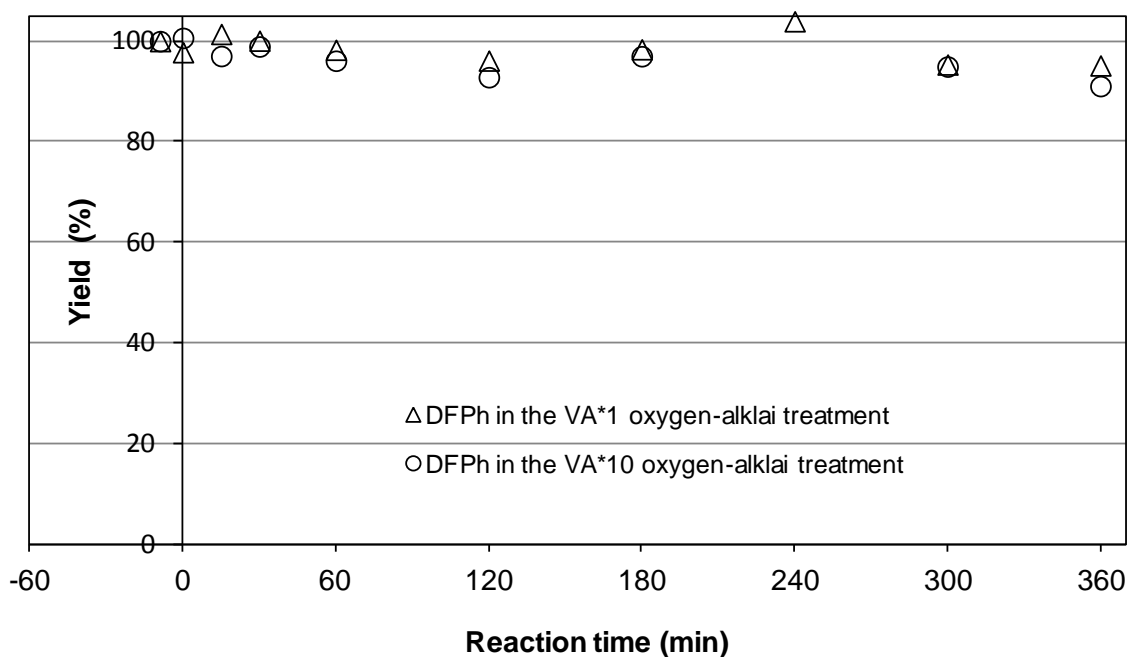


Fig.3-9 Change in the yield of DFPh in the VA*1 oxygen- or VA*10 oxygen-alkali treatment of DFPh

3-2-2-3 GDC および GDF の酸素アルカリ処理における β -O-4 結合開裂の検討

3-2-2-3-1 実験

GDC の合成手順を Fig.3-10 に示す。

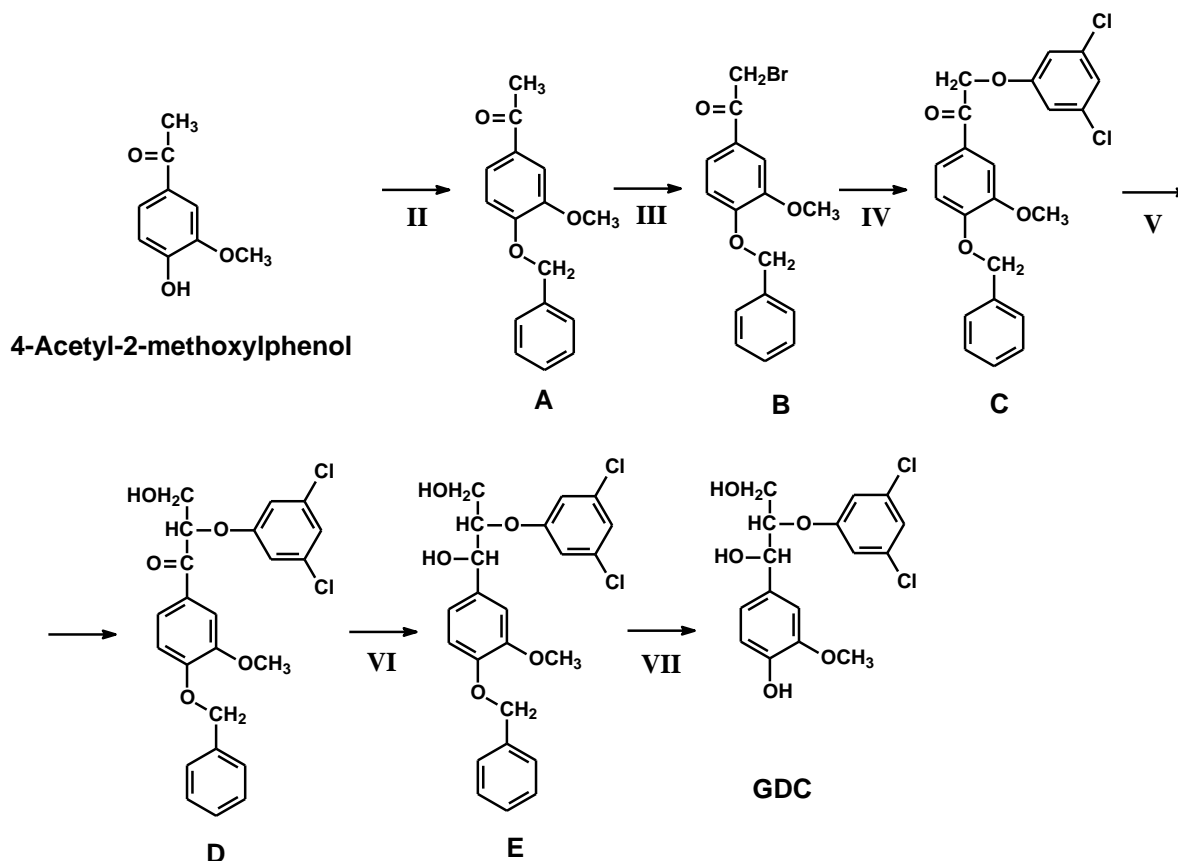


Fig.3-10 Synthetic route of GDC

II フェノール性水酸基のベンジル化

4-Acetyl-2-methoxyphenol 7.90 g (48.0 mmol)を 300 ml 容ガラス製ナスフラスコ中で乾燥アセトン 100 ml に溶解し、benzyl bromide 8.55 g (50.0 mmol)と K_2CO_3 6.90 g (0.05 mol)を加え、45 °C の湯浴中で 4 時間反応させた。TLC で 4-Acetyl-2-methoxyphenol が完全に無くなったことを確認してから自然ろ過で沈殿物を取り除いた後、ロータリーエバポレーターでアセトンを蒸発させた。これにより、(A)の粗結晶 12.2 g を得た(モル収率は 99 %)。

III β -位炭素の臭素化

(A)12.2 g を 500 ml 容ガラス製ナスフラスコ中、エタノール 200 ml、40 °C で溶解した後、ここに氷冷水下で Br_2 8.00 g をゆっくり滴下し、攪拌しながら 3 時間反応させた。反応中に沈殿物が生成したが、この沈殿物の主要構成物が(A)の臭素化物(B)であることを TLC で確認してから、自然ろ過でろ液と沈殿物を分けた。

IV β -O-4 結合の生成

III で得た沈殿物を 300 ml 容ガラス製ナスフラスコ中で乾燥アセトン 100 ml に溶解した。DCPh 7.80 g (48.0 mmol) を 100 ml 容ガラス製ナスフラスコ中でメタノール 40 ml に溶解し、28 % ナトリウムメトキシド/メタノール溶液 9.16 g (48.0 mmol) を加えた後、ロータリーエバポレーターで濃縮してメタノールを十分に取り除き、DCPh のナトリウム塩を調製し、ここに乾燥アセトン 50 ml 加えてよく攪拌して溶解した。これを上記の III で得た沈殿物のアセトン溶液に 40 °C の湯浴中で攪拌しながらゆっくり滴下した。TLC で十分に反応が進んだことを確認した後、生成した KBr を自然ろ過で取り除き、ロータリーエバポレーターでアセトンを蒸発させ、(C) と思われる化合物を主要構成物とする固化物 21.2 g を得た。

V アルドール縮合によるホルムアルデヒド付加

IV で得られた固化物 21.2 g のうち 12.0 g (全て C と仮定すると 30.0 mmol) を 500 ml 容ガラス製ナスフラスコ中で THF 200 ml に溶解し、37 % ホルムアルデヒド水溶液 7.20 ml (90.0 mmol) と K_2CO_3 4.20 g (30.0 mmol) を加え、35 °C の湯浴中で 45 分間反応させた。反応終了後、HCl で酸性にしてクロロホルム 50 ml で 3 回抽出し、クロロホルム層を合わせてこれを水 100 ml で 3 回洗浄の後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。クロロホルム層を自然ろ過の後、濃縮してシロップ 13.2 g を得た。TLC でシロップを確認したところ、複数の生成物が見られた。分取用薄層クロマトグラフィー (PLC プレート) でこれらを分離し、MS(DI) で生成物のマススペクトルをそれぞれ調べたところ、 R_f 値 0.3 に見られた物質の親イオンピークが $M/Z=446$ を示した。このピークの M/Z は (D) の分子量と等しいこと、および、分裂パターンが (D) 由来のものと矛盾しないと考えられることによって、目標の合成物である (D) がシロップの中に含まれていることを確認し、次の合成に進んだ。

VI α -位カルボニル基のヒドリド還元

V で得られたシロップ 13.2 g を 300 ml 容ガラス製ナスフラスコ中でエタノール 100 ml に溶解して $NaBH_4$ 1.50 g を加え、攪拌しながら 1 晩反応させた。反応終了後、酢酸を加えて残存する $NaBH_4$ を分解した。これに水を加えた後、クロロホルム 50 ml で 3 回抽出し、クロロホルム層を合わせてこれをイオン交換水で 3 回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。クロロホルム層を自然ろ過の後、濃縮して (E) と思われる化合物を主要構成物とするシロップ 10.9 g 得た。

VII 水素添加による脱ベンジル

VI で得たシロップ 10.9 g を 300 ml 容ガラス製ナスフラスコにとり、エタノール 100 ml に溶解させ、Pd-C 0.20 g を加えた。これに、水素を充填したゴム風船をかぶせ、攪拌しながら水素添加を行った。TLC で確認しながら反応を行ったところ、4 時間後に (E) のスポットが無くなったため、反応を終了した。反応溶液を 0.2 μ m のフィルターでろ過して Pd-C を取り除き、ロータリーエバポレーターで濃縮してシロップ 5.90 g 得た。このシロップを TLC で確認したところ、いくつかの生成物があったので、PLC プレートで分取して、それぞれの

$^1\text{H-NMR}$ スペクトルを測定した。これらの中に GDC を確認できたため、このシロップを
 中圧カラムクロマトグラフィーで分離・生成し、GDC 1.95 g (5.00 mmol)を得た。出発物
 4-Acetyl-2-methoxyphenol に対するモル収率は 10.4 %であった。Fig.3-11 に GDC の $^1\text{H-NMR}$
 を示す。

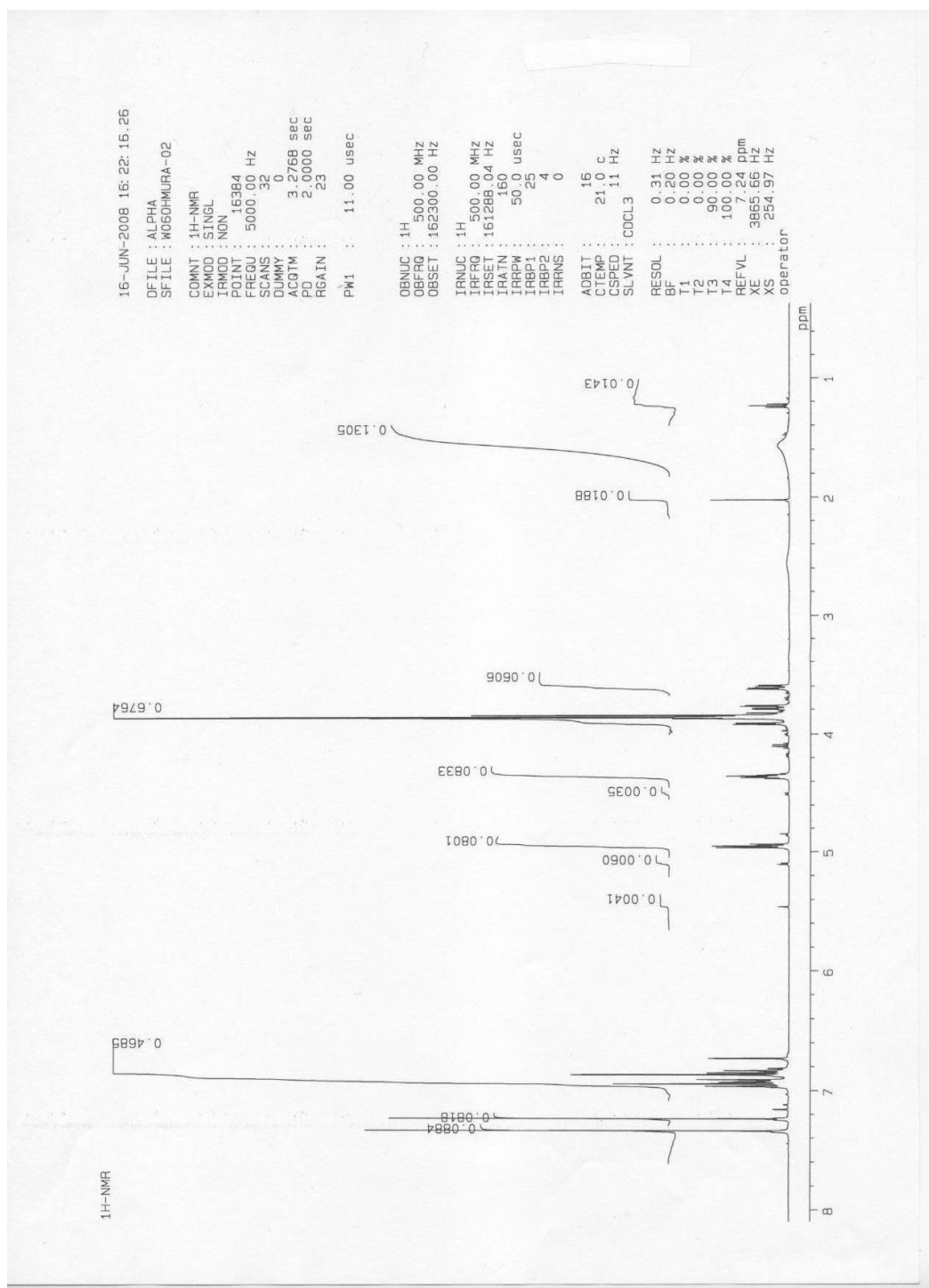


Fig.3-11 $^1\text{H-NMR}$ spectrum of GDC

GDF の合成手順を Fig.3-12 に示す。

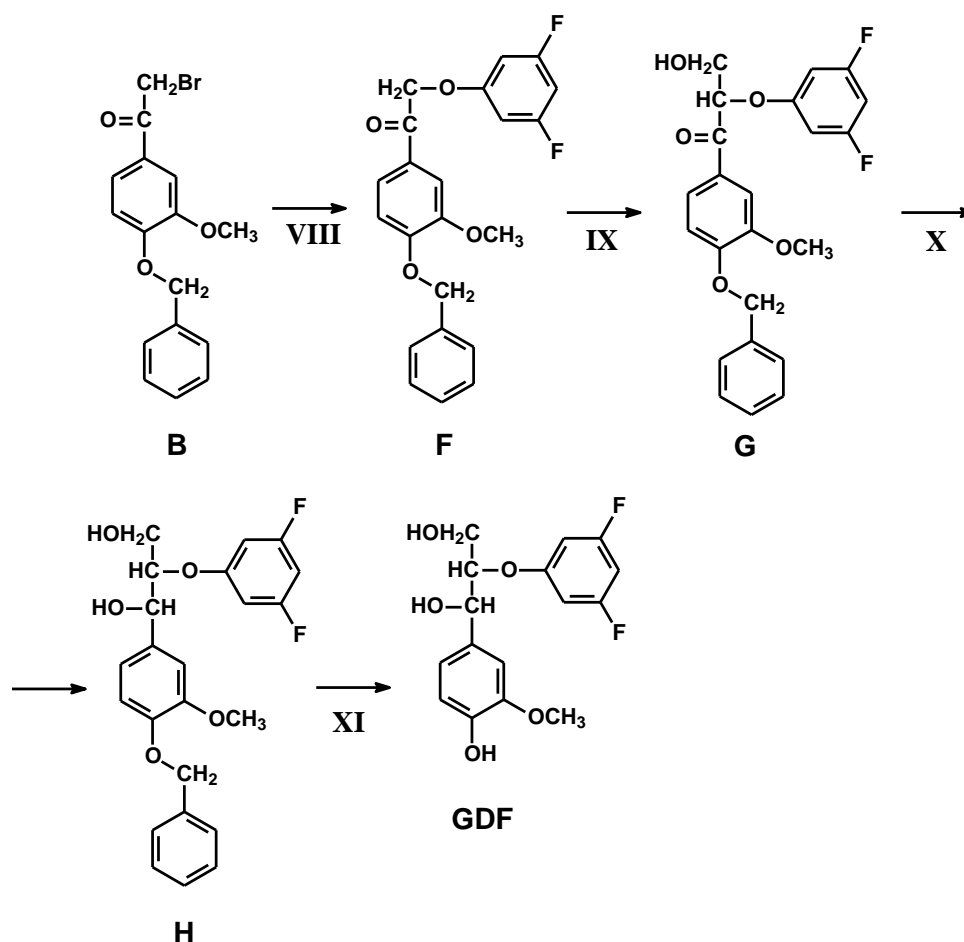


Fig.3-12 Synthetic route of GDF

VIII β -O-4 結合の生成

III の方法で得た化合物(B) 16.1 g (48.0 mmol)を 300 ml 容ガラス製ナスフラスコにとり、乾燥アセトン 100 ml に溶解させた。DFPh 7.80 g (48.0 mmol)を 100 ml 容ナスフラスコ中でメタノール 40 ml に溶解し、28%ナトリウムメトキシド/メタノール溶液 9.16 g (48.0 mmol)を加えた後、ロータリーエバポレーターで濃縮してメタノールを十分に取り除き、DFPh のナトリウム塩を調製し、ここに乾燥アセトン 50 ml 加えてよく攪拌して溶解した。これを上記の(B)のアセトン溶液に 40 °C の湯浴中で攪拌しながらゆっくり滴下した。TLC で反応が進んだことを確認した後、生成した KBr を自然ろ過で取り除き、ロータリーエバポレーターでアセトンを蒸発させ、これに 0.5 mol/l NaOH 水溶液 100 ml 加え、ジクロロメタン 50 ml で 3 回抽出した。集めたジクロロメタン層をイオン交換水で 3 回洗浄し、溶液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。自然ろ過で無水硫酸ナトリウムを取り除き、ロータリーエバポレーターでジクロロメタンを蒸発させ、(F)と思われる化合物を主要構成物とする固化物 18.0 g を得た。

IX アルドール縮合によるホルムアルデヒド付加

VIIIで得られた固化物 18.0 g を 500 ml 容ガラス製ナスフラスコ中で THF 300 ml に溶解し、37 % formaldehyde 4.86 ml (48.0 mmol) と K_2CO_3 6.9 g (50.0 mol) を加え、35 °C 湯浴中で 45 分間反応させた。反応終了後、HCl で酸性にして酢酸エチル 50 ml で 3 回抽出し、酢酸エチル層を合わせてこれを水 100 ml で 3 回洗浄の後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。酢酸エチル層を自然ろ過の後、濃縮してシロップを得た。PLC プレートでこのシロップに含まれる生成物を分取し、MS(DI)でこのマススペクトルを調べたところ、Rf 値 0.3 に見られた物質の親イオンピークが $M/Z=428$ を示した。このピークの M/Z は(G)の分子量と等しいこと、および、分裂パターンが(G)由来のものと矛盾しないと考えられることによって、目標の合成物である(G)がシロップの中に含まれていることを確認した。そのため、このシロップを結晶化して(G)の結晶 10.1 g (24.3 mmol)を得た。

X α -位カルボニル基のヒドリド還元

IXで得られた結晶(G) 10.1 g (24.3 mmol)を 300 ml 容ガラス製ナスフラスコにとり、エタノール 100 ml に溶解させた後、 $NaBH_4$ 1.31 g (24.3 mmol)を加え、攪拌しながら 1 晩反応させた。反応終了後、酢酸を加えて残存する $NaBH_4$ を分解した。それに水を加えた後、酢酸エチル 50 ml で 3 回抽出し、酢酸エチル層を合わせてこれを水で 3 回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。酢酸エチル層を自然ろ過の後、濃縮して(H)と思われる化合物を主要構成物とするシロップ 10.0 g 得た。

XI 水素添加による脱ベンジル

Xで得たシロップ 10.0 g を 300 ml 容ナスフラスコ中でエタノール 100 ml に溶解して、Pd-C 0.30 g を加えた。これに、水素を充填したゴム風船をかぶせ、攪拌しながら水素添加を行った。TLC で確認しながら反応を行ったところ、6 時間後に(H)のスポットが無くなったため、反応を終了した。反応溶液を 0.2 μ m のフィルターでろ過して Pd-C を取り除き、ロータリーエバポレーターで濃縮してシロップ 7.92 g 得た。このシロップを TLC で確認したところ、いくつか生成物があったので、分取用薄層クロマトグラフィー(PLC プレート)で分取して、それぞれの NMR スペクトルを測定した。これらの中に GDF を確認できたため、このシロップを中圧カラムクロマトグラフィーで分離・生成し、GDF 6.00 g (18.4 mmol)を得た。出発物(B)に対するモル収率は 38.3 %であった。Fig.3-13 に GDF の 1H -NMR スペクトルを、Fig.3-14 に ^{13}C -NMR スペクトルを示す。

1H-NMR

29-AUG-2011 10:22:28.79
DFILE : MDA0: [ALPHA] ALPHA
SEFILE : W080HMURA 20110829 REAL

COMNT : 1H-NMR
EXMOD : SINGL
IRMOD : NON
POINT : 16384
FREQU : 5000.00 Hz
SCANS : 16
DUMMY : 2
ACQTM : 3.2768 sec
PD : 2.0000 sec
RGAIN : 18
PW1 : 11.60 usec

OBNUC : 1H
OBFRQ : 500.00 MHz
OBSET : 162300.00 Hz

IRNUC : 1H
IRFRQ : 500.00 MHz
IRSET : 161288.04 Hz
IRATN : 160
IRRPW : 50.0 usec
IRBP1 : 25
IRBP2 : 4
IRRS : 0

ADBIT : 16
CTEMP : 22.6 C
CSPED : 0 Hz
SLVNT : ACETN

RESOL : 0.31 Hz
BF : 0.10 Hz
T1 : 0.00 %
T2 : 0.00 %
T3 : 90.00 %
T4 : 100.00 %
REFVL : 2.05 ppm
XE : 5000.00 Hz
XS : 0.00 Hz

operator

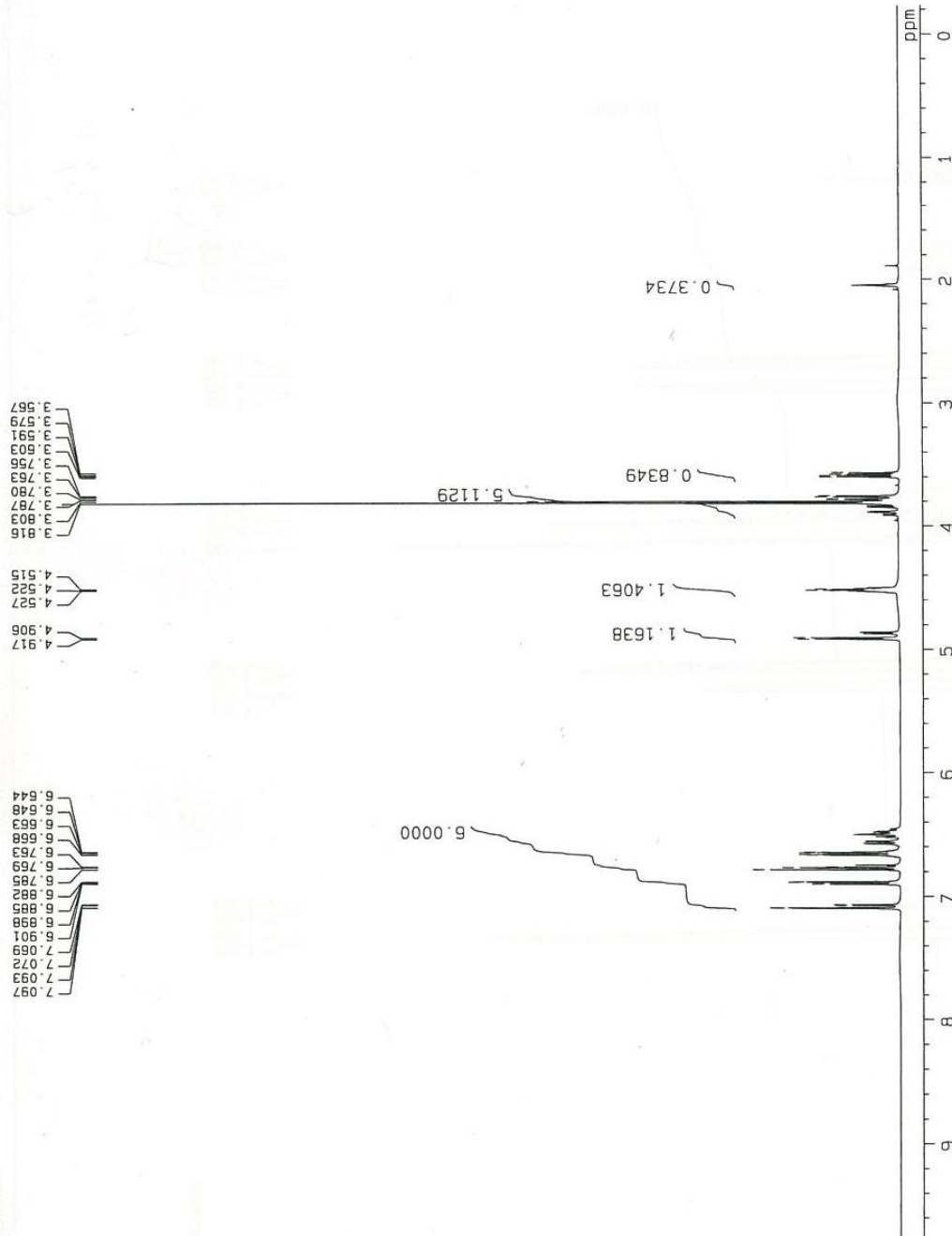


Fig.3-13 ¹H-NMR spectrum of GDF

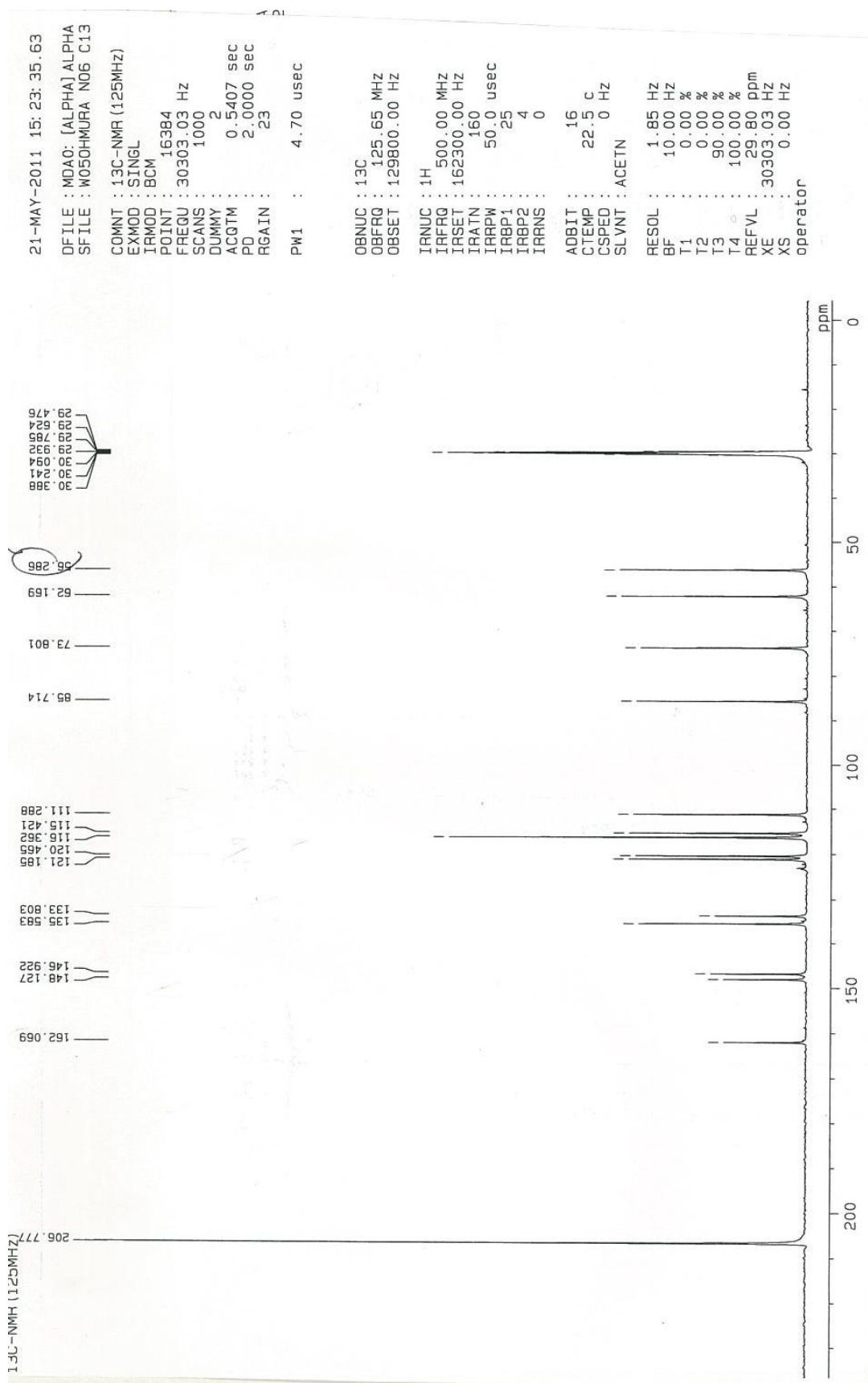


Fig.3-14 ¹³C-NMR spectrum of GDF

酸素アルカリ処理

上述した方法で合成した GDC および GDF を窒素、酸素アルカリ処理した。

反応装置

窒素アルカリ処理、酸素アルカリ処理に用いた反応装置は 3-2-1-2 に記述したものをを用いた。

反応溶液

反応溶液の調製に使用する器具は、あらかじめイオン交換水、超純水の順でよく洗浄し乾燥させた。

GDC および GDF の実験では以下の溶液を調製し反応に用いた。その調製を以下に示す。溶液の調製に用いた 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液と 10 mol/l NaOH 水溶液は、3-2-1-2 に記述した方法で調製したものをを用いた。

No.9 GDC 484 mg を 300 ml 容ガラス製ビーカーにとり、これに超純水 100 ml、および 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml を加え、GDC を完全に溶解させた。この溶液を 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml を入れ、超純水でメスアップし 300 ml とした。これにより、GDC 9 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l の溶液を得た。

No.10 GDF 97.2 mg を 300 ml 容ガラス製ビーカーにとり、これに超純水 100 ml、および 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml を加え、GDF を完全に溶解させた。この溶液を 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml を入れ、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、GDF 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l の溶液を得た。

No.9 および No.10 の溶液はそれぞれ 2 回ずつ調製し、「窒素アルカリ処理」および「酸素アルカリ処理」にそれぞれ用いた。

反応

反応の手順は 3-2-1-2 に記述した方法に従った。内部標準は 4 mmol/l 2,6-dichlorophenol メタノール溶液、または、2 mmol/l 2,3-dichlorophenol メタノール溶液を用いた。

分析

島津製高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を以下のような条件に設定し、GDC の分析を行った。

HPLC 測定条件

カラム：Luna 5u C18(2) 100A (phenomenex 製、長さ 250 mm)

移動層：水：メタノール=45：55

流速：0.8 ml/min 分析時間：45 分

検出器：PDA 検出波長：280 nm

島津製高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を以下のような条件に設定し、GDF の分析を行った。

HPLC 測定条件

カラム：Luna 5u C18(2) 100A (phenomenex 製、長さ 150 mm)

移動層：水:メタノール (80:20—7 min—80:20—28 min—50:50—10 min—50:50)

流速：1.2 ml/min 分析時間：45 分

検出器：PDA 検出波長：254 nm

3-2-2-3-2 結果と考察

Fig.3-15 に、窒素または酸素アルカリ処理における GDC の分解挙動、DCPh の生成挙動、そして残存 GDC と DCPh の合計収率を示す。Fig.3-16 に、同じ処理における GDF の分解挙動、DFPh の生成挙動、そして、残存 GDF と DFPh の合計収率を示す。なお、GDC または GDF は A 環にフェノール性水酸基を持つため、酸素アルカリ処理においてはここが分子状酸素と反応する。その結果として、AOS が生成するため、これらの酸素アルカリ処理においては、VG の酸素アルカリ処理で AOS 生成源として働いた VA を加える必要がなく、GDC または GDF を単独で処理した。

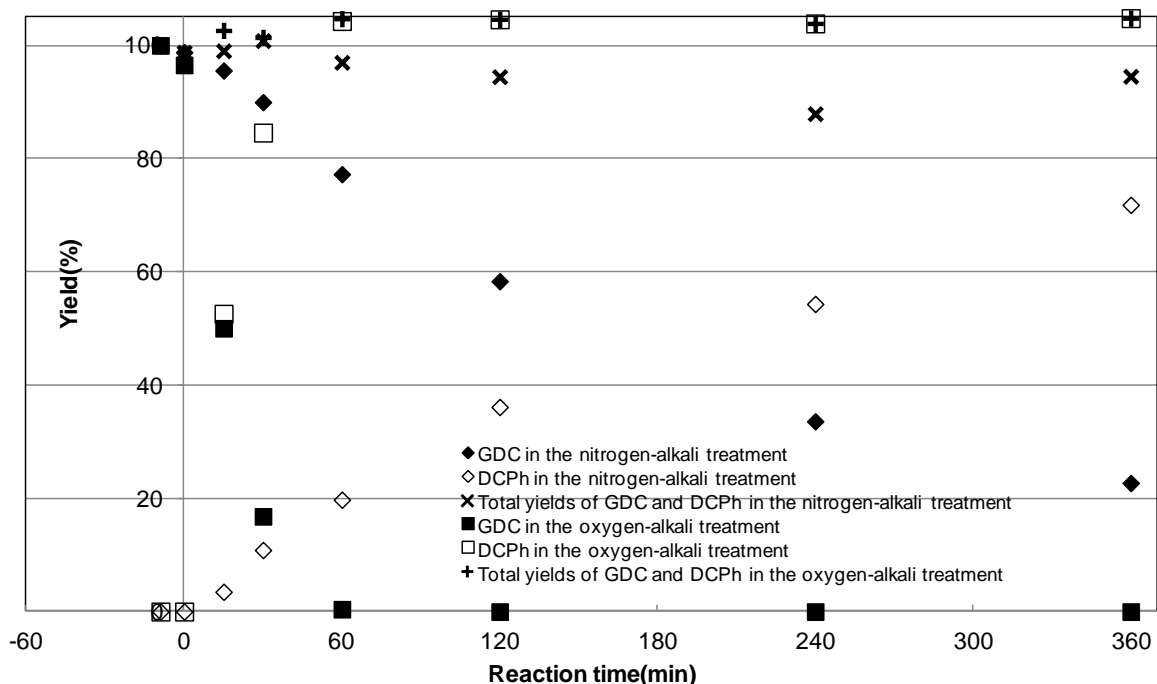


Fig.3-15 Change in the yields of GDC, DCPh and total yield of these compounds in the nitrogen- or oxygen-alkali treatment of GDC

Fig.3-15 に示すように、GDC の窒素アルカリ処理において GDC は分解し、それに伴って DCPh がほぼ定量的に生成した。この結果から、酸素の関与しないアルカリのみの作用、すなわち、隣接 α -位アルコキシドの分子内 S_N2 反応によって、GDC の β -O-4 結合が開裂することが示された。このアルカリのみの作用による β -O-4 結合の開裂は、前項で示した VG の窒素アルカリ処理における同じ結合開裂と比較して、非常に速いことがわかる。これは、GDC の反応で脱離基となる 3,5-dichlorophenoxy 基の脱離能が、VG の反応で脱離基となる 2-methoxyphenoxy 基よりもかなり高い事に起因すると考えられる。酸素アルカリ処理では、GDC の分解に伴い B 環由来の DCPh がほぼ定量的に生成したが、GDC の分解および DCPh の生成共に、窒素アルカリ処理の場合よりも非常に速かった。したがって、GDC の β -O-4 結合の開裂は、酸素および AOS の存在によって促進されることが示された。

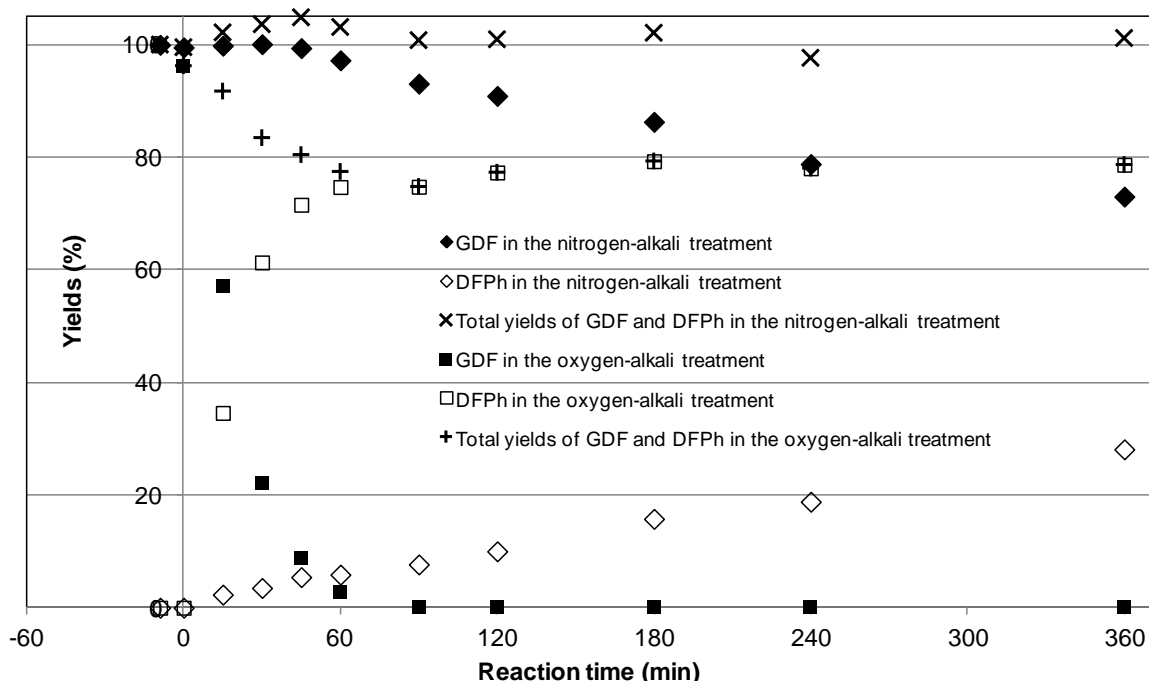


Fig.3-16 Change in the yields of GDF, DFPh, and total yield of these compounds in the nitrogen- or oxygen-alkali treatment of GDF

Fig.3-16 に示すように、GDC と同様に GDF は窒素アルカリ処理においても分解され、B 環由来である DFPh の定量的な生成が確認された。この結果から、GDF もアルカリのみの作用によってその β -O-4 結合が開裂することが確認された。この GDF の分解は、前項の VG の窒素アルカリ処理における分解よりも明らかに速く、B 環の 3,5-difluorophenoxy 基が 2-methoxyphenoxy 基よりも脱離基が優れている事が示唆される。しかし、GDF と GDC の窒素アルカリ処理における分解を比較すると前者の方が遅いので、3,5-dichlorophenoxy 基は 3,5-difluorophenoxy 基よりも脱離能が高いのであろう。クロロ基とフルオロ基のハメットの置換基定数は、メタ位置換においてそれぞれ+0.373 と+0.337 であるので、上記の実験結果と矛盾しない。

窒素アルカリ処理と比較して、酸素アルカリ処理における GDF は速やかに分解し、分解した GDF 量に対して約 80%程度 of DFPh が検出された。したがって、系中に分子状酸素および AOS が存在することによって、GDF の β -O-4 結合開裂が非常に促進されることが示された。これらの結果から、GDC の場合と同様に、リグニン中の β -O-4 結合した非フェノール性ユニットは、酸素アルカリ過程でこの結合が開裂することによってフェノール性に変換され、その結果として酸素酸化を受けるに至ることが示された。上記のように、GDC の酸素アルカリ処理の結果とは異なり、GDF の酸素アルカリ処理では、DFPh の生成量は最大でも GDF の分解量に対して約 80 %程度であった。しかし、 β -O-4 結合を保持している何らかの GDF 分解生成物を、HPLC による分析(検出器は UV 220~280 nm)では、確認す

ることはできなかった。

アルカリ性溶液中において、フェノール性 β -O-4 型のリグニン構造は、アルカリのみの作用によりキノンメチド構造に変換され得る (Fig.3-17 上段)、この構造は、Fig.3-17 の下段に示す逆アルドール反応による γ 位のホルムアルデヒドとしての脱離等へ進行し得る³⁹⁾。しかし上記のように、GDC および GDF の窒素アルカリ処理においては、どちらの場合も出発物残存量と B 環由来のフェノール性化合物(DCPh または DFPh)生成量の合計値がほぼ 100 %であったことから、本実験条件下では、キノンメチド構造がほとんど生成していない可能性がある。

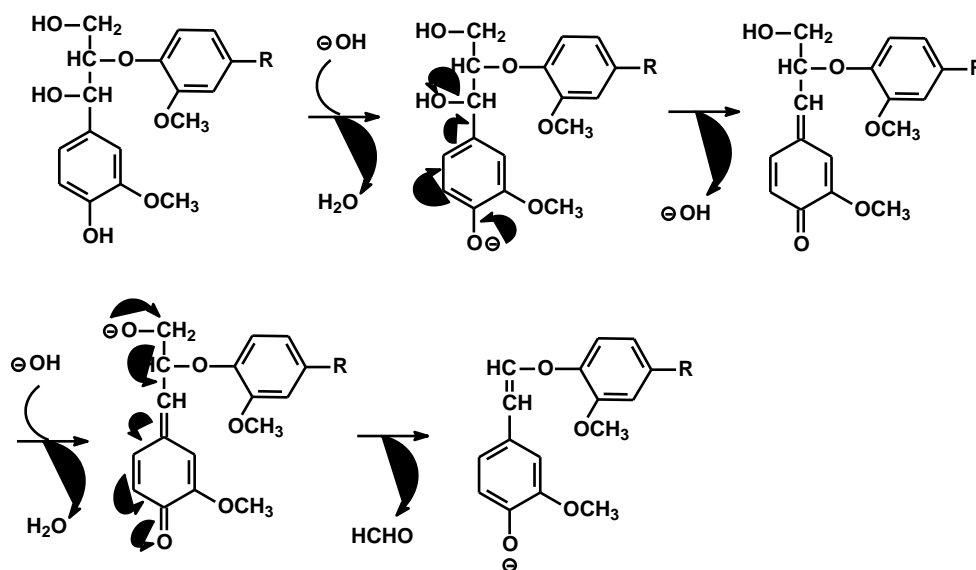


Fig.3-17 Mechanisms for conversion of a phenolic β -O-4 type lignin substructure to the quinonemethide structure and successive enol ether formation

以上のように、GDC および GDF を用いることによって、フェノール性ユニットの側鎖と β -O-4 結合した非フェノール性の芳香核が、酸素および AOS が存在することによって β -O-4 結合が開裂し、フェノール性へと変換される事が示唆された。しかし、本研究では、このフェノール性への変換が、AOS の側鎖への攻撃に起因するのかどうかを機構的に検討する事も目的としている。そこで、GDC からの DCPh、そして、GDF からの DFPh の遊離を、機構的に考察する必要がある。

GDC や GDF のような A 環にフェノール性芳香環を持つリグニン部位は、酸素アルカリ処理においてアルカリによって解離し、フェノレートアニオンとして存在する。これは分子状酸素によって酸化され、この際に AOS が生成し得る。生成した AOS が、GDC および GDF の側鎖部位を攻撃し、その結果、 β -O-4 結合が開裂する機構が考えられる (Fig.3-18)。一方、酸素によって酸化された A 環は開裂し、ムコン酸誘導体が生成すると考えられる (Fig.1-6, Fig.3-19)。このムコン酸誘導体中のカルボニル基が、元々芳香環の 1 位であった炭素と共役する構造である場合、あるいは、さらに酸化分解が進み元々芳香環の 1 位であった炭素にカルボニル基が導入される場合、アルカリのみの作用による β 脱離反応によっ

て、 β -O-4 結合の開裂が十分起こり得る (Fig.3-19)。そのため、GDC および GDF においては、AOS によってその側鎖が酸化されなくても β -O-4 結合が開裂し得ると考えられ、上記の結果は、DCPh および DFPh の遊離が必ずしも側鎖の酸化に起因することを示すものではない。また、上で確認されたのは、フェノール性ユニットの側鎖に β -O-4 結合している非フェノール性ユニットがフェノール性に変換される事であるため、すべての β -O-4 結合部位に対して適用することはできない。本研究の目的である、AOS による側鎖の酸化を起因とした β -O-4 結合の開裂に基づく非フェノール性のフェノール性への変換機構を検討するためには、A 環および B 環ともに非フェノール性の β -O-4 型リグニンモデル化合物の酸素アルカリ処理に対する挙動を検討し、GDC および GDF の結果と合わせて考察することが必要である。

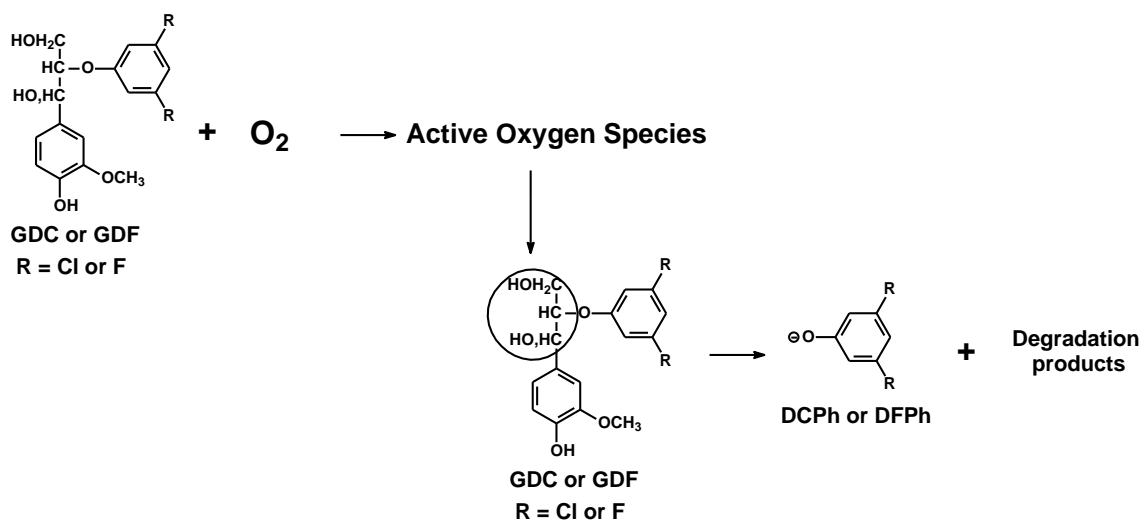


Fig.3-18 Mechanisms for AOS generation and the β -O-4 bond cleavage of GDC or GDF with side-chain oxidization by AOS

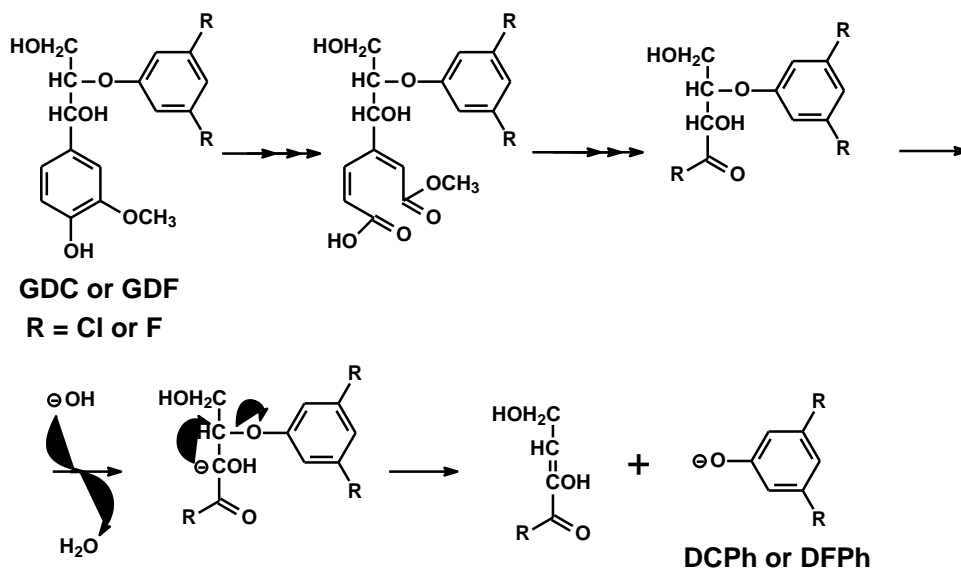
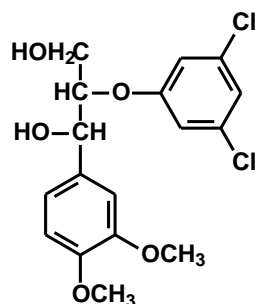


Fig.3-19 Mechanisms for the β -O-4 bond cleavage of GDC or GDF without side-chain oxidization by AOS

3-2-3 非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol (veratrylglycerol- β -dichlorophenyl ether, VDC)の酸素アルカリ処理における β -O-4結合開裂の検討

3-2-3-1 目的

3-2-2-3-2において、“GDCおよびGDFの酸素アルカリ処理では、これらの β -O-4結合が開裂し、非フェノール性ユニットであるB環がフェノール性化合物であるDCPhおよびDFPhにそれぞれ”ことが確かめられた。しかし、GDCおよびGDFはA環がフェノール性であるため、酸素アルカリ処理条件下ではA環が酸素と反応して酸化開裂すると、さらなる酸化の進行とアルカリの作用によって、 β -O-4結合が開裂する可能性が考えられた。したがって、GDCおよびGDFの酸素アルカリ処理によってその β -O-4結合が開裂し、B環がフェノール性のDCPhとして遊離したことは、必ずしもGDCおよびGDFの側鎖が酸化されたことを示すものではない。本項では、酸素アルカリ処理における側鎖部位の酸化による β -O-4結合開裂機構を検討するために、非フェノール性芳香環のみをもつ β -O-4型リグニンモデル化合物 2-(3,5-dichlorophenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol (veratrylglycerol- β -dichlorophenyl ether, VDC, Fig.3-20)を用いた。VDCはフェノール性芳香環を持たないため、酸素とは直接反応しないと考えられる。したがって、AOS生成源としてVAを酸素アルカリ処理中に添加する必要がある。AOS生成源であるVAを添加した酸素アルカリ処理においてDCPhが遊離すれば、 β -O-4結合の開裂がAOSによるVDCの側鎖の酸化に起因することが強く示唆される。



2-(3,5-Dichlorophenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol

Veratrylglycerol- β -dichlorophenyl ether, VDC

Fig.3-20 Structure of VDC used in this section

3-2-3-2 実験

Fig.3-21 に VDC の合成経路を示す。

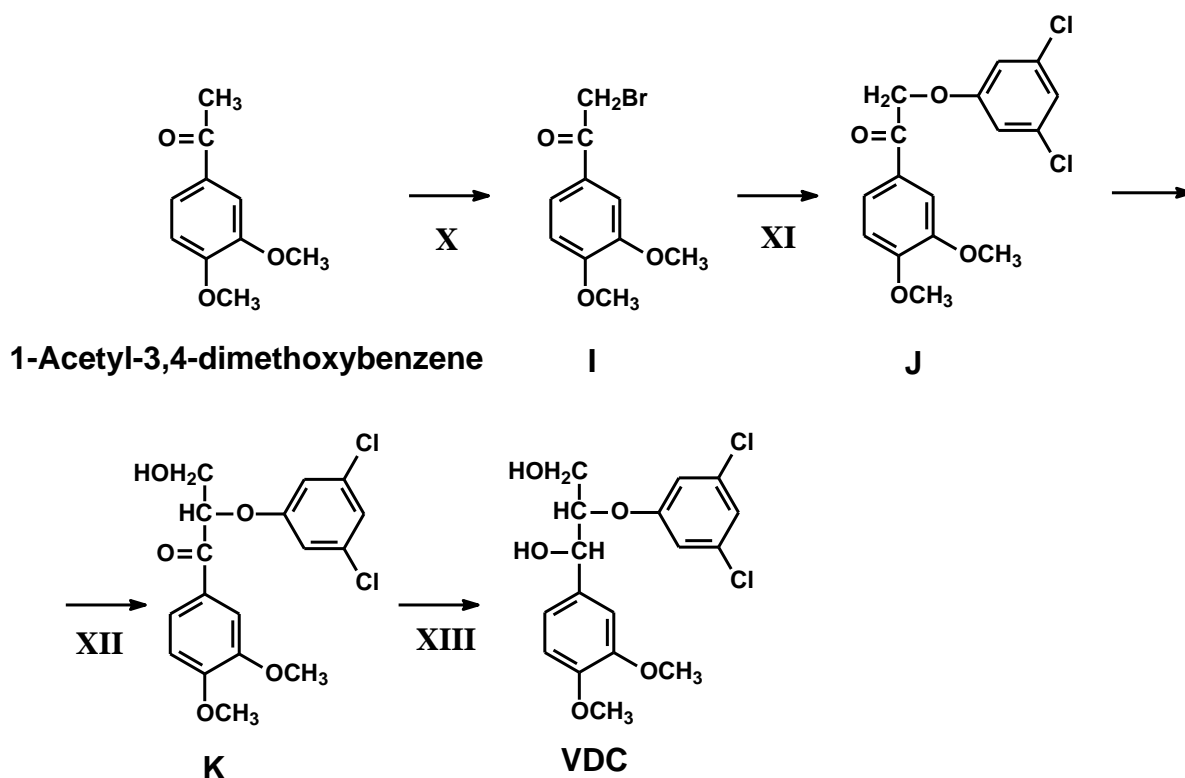


Fig.3-21 Synthetic route of VDC

X β -位炭素の臭素化

100 ml 容ガラス製ナスフラスコに 1-acetyl-3,4-dimethoxybenzene 11.3 g (63.0 mmol)を計り取り、エタノール 50 ml を加え、完全に溶解させた。これに氷冷水中で Br_2 約 10.0 g をゆっくり滴下し、攪拌しながら 3 時間反応させた。反応中に沈殿物が生成したので、この沈殿物が 1-acetyl-3,4-dimethoxybenzene と Br_2 の反応物(I)であることを TLC および GC-MS で確認してから、自然ろ過でろ液と沈殿物に分け、(I)を主要成分とする沈殿物 14.0 g を得た。

XI β -O-4 結合の生成

X で得た沈殿物 14.0 g (全て(I)と仮定すると 54.1 mmol)を 300 ml 容ガラス製ナスフラスコにとり、乾燥アセトン 100 ml を加えてこれを溶解させた。DCPh 9.78 g (60.0 mmol)を 100 ml 容ガラス製ナスフラスコ中でメタノール 40 ml に溶解し、28%ナトリウムメトキシド/メタノール溶液 11.2 g (58.0 mmol)を加えた。濃縮してメタノールを十分取り除き、DCPh のナトリウム塩を得た。ここに乾燥アセトン 50 ml 加え、よくかき混ぜて溶解させた。これを上記の X で得た沈殿物のアセトン溶液に 40 °C の湯浴中で攪拌しつつゆっくり滴下した。TLC で反応が進んだことを確認し、生成した KBr を自然ろ過で取り除き、さらにロータリーエバポレーターでアセトンを蒸発させ、(J)が主要構成物と思われる固化物 17.4 g を得た。

XII アルドール縮合によるホルムアルデヒド付加

XI で得られた(J)を含む固化物 17.4 g の内、7.95 g (全て(J)と仮定すると 23.3 mmol)を 300 ml 容ガラス製ナスフラスコ中で THF 100 ml に溶解させ、そこに 37% formaldehyde 水溶液 1.51 ml (formaldehyde あたり約 23.3 mmol)と K_2CO_3 3.40 g (24.6 mmol)を加え、35 °C の湯浴中で 45 min 反応させた。反応終了後、HCl で反応溶液を酸性にしてクロロホルム 50 ml で 3 回抽出し、クロロホルム層を合わせて水 100 ml で 3 回洗浄の後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。クロロホルム層を自然ろ過の後、ロータリーエバポレーターで濃縮してシロップ状の物質 7.85 g を得た。TLC でこれを確認したところ、出発物が無くなって、他に生成物の反応が見られた。目的の(K)ができていると仮定して次の段階に進んだ。

XIII α -位カルボニル基のヒドリド還元

XII で得た(K)を含むと仮定したシロップ 7.85 g を 300 ml 容ガラス製ナスフラスコ中でエタノール 100 ml に溶解し $NaBH_4$ 1.50 g 加え、攪拌しながら室温で 1 晩反応させた。反応終了後、酢酸を加えて残存している $NaBH_4$ を分解した。それに水を加えた後、クロロホルム 50 ml で 3 回抽出し、クロロホルム層を合わせて水 100 ml で 3 回洗浄の後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。クロロホルム層を自然ろ過の後、ロータリーエバポレーターで濃縮してシロップ 6.00 g を得た。このシロップを中圧カラムクロマトグラフィーで分取し、得られた数種類の物質を 1H -NMR で測定した。これらの数種類の物質の中の 1 つに VDC が確認できた。これにより、VDC が合成できたとして、最終的に VDC 1.50 g(4.02 mmol)を得た。出発物 1-acetyl-3,4-dimethoxybenzene に対してモル収率は 6.4 %であった。Fig.3-22 に VDC の 1H -NMR を示す

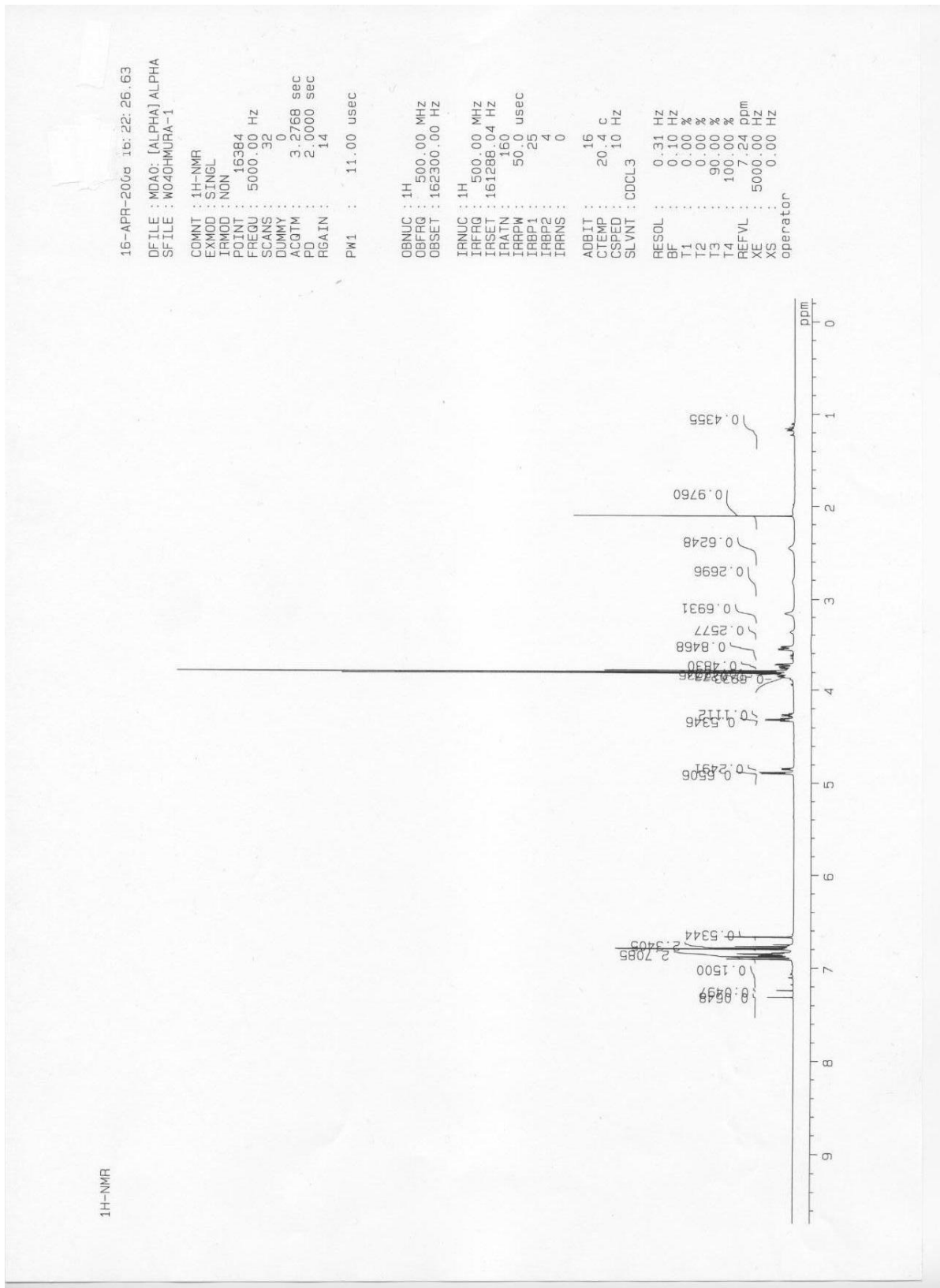


Fig.3-22 ¹H-NMR spectrum of VDC

酸素アルカリ処理

上記の方法で合成した VDC に窒素アルカリ処理、酸素アルカリ処理、AOS 生成源となる VA を添加した酸素アルカリ処理(VA の初期濃度が 5.5 mmol/l になるように VA を加えた、VA*5.5 酸素アルカリ処理)をそれぞれ施した。

反応装置

3 種類のアルカリ処理には、3-2-1-2 に記述した反応装置を用いた。

反応溶液

反応溶液の調製に使用する器具は、あらかじめイオン交換水、超純水の順でよく洗浄し乾燥させた。溶液の調製に用いた 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液と 10 mol/l NaOH 水溶液は、3-2-1-2 に記述した方法で調製したものをを用いた。VDC は 300 ml の NaOH 濃度 0.5 mol/l、FeCl₃ 濃度 0.36 mmol/l アルカリ性水溶液に溶解しなかった。そのためこの実験では、VDC を完全に溶解させる目的として、2-methylbutan-2-ol (*tert*-butyl alcohol, *t*-BuOH)を用いて以下に記す 2 種類の反応溶液を調製し、実験を行った。

No.11 VDC 283.3 mg を 200 ml 容ガラス製ビーカーにとり、*t*-BuOH 100ml を加え VDC を完全に溶解させた。これに超純水約 50 ml、NaOH 水溶液 15 ml、そして FeCl₃ 水溶液 6 ml を加えた。これを 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、超純水で 300 ml にメスアップした溶液を用いた (VDC 2.5 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、*t*-BuOH 33 %)。

No.12 VDC 290.0 mg を 200 ml 容ガラス製ビーカーにとり、*t*-BuOH 100 ml を加え VDC を完全に溶解させた。これに超純水約 50 ml、NaOH 水溶液 15 ml、FeCl₃ 水溶液 6 ml、および VA 255.4 mg を加え、VA を完全に溶かした後、これを 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、超純水で 300 ml にメスアップした溶液を用いた(VDC 2.59 mmol/l、VA 5.53 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、*t*-BuOH 33 %)。

No.11 の溶液は 2 回調製し、「窒素アルカリ処理」および「酸素アルカリ処理」にそれぞれ用い、No.12 で調製した溶液は「VA*5.5 酸素アルカリ処理」に用いた。

反応

3-2-1-2 に記述した方法に従った。内部標準液は 4 mmol/l 2,6-dichlorophenol メタノール溶液を用いた。

分析

島津製高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を以下のような条件に設定し、VDC の分析を行った。

HPLC 測定条件

カラム : Luna 5u C18(2) 100A (phenomenex 製、長さ 250 mm)

移動層：水：メタノール=45:55

流速：1.2 ml/min 分析時間：45 分

検出器：PDA 検出波長：280 nm

3-2-3-3 結果と考察

共溶媒として *t*-BuOH を使用したのは、VDC がアルカリ性水溶液に溶解しなかったため、そして、これが系中に生成する AOS と反応し難いのではないかと考えたためである。従来から、メタノールやエタノールは AOS 補足剤として用いられており、これらを用いた場合には、AOS と VDC の反応に重大な影響を及ぼすことが予想された。*t*-BuOH はこれらアルコールと異なり第 3 級であるため、水酸基の結合する炭素が水素を保持していない。このことから、*t*-BuOH は AOS と反応し難く、AOS と VDC との反応に及ぼす影響を最小にできると考えた。なお前述の通り、VDC はアルカリ水溶液に不要であったため、全ての反応系において反応溶液を 33 % *t*-BuOH (2-methylpropan-2-ol) 水溶液とした。

Fig.3-23 に、VDC および VA の分解挙動を示す。Fig.3-23 では、95 °C 昇温時(0 分)における VDC の残存量を 100 % とした。反応開始時点(-9 分)の VDC の存在量は、反応中の VDC の定量値よりもかなり少なかった。この現象は、*t*-BuOH が VDC の定量値に何らかの影響を及ぼしたためと考えられるが、詳しくは不明である。

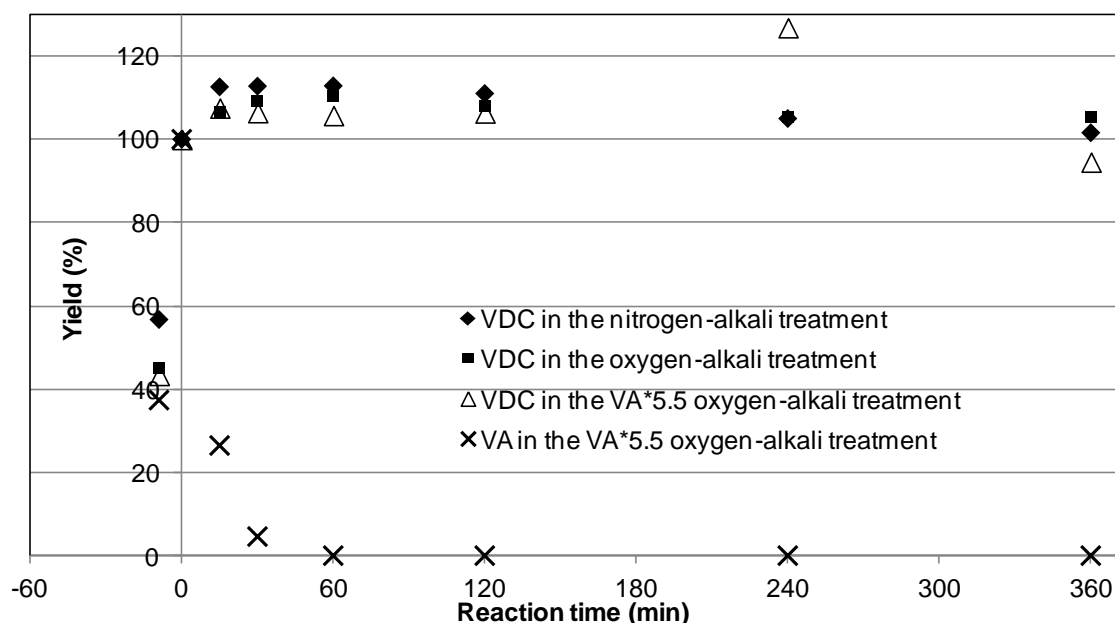
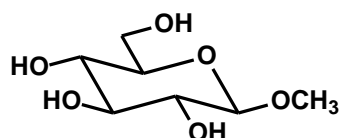


Fig.3-23 Change in the yields of VDC in the nitrogen-, oxygen-, or VA*5.5 oxygen-alkali treatment of VDC

すべての反応系において、明瞭な VDC の分解および DCPH の生成は、観測されなかった。これらの結果から、VDC はほとんど酸化されなかったかも知れないが、*t*-BuOH の影響が不明であるため、詳しい考察は不可能である。VA 共存下でも VDC の分解が明瞭には観察されなかったことから、この反応系においては、VA と酸素との反応によっては AOS が生成しない、あるいは、生成しても *t*-BuOH により消費される等の可能性が考えられた。AOS 生成の有無を確認するため、本実験条件下で AOS と反応することが知られている化合物 methyl β -D-glucopyranoside (MGP, Fig.3-24)⁴⁰⁾ を、VA と共存させて *t*-BuOH 存在下での酸素アルカリ処理を行い、MGP の分解挙動を調べた。



Methyl β -D-glucopyranoside

MGP

Fig.3-24 Structure of MGP

3-2-3-4 Methyl β -D-glucopyranoside (MGP)の酸素アルカリ処理における分解の検討

3-2-3-4-1 目的

3-2-3-3 に記したように、系中に *t*-BuOH を共存させた酸素アルカリ処理において、VA と分子状酸素の反応によって AOS が生成するかどうかを確認するため、AOS と反応することが知られている化合物 methyl β -D-glucopyranoside (MGP)と VA を共存させて *t*-BuOH 存在下での酸素アルカリ処理を行い、MGP の分解挙動を調べた。

3-2-3-4-2 実験

東京化成より購入した MGP を酸素アルカリ処理した。

反応装置

酸素アルカリ処理に用いた反応装置は 3-2-1-2 に記述したものをを用いた。

反応溶液

反応溶液の調製に使用する器具は、あらかじめイオン交換水、超純水の順でよく洗浄し乾燥させた。溶液の調製に用いた 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液と 10 mol/l NaOH 水溶液は、3-2-1-2 に記述した方法で調製したものをを用いた。MGP の実験では以下の溶液を調製し反応に用いた。その調製を以下に示す。

No.13 MGP 349.2 mg、VA 554.4 mg を 300 ml 容ガラス製ビーカーにとり、これに超純水約 50 ml、NaOH 水溶液 15 ml、FeCl₃ 溶液 6 ml、*t*-BuOH 100 ml を加え、300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、超純水で 300 ml にメスアップした溶液を用いた。(MGP 6.0 mmol/l、VA 12 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l)

No.13の溶液は「VA*12 酸素アルカリ処理」に用いた。

反応

上記で調製した反応溶液をオートクレーブに移し、オートクレーブ内の空気を酸素で置換して、酸素圧をゲージ圧で 1.1 MPa とし、溶液を攪拌しながら 1 回目のサンプリングを行

った。その後に昇温を開始し、最終的には6時間の反応を行った。目標温度は95 °Cであるが、92.5 °Cになった時点を実験時間0分としてサンプリングを行った(約9分後)。その後、15分、30分、1時間、2時間、4時間、6時間後にサンプリングを行った。サンプリングでは、酸素圧が下がらないように注意しながら、溶液を採取した。なお、オートクレーブはあらかじめイオン交換水、超純水の順で洗浄した。

サンプリングの際には、管部分にあると考えられる初流約2 mlは捨て、さらに約2 ml程度を10 ml容メスシリンダーに採取して直ちに冷却し、そこからホールピペットで正確に1 mlを取り、酢酸0.1 gを加えてpH≒5に調整した。4 mmol/l 2,6-dichlorophenol メタノール内部標準溶液を1 ml加え、ロータリーエバポレーターで水とメタノールを蒸発させたあと、真空下で1晩乾燥した。その後、乾燥させたサンプルに無水酢酸3 ml、ピリジン1 ml加えて、100 °C、3時間アセチル化を行ったあとGCで定量を行った。

分析

島津製作所製のガスクロマトグラフィー(GC-17A)を以下のような条件に設定し、分析を行った。

GC 測定条件

カラム：IC-1(GL science 製、長さ 30 m、内径 0.25 mm、膜厚 0.25 μm)

キャリアガス：ヘリウム

カラム温度：160 °C—(4 °C/min)—220 °C—(5 min)—220 °C (計 20 min)

INJ 温度：230 °C DET 温度：240 °C 検出器：FID

3-2-3-4-3 結果と考察

Fig.3-25 に、VA を MGP の 2 倍量添加した酸素アルカリ処理における MGP と VA の分解挙動を示す。MGP は *t*-BuOH を加えた酸素アルカリ処理において、昇温中にすでに分解され、1 時間反応させた段階でほぼ全て分解した。この反応における MGP の分解は、*t*-BuOH を含まない水溶液における分解と比較して、その他の反応条件が同一にもかかわらず、かなり速かった^{32,40,41}。この理由は不明であるが、この結果から、*t*-BuOH が含まれる反応系においても、VA と酸素との反応によって AOS が生成していることが示唆された。なお、MGP は有機溶媒が含まれない系において酸素と直接反応しないことが確認されている³⁵が、有機溶媒の存在によって酸素と直接反応する可能性については検討していない。したがって、AOS が生成しなくても、分子状酸素の攻撃に起因して等によって、MGP が分解する可能性を否定することはできないことを付け加える必要がある。

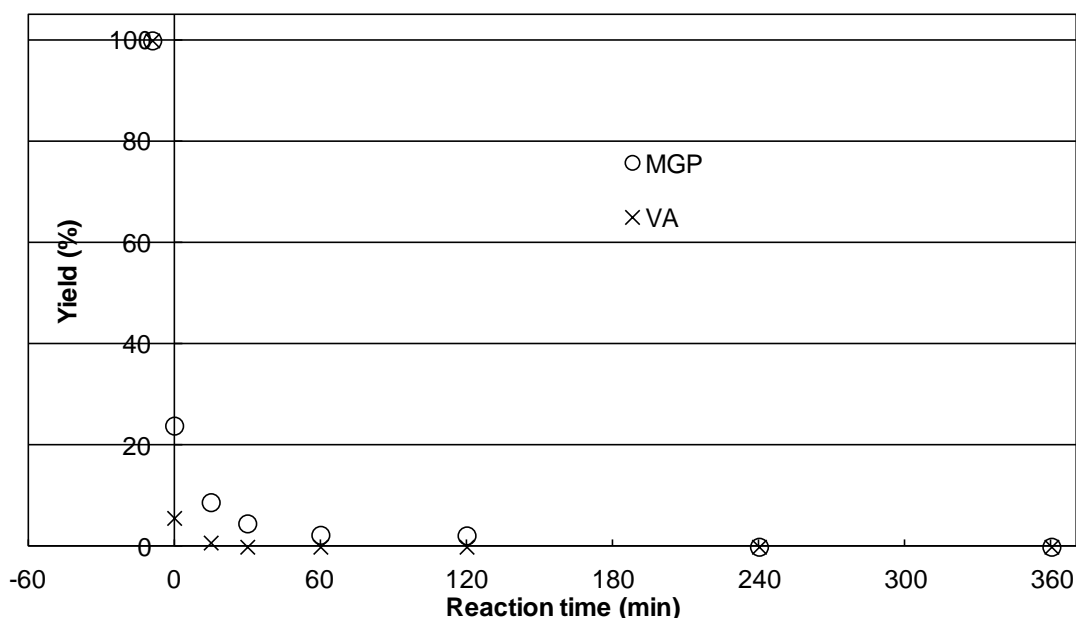


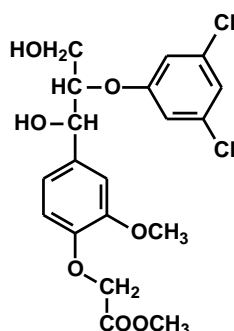
Fig.3-25 Change in the yields of MGP and VA in the VA*12 oxygen-alkali treatment of MGP

以上のように、VA と酸素の反応によって AOS が生成し、これが β -O-4 型リグニンモデル化合物の側鎖を酸化して β -O-4 結合が開裂するかどうかを確認するためには、*t*-BuOH 等の有機溶媒を含まない反応系を用いる必要があると考えられた。このためには、有機溶媒を含まないアルカリ性水溶液に溶解する非フェノール性芳香核のみを持つ β -O-4 型リグニンモデル化合物を合成し、これに対して酸素アルカリ処理を行う必要がある。

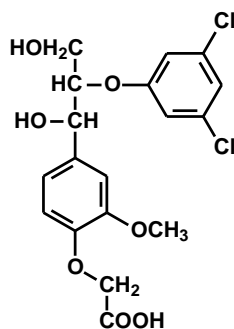
3-2-4 非フェノール性 β -O-4 型モデル化合物 methyl [4-[2-(3,5-dichlorophenoxy)-1,3-dihydroxypropyl]-2-methoxy]phenoxyacetate (carboxymethylated GDC, CMGDC)の酸素アルカリ処理における β -O-4 結合開裂の検討

3-2-4-1 目的

3-2-3-4 に記述したように、非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物を用いてこれと AOS との反応を検討する場合、このモデル化合物が有機溶媒を用いずにアルカリ性水溶液に溶解することが必要である。そこで、アルカリ性水溶液中で容易に加水分解してイオン化する官能基を持つ非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 methyl [4-[2-(3,5-dichlorophenoxy)-1,3-dihydroxypropyl]-2-methoxy]phenoxyacetate (carboxymethylated GDC, CMGDC, Fig.3-26)に注目した。このモデル化合物は、アルカリ性水溶液でそのメチルエステルが容易に加水分解され、カルボン酸アニオン構造を持つ [4-[2-(3,5-dichlorophenoxy)-1,3-dihydroxypropyl]-2-methoxy]phenoxyacetic acid (CMGDC', Fig.3-26)に変換されるため、A 環の非フェノール性は保持されるが、アルカリ性水溶液へ十分な溶解度を持つと考えられる。この章では、CMGDC を合成し、CMGDC に窒素アルカリ処理、酸素アルカリ処理、そして、VA を共存させた酸素アルカリ処理を行い、B 環が DCPh として遊離するかどうかを検討した。DCPh が遊離すれば、 β -O-4 結合の開裂が、AOS による CMGDC 側鎖の酸化に起因することが強く示唆される。



Methyl [4-[2-(3,5-dichlorophenoxy)-1,3-dihydroxypropyl]-2-methoxy]phenoxyacetate
Carboxymethylated GDC, CMGDC



[4-[2-(3,5-Dichlorophenoxy)-1,3-dihydroxypropyl]-2-methoxy]phenoxyacetic acid
CMGDC'

Fig.3-26 Structure of the model compounds used in this section

3-2-4-2 実験

Fig.3-27 に CMGDC の合成手順を示す。

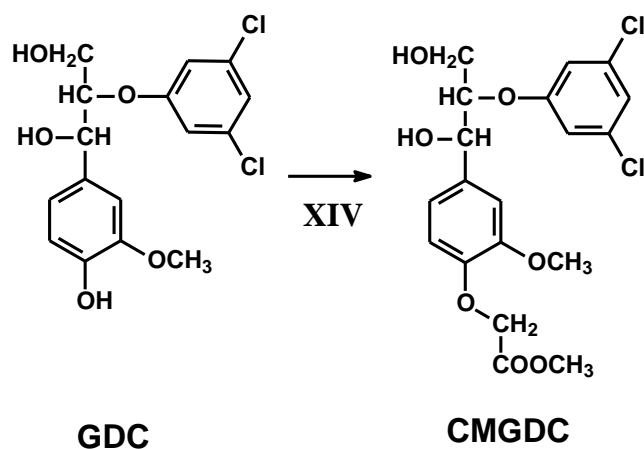


Fig.3-27 Synthetic route of CMGDC

XII フェノール性水酸基のカルボキシメチル化

GDC 1.57 g (4.37 mmol)を 200 ml 容ガラス製ナスフラスコ中でメタノール 50 ml に溶解し、ここに 28 %ナトリウムメトキシド/メタノール溶液 0.88 g を加えた。ロータリーエバポレーターで濃縮して、メタノールを十分取り除き、GDC のナトリウム塩を得た。ここに乾燥アセトン 100 ml とブromo酢酸メチル 0.67 g (4.38 mmol)、KI 0.18 g (1.08 mmol)を加え、40 °C 湯浴中で攪拌しながら反応させた。TLC で反応が進んだことを確認してから、自然ろ過で沈殿物を取り除き、ロータリーエバポレーターでアセトンを蒸発させ、シロップ状の物質 2.10 g を得た。このシロップを TLC で確認したところ、いくつかのスポットが見られたので、MS(DI)でこれらのマススペクトルを確認したところ、Rf 値 0.47 のスポットの親イオンピークが M/Z=431 を示した。この値が CMGDC の分子量と等しいこと、および、分裂パターンが CMGDC 由来のものと矛盾しないと考えられることによって、これが CMGDC であると判断した。中圧カラムクロマトグラフィーと分取用薄層クロマトグラフィーで単離・精製し、CMGDC 315 mg (0.85 mmol)を得た。反応出発物 GDC に対してモル収率は 19.4 %だった。

酸素アルカリ処理

上記の方法で合成した CMGDC に窒素アルカリ処理、酸素アルカリ処理、VA*1 酸素アルカリ処理、VA*10 酸素アルカリ処理を施した。

反応装置

4 種類のアルカリ処理に用いた反応装置は 3-2-1-2 に記述したものをを用いた。

反応溶液

反応溶液の調製に使用する器具は、あらかじめイオン交換水、超純水の順でよく洗浄し乾燥させた。溶液の調製に用いた 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液と 10 mol/l NaOH 水溶液は、3-2-1-2 に記述した方法で調製したものをを用いた。CMGDC の実験では以下の溶液を調製し反応に用いた。その調製を以下に示す。

No.14 CMGDC 77.6 mg を 300 ml 容キャップ付きポリエチレン製ボトルにとり、これに超純水 200 ml と 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml 加え、40 °C の湯浴中で 30 分かけて CMGDC の加水分解物である CMGDC' をアルカリ性水溶液に溶解させた。この溶液を 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml を加え、超純水でメスアップして 300 ml とした。これにより、CMGDC 0.6 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l の反応溶液を得た。

No.15 CMGDC 77.6 mg を 300 ml 容キャップ付きポリエチレン製ボトルにとり、これに超純水 200 ml と 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml 加え、40 °C の湯浴中で 30 分かけて CMGDC の加水分解物である CMGDC' をアルカリ性水溶液に溶解させた。この溶液を 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、VA 46.2 mg を加え、VA を完全に溶かした後、超純水でメスアップして 300 ml とした。これにより、CMGDC 0.6 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、VA 1.0 mmol/l の反応溶液を得た。

No.16 CMGDC 77.6 mg を 300 ml 容キャップ付きポリエチレン製ボトルにとり、これに超純水 200 ml と 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml 加え、40 °C の水浴中で 30 分かけて CMGDC の加水分解物である CMGDC' をアルカリ性水溶液に溶解させた。この溶液を 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、VA 462 mg を加え、VA を完全に溶かした後、超純水でメスアップして 300 ml とした。これにより、CMGDC 0.6 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、VA 10 mmol/l の反応溶液を得た。

No.14 の溶液を 2 回調製し、「窒素アルカリ処理」および「酸素アルカリ処理」にそれぞれ用い、No.15 の反応溶液は「VA*1 酸素アルカリ処理」に、そして No.16 の反応溶液は「VA*10 酸素アルカリ処理」に用いた。

反応装置

CMGDC のアルカリ処理には 3-2-1-2 に記述した反応装置を用いた。

分析

島津製高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を以下のような条件に設定し、分析を行った。

HPLC 測定条件

カラム : Luna 5u C18(2) 100A (phenomenex 製、長さ 250 mm)

移動層 : 0.1 mol/l 酢酸緩衝溶液 : メタノール = 45:55

流速 : 1.0 ml/min 分析時間 : 50 分 検出器 : PDA 検出波長 : 254nm

3-2-4-3 結果と考察

Fig.3-28 および Fig.3-29 に、CMGDC'の分解挙動、および、CMGDC'の分解に伴って生成した DCPH の生成挙動を、それぞれ示す。窒素アルカリ処理において、CMGDC'が時間経過と共に減少した(Fig.3-28)ことから、CMGDC'はアルカリの作用によって分解されることが示された。DCPh の生成量は CMGDC'の分解量よりもかなり少なく(Fig.3-29)、CMGDC'の分解は β -O-4 結合の開裂だけでなく、何らかの別の反応に起因している事が示唆される。この結果は、これまでに用いてきたモデル化合物と異なる。したがって、カルボキシメチル基の存在が、この CMGDC'の分解に関与するのかも知れない。

窒素アルカリ処理および酸素アルカリ処理における CMGDC'の分解挙動を比較すると、後方で分解が少し多い。この結果から、CMGDC'はアルカリ性水溶液中では分子状酸素によって分解される可能性が考えられる。なお、カルボキシメチル基は本実験条件下では分子状酸素と反応しない事が知られている³⁴⁾。CMGDC'がアルカリの作用によって分解した際の分解生成物と分子状酸素が反応して AOS が発生し、これらが CMGDC'を分解する可能性も考えられる。DCPh の生成量は窒素アルカリ処理と同様に、CMGDC'の分解量よりもかなり少なく、 β -O-4 結合の開裂以外の反応によって CMGDC'が分解されている事が示唆される。

AOS による CMGDC'の分解を検討するために、酸素アルカリ処理および VA を添加した酸素アルカリ処理における CMGDC'の分解挙動を比較すると、これらの間に大きな相違はなかった。この結果から、VA と分子状酸素との反応から発生する AOS は、CMGDC'をほとんど分解しない可能性が考えられる。しかし、DCPh 生成量は VA が共存すると増加しており、系中に AOS 発生源である VA が存在すると、CMGDC'分解量自体はほとんど変化なくても、その β -O-4 結合の開裂は多少促進されることが示唆される。

以上のように、CMGDC'は酸素アルカリ処理においてアルカリの作用によって分解され、また分子状酸素が系中に存在することで分解はやや促進される。しかし、分子状酸素と VA との反応から発生する AOS による CMGDC'の分解は、明瞭には確認されなかった。一方、 β -O-4 結合の開裂指標である DCPH の生成量は、系中に酸素または酸素と AOS が存在することによって、少し促進された。このことは β -O-4 結合の開裂が AOS によって促進されることを示唆する。

CMGDC は、メチルエステル基がアルカリ性水溶液中で加水分解されてカルボキシレートに変換されるため、アルカリ性水溶液に溶解する。しかし、これがマイナスイオンを帯びていることが、AOS との反応に影響する可能性が考えられる。Gierer ら⁴³⁾は、酸素漂白中でフェノール性部位と分子状酸素の反応から生成する AOS は、反応機構から考えて、スーパーオキシドアニオンラジカル($\cdot\text{O}_2^-$)、 $\cdot\text{OH}$ 、そして $\cdot\text{OH}$ の共役塩基であるオキシルアニオンラジカル($\cdot\text{O}^-$, pKa=11.9)等が主要ではないかと報告した。また、Yokoyama ら³²⁾は、AOS 生成源として 2,4,6-trimethylphenol を系中に添加した酸素アルカリ処理において、非フェノール性リグニンモデル化合物 veratryl alcohol(構造は Fig.1-13)と糖モデル化合物 methyl β -D-glucopyranoside(MGP, Fig.3-24)の AOS による分解速度を比較し、pH=13.1 以上

では、veratryl alcohol より MGP の方がかなり速く分解されることを報告した。Gierer ら、Yokoyama らの結果から、酸素アルカリ処理中では芳香環と電氣的に反発するような AOS、例えばマイナスイオンを持つ AOS が生成している可能性が示唆される。このような AOS が発生している場合、マイナスに帯電した CMGDC' と AOS とは電氣的に反発して反応し難いかも知れず、3-2 で用いた VG のような一般的なリグニンモデル化合物とは AOS との反応性が異なる可能性がある

したがって、より詳細な AOS による β -O-4 結合の開裂機構を検討するためには、イオン化することなくアルカリ性水溶液に溶解する非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物を用いる必要がある、と考えられる。

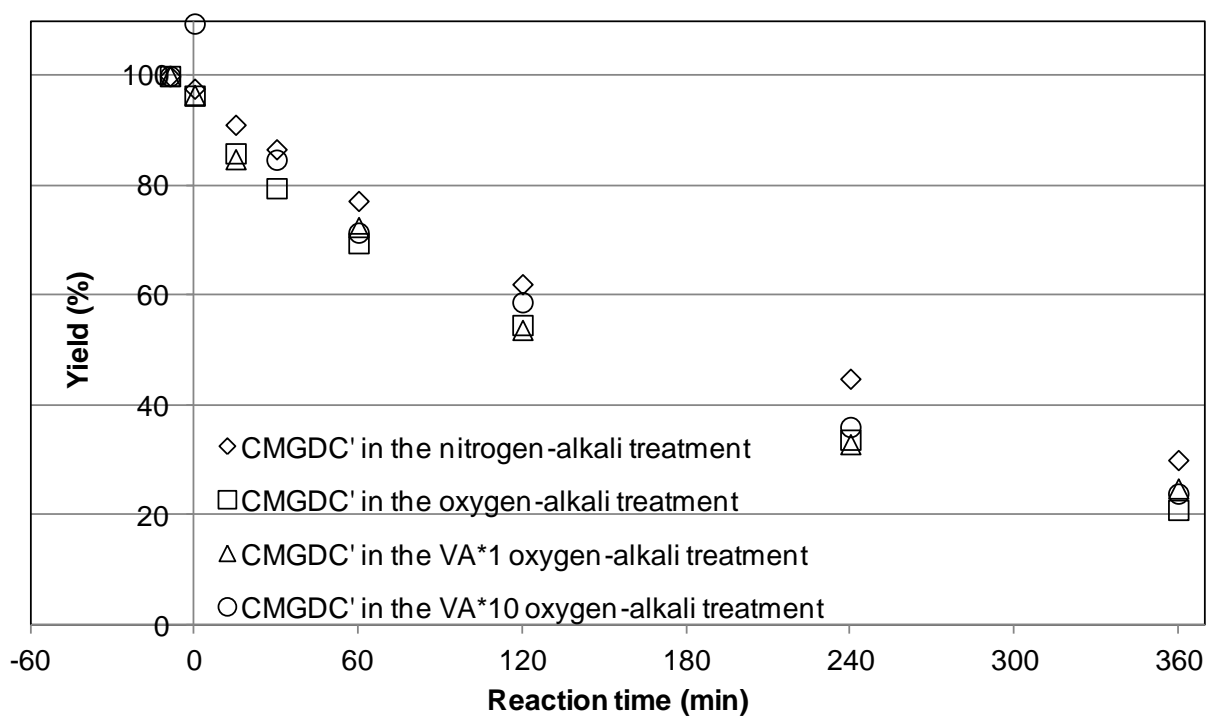


Fig.3-28 Change in the yield of CMGDC' in the nitrogen-, oxygen-, VA*1 oxygen-, or VA*10 oxygen-alkali treatment of CMGDC'

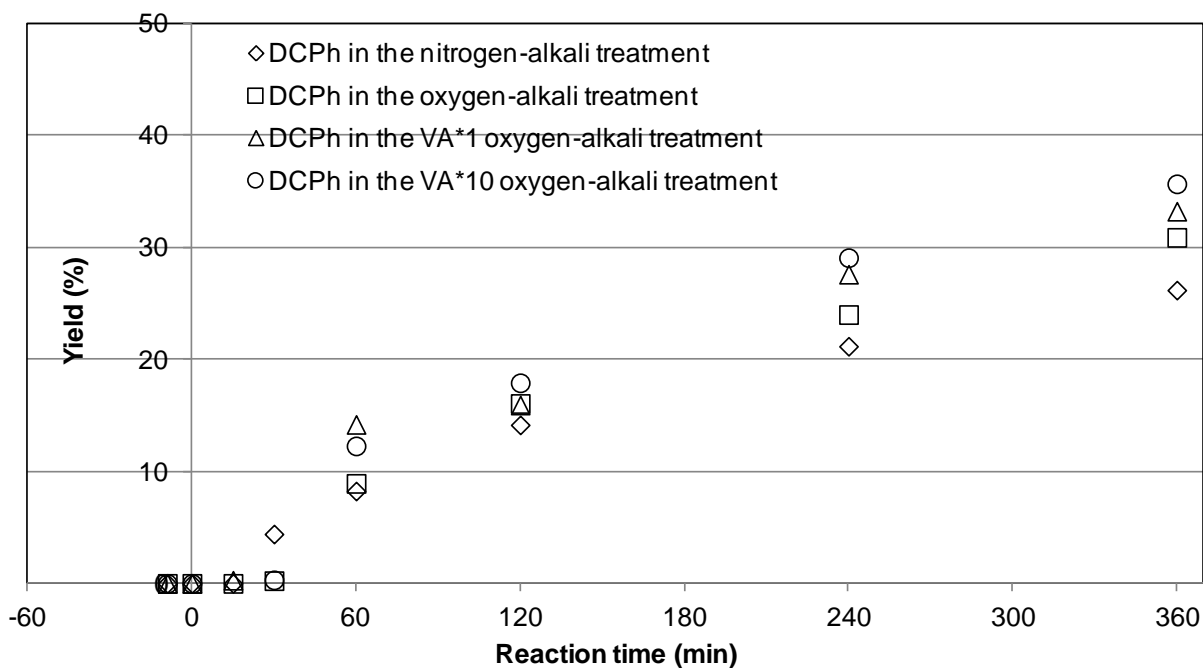
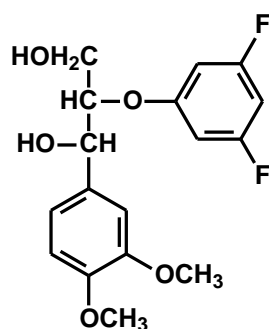


Fig.3-29 Change in the yield of DCPH in the nitrogen-, oxygen-, VA*1 oxygen-, or VA*10 oxygen-alkali treatment of CMGDC'

3-2-5 非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol (veratrylglycerol- β -difluorophenyl ether, VDF)の酸素アルカリ処理における β -O-4 結合開裂の検討

3-2-5-1 目的

3-2-4-3に記述したように、より詳細なAOSによる β -O-4結合の開裂機構を検討するために、酸素アルカリ処理中でAOSに対して比較的安定であるB環を持ち、一部がイオン化することなくアルカリ性水溶液に溶解する非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物を、酸素アルカリ処理に用いる必要がある。そこで、非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol(VDF, Fig.3-30)に注目した。VDFはB環として3,5-difluorophenoxy基を持つため、VDFが分解し β -O-4結合が開裂した際には、DFPhが系中に遊離する。DFPhは、AOSが発生する酸素アルカリ処理においても安定であることから(Fig.3-9)、これを検出することで β -O-4結合開裂が定量的に検討できると考えられる。



2-(3,5-Difluorophenoxy)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)propane-1,3-diol
Veratrylglycerol- β -difluorophenyl ether, VDF

Fig.3-30 Structure of the model compound used in this section

B環にDFPhを用いることで、非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物が有機溶媒を用いることなくアルカリ水溶液に溶解することを期待した理由を、以下に記す。

ハロゲン化アルキルの水溶液に対する溶解性を比較すると、アルキル鎖が同一のものであれば、フッ化アルキルが最も高く、塩化アルキル、臭化アルキル、そして、ヨウ化アルキルの順にこれが低下する⁴⁴⁾。このことから、B環に3,5-dichlorophenoxy基を持つVDCは水溶液に溶解しなかったものの、B環に3,5-difluorophenoxy基を持つVDFであれば、水溶液に溶解する可能性があると考えた。

Table 3-1に各元素の電気陰性度を示す。電気陰性度は絶対値ではなく、元素間における相対値であり、Fが4.0、Csが0.7になるように便宜上決められている。この元素間における電気陰性度の差から、これら元素間の化学結合の極性を見当をつけることができる。

DCPhの3位と5位に存在するClを例にとると、Cl-H間における電気陰性度の差は0.9であり、この値はO-H間の1.4より小さい。これはCl-H間よりO-H間の方が、極性が大きい

い事を示す。

一方、DFPh の 3 位と 5 位に存在する F 原子に注目すると、F-H 間の電気陰性度の差は 1.9 であり、F-H 間の結合は O-H 間の結合よりも極性が大きいと予想される。これらのことから、DFPh を B 環に持つ VDF は水溶液中に溶解するのではないかと期待した。

Table 3-1 List of electronegativity of some elements

1	2	11	12	13	14	15	16	17	
H 2.1									
Li 1.0	Be 1.5				B 2.0	C 2.5	N 3.0	O 3.5	F 4.0
Na 0.9	Mg 1.2				Al 1.5	Si 1.8	P 2.5	S 2.5	Cl 3.0
K 0.8	Ca 1.0								Br 2.8
Rb 0.8									I 2.5
Cs 0.7									

3-2-5-2 実験

VDF の合成経路を Fig.3-31 に示す。

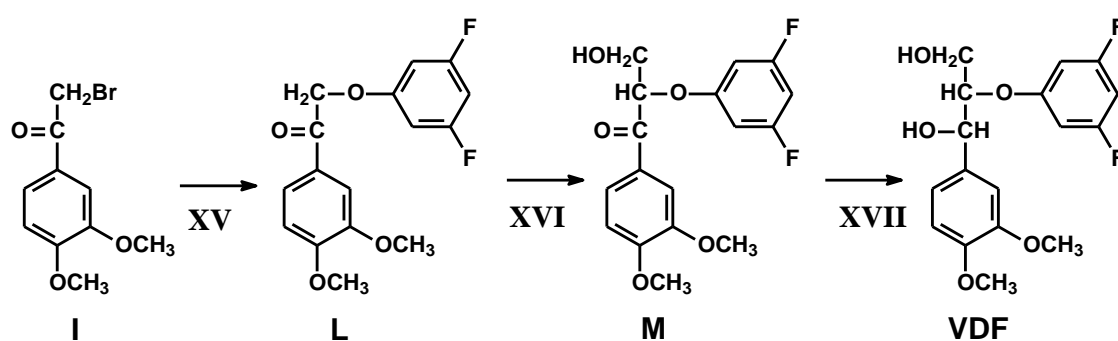


Fig.3-31 Synthetic route of VDF

XV β -O-4 結合の生成

DFPh 0.77 g (5.92 mmol) を 200 ml 容ガラス製ナスフラスコ中でメタノール 40 ml に溶解し、28% ナトリウムメトキシド/メタノール溶液 1.13 g (5.86 mmol) を加えた。濃縮してメタノールを十分取り除き、DFPh のナトリウム塩を得た。ここに乾燥アセトン 50 ml 加え、よく

かき混ぜて溶解させた。これに 3-4-2 の X の方法で合成した 1-acetyl-3,4-dimethoxybenzene の臭素化物(I) 1.51 g (5.83 mmol)を溶解させた乾燥アセトン 40 ml を 45 °C 湯浴中でゆっくり滴下して反応させた。反応の進行を TLC で確認した後、生成した KBr を自然ろ過で取り除き、さらにロータリーエバポレーターで大部分のアセトンを蒸発させた。これに 0.1 N の NaOH 水溶液 150 ml を加え、ジクロロメタン 50 ml で 3 回抽出し、ジクロロメタン層を合わせて水 100 ml で 3 回洗浄の後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。ジクロロメタン層を自然ろ過の後、ロータリーエバポレーターで濃縮して固形物を得た。この固形物 HPLC で確認したところ、主要構成物は出発物および DFPh とは異なる物質であったため、この固形物が(L)を含んでいるとみなし。(L)を含む固形物 2.22 g を得た。

XVI アルドール縮合によるホルムアルデヒド付加

XV で得た固形物(L) 2.22 g を 300 ml 容ガラス製ナスフラスコ中で THF 100 ml に溶解させ、そこに 37 % formaldehyde 水溶液 1.0 ml(formaldehyde あたり 15.4 mmol)と K₂CO₃ 0.99 g (7.20 mmol)を加え、40 °C の湯浴中で 240 分反応させた。反応終了後、HCl で水溶液を酸性にしてクロロホルム 50 ml で 3 回抽出し、クロロホルム層を合わせて水 100 ml で 3 回洗浄の後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。クロロホルム層を自然ろ過の後、ロータリーエバポレーターで濃縮してシロップ 2.52 g を得た。このシロップを TLC で確認したところ、(L)以外の物質が含まれていることが分かったため、これを酢酸エチルとヘキサンを用いて結晶化し、(M)が主要成分だと思われる結晶 1.20 g を得た。

XVII α -位カルボニル基のヒドリド還元

XVI で得た結晶 1.20 g (全て M だと仮定すると 3.55 mmol)を 300 ml 容ガラス製ナスフラスコ中でエタノール 100 ml に溶解し NaBH₄ 150 mg (3.95 mmol)加え、攪拌しながら 1 晩反応させた。反応終了後、酢酸を加えて残存している NaBH₄ を分解した。それに水を加えた後、酢酸エチル 50 ml で 3 回抽出し、酢酸エチル層を合わせて水 100 ml で 3 回洗浄の後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。酢酸エチル層を自然ろ過の後、ロータリーエバポレーター濃縮してシロップを得た。このシロップを NMR で分析し、NMR スペクトルからこのシロップが VDF であることが分かり、VDF 1.17 g (3.44 mmol)を得た。Fig.3-32、Fig.3-33 のそれぞれに VDF の ¹H-NMR スペクトル、および ¹³C-NMR を示す。出発物質である(I)に対する収率は 60.9 %だった。

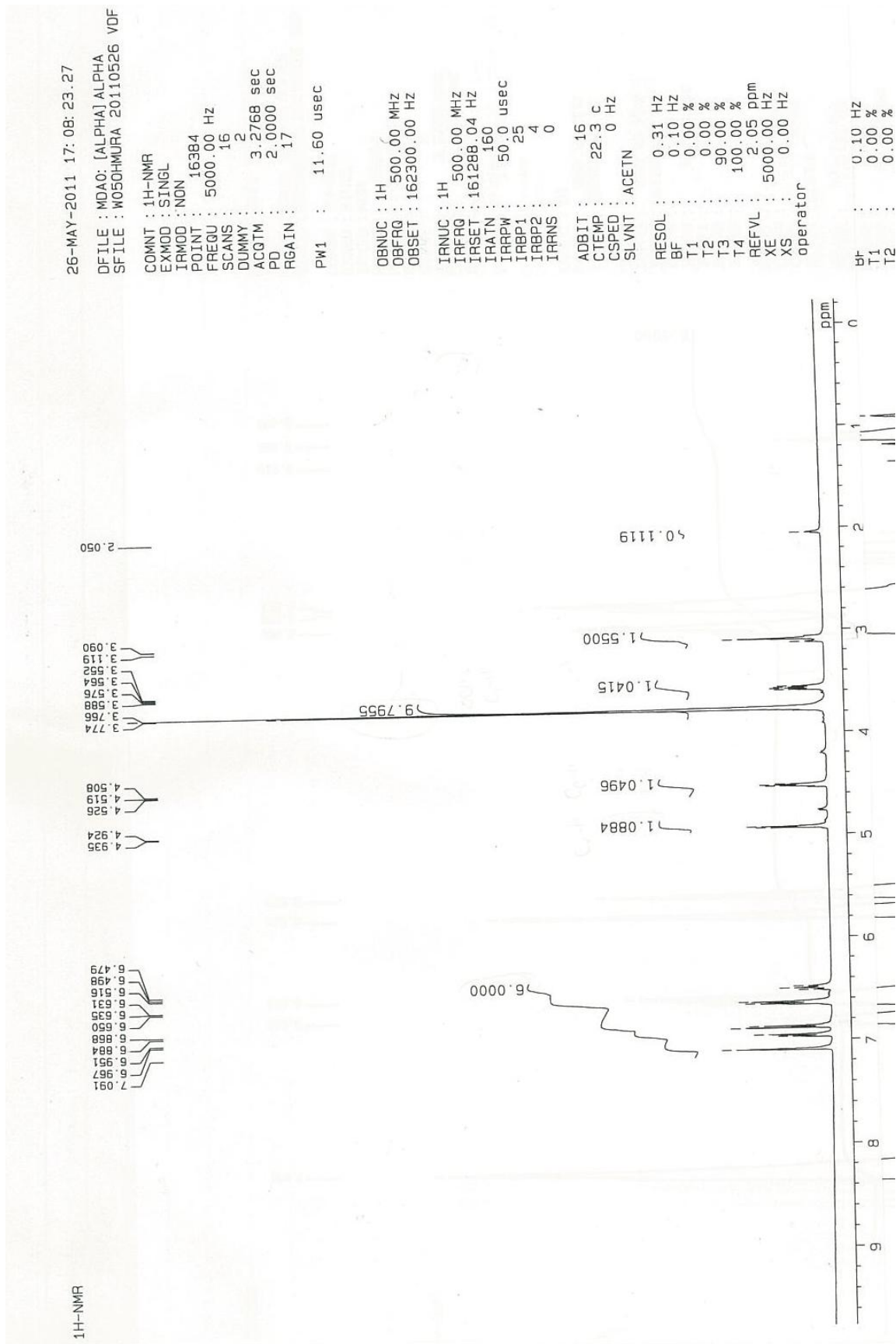


Fig.3-32 ¹H-NMR spectrum of VDF

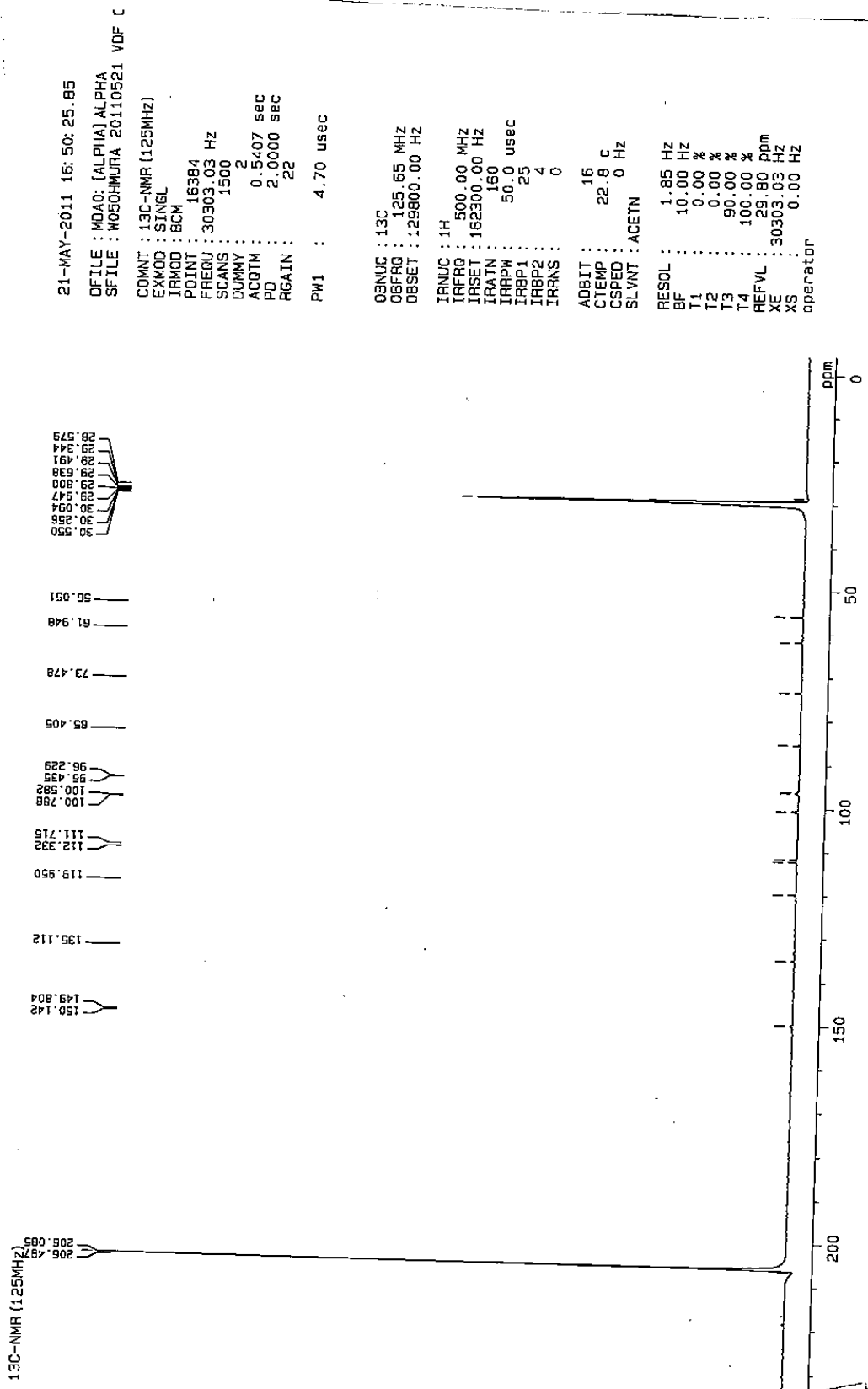


Fig.3-33 ¹³C-NMR spectrum of VDF

超純水に対する VDF の溶解性

上記の方法で合成した VDF 102 mg を 300 ml 容ポリエチレン製キャップ付きボトルにとり、これに超純水 250 ml 加え 70 °C 湯浴中で 2 日間おき、VDF を超純水に溶解させることを試みた。2 日後、VDF が完全に超純水に溶解したように見えたので、この溶液を 30 °C まで冷やした後 HPLC で分析した。30 °C まで冷やした際、ボトル内に沈殿物の生成は見られなかった。HPLC を用いた検量線法で VDF の定量し、VDF は水溶液に完全に溶解していること、そして VDF の分解が引き起こされていないことが確認されたため、酸素アルカリ処理中で AOS に対して比較的安定である B 環を持ち、モデル化合物の一部がイオン化することなく水溶液に溶解する非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物、VDF の酸素アルカリ処理を行った。

酸素アルカリ処理

上記の方法で合成した VDF に窒素アルカリ処理、酸素アルカリ処理、VA*1 酸素アルカリ処理、そして、VA*10 酸素アルカリ処理をそれぞれ施した。

反応装置

4 種類のアリカリ処理には、3-2-1-2 に記述した反応装置を用いた。

反応溶液

反応溶液の調製に使用する器具は、あらかじめイオン交換水、超純水の順でよく洗浄し乾燥させた。

VDF の実験では以下の溶液を調製し反応に用いた。その調製を以下に示す。溶液の調製に用いた 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液と 10 mol/l NaOH 水溶液は、3-2-1-2 に記述した方法で調製したものをを用いた。

No.17 VDF102 mg を 300 ml 容ポリエチレン製キャップ付きボトルにとり、これに超純水 250 ml を加え、70 °C 湯浴中で 2 日間おき、VDF を超純水に溶解させた。VDF をすべて超純水に溶解させた後、溶液を室温まで冷却し、300 ml 容ガラス製メスフラスコに移した。これに、10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml を入れ、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、VDF 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l の溶液を得た。

No.18 VDF102 mg を 300 ml 容ポリエチレン製キャップ付きボトルにとり、これに超純水 250 ml を加え、70 °C 湯浴中で 2 日間おき、VDF を超純水に溶解させた。VDF をすべて超純水に溶解させた後、溶液を室温まで冷却し、300 ml 容ガラス製メスフラスコに移した。これに、10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、VA 46.2 mg を入れ、VA を完全に溶かした後、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、VDF 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、VA 1.0 mmol/l の溶液を得た。

No.19 VDF102 mg を 300 ml 容ポリエチレン製キャップ付きボトルにとり、これに超純水

250 ml を加え、70 °C 湯浴中で 2 日間おき、VDF を超純水に溶解させた。VDF をすべて超純水に溶解させた後、溶液を室温まで冷却し、300 ml 容ガラス製メスフラスコに移した。これに、10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、VA 462 mg を入れ、VA を完全に溶かした後、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、VDF 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、VA 10 mmol/l の溶液を得た。

No.17 の溶液は 2 回調製し、「窒素アルカリ処理」、「酸素アルカリ処理」にそれぞれ用いた。No.18 の溶液は「VA*1 酸素アルカリ処理」に、No.19 の溶液は「VA*10 酸素アルカリ処理」に用いた。

反応

3-2-1-2 に記述した方法に従った。内部標準液は 2 mmol/l 2,3-dichlorophenol メタノール溶液を用いた

分析

島津製高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を以下のような条件に設定し、VDF の分析を行った。

HPLC 測定条件

カラム：Luna 5u C18(2) 100A (phenomenex 製、長さ 150 mm)

移動層：水:メタノール (90:10—10 min—90:10—15 min—20:80—5 min—20:80)

流速：1.0 ml/min 分析時間：30 分

検出器：PDA 検出波長：254 nm

3-2-5-3 結果と考察

VDF および VA の分解挙動を Fig.3-34 に、そして、VDF の分解に伴う DFPh の生成挙動を Fig.3-35 に、それぞれ示す。

窒素アルカリ処理において、時間経過とともに VDF が減少していることから、VDF は酸化反応が関与しないアルカリの作用によって分解されることが示された。このとき、DFPh の生成量は VDF の分解量より少なく、VDF の分解は β -O-4 結合の開裂だけでなく、何らかの別の反応によっても引き起こされることが示唆される。この VDF の分解は、前項で示した窒素アルカリ処理における GDF(構造は Fig.3-7)の分解と比較して、非常に速いことがわかる。GDF は A 環がフェノール性であるためアルカリによってキノンメチド構造変換され得る。その結果、 α -位アルコキシド基からの分子内 S_N2 反応による β -O-4 結合の開裂が、VDF と比較して抑制されると考えられる。また、窒素アルカリ処理における分解は、VDF の方が VG よりもかなり速かった。これは、VDF の β -O-4 結合開裂で脱離基となる 3,5-difluorophenoxy 基の脱離能が、VG の β -O-4 結合開裂で脱離基となる 2-methoxyphenoxy 基の脱離能よりもかなり高いことに起因すると考えられる。

酸素アルカリ処理における VDF の分解および DFPh の生成挙動は、窒素アルカリ処理の場合とほぼ等しかったことから、VDF が分子状酸素に対して安定であることが示された。

前述のように、酸素アルカリ処理における VDF の分解挙動と、VA を添加した酸素アルカリ処理におけるこの分解挙動を比較することで、AOS による VDF の分解を検討することができると考えられる。また、DFPh の生成量についても同様である。

VA を添加した酸素アルカリ処理では、VA を添加していない場合よりも、VDF の分解量および DFPh の生成量が多かった。前述のように、本実験条件下では AOS が生成していても、veratryl alcohol(Fig.1-14)はかなり安定である³²⁾ので、AOS は A 環をあまり攻撃しないと考えられる。したがって、VA を添加することによって VDF の分解および DFPh の生成が促進されたという結果は、VDF の側鎖が AOS によって攻撃されたため、 β -O-4 結合の開裂が引き起こされたことを示唆する。VA の添加量が多い場合にその相違(10 倍量)を考慮すると、VDF の分解量および DFPh の生成量が VA の添加量に大きな影響を受けたとは言い難い。これは、VA 自身が AOS の補足剤として働き得ることと関係があるかも知れない。

VA を添加した酸素アルカリ処理における VDF の分解および DFPh の生成は、同様の処理、すなわち AOS が生成する酸素アルカリ処理、における GDF の分解および DFPh の生成と比較して、著しく遅い。この差は、GDF からの B 環の遊離の場合には、A 環の開環反応に起因する β -O-4 結合の開裂機構(Fig.3-19)が関与するためと考えられる。3-2-2-3-2 に記述したが、酸素アルカリ処理における GDF からの DFPh の生成、次の 2 つの経路による。すなわち、①GDF の A 環と酸素との反応で生成した AOS が GDF の側鎖を攻撃し、その結果として、 β -O-4 結合が開裂して DFPh が遊離する(Fig.3-18)。②A 環と酸素との反応によって A 環がムコン酸誘導体に酸化される。このムコン酸誘導体自体、あるいは、ムコン酸誘導体がさらに酸化された構造に対してアルカリの作用による β -脱離反応が起こり、その結果として、 β -O-4 結合が開裂して DFPh が生成する(Fig.3-19)。上記のように、GDF か

らの DFPh の生成が、VDF からのそれよりも著しく速いことは、GDF からの DFPh の遊離においては、②の機構が主要であることを示唆する。しかし、本項では、生成した AOS によって VDF の側鎖が酸化され、その結果として β -O-4 結合が開裂して DFPh が遊離する機構が明らかに存在することが強く示唆された。

AOS による非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物の分解において、B 環にフッ素が存在することの影響を考察するために、酸素アルカリ処理および VA を添加した酸素アルカリ処理におけるリグニンモデル化合物の分解量の差について、VG と VDF について比較を行う(Fig.3-36)。Fig.3-36 から、AOS による VG と VDF の分解量の間には、大きな差はないことが分かる。この結果から、AOS による非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物の攻撃において、B 環に存在するフッ素は大きな影響を及ぼさないことが示唆される。

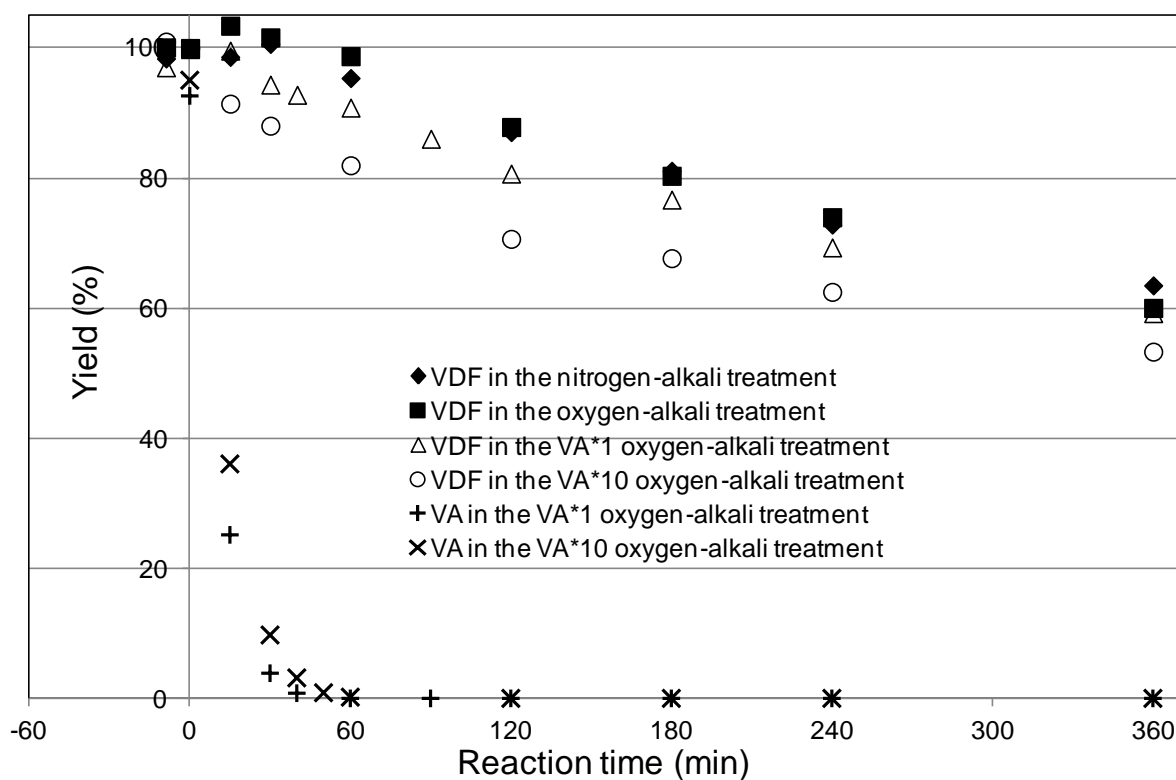


Fig.3-34 Change in the yields of VDF and VA in the nitrogen-, oxygen-, VA*1 oxygen-, or VA*10 oxygen-alkali treatment.

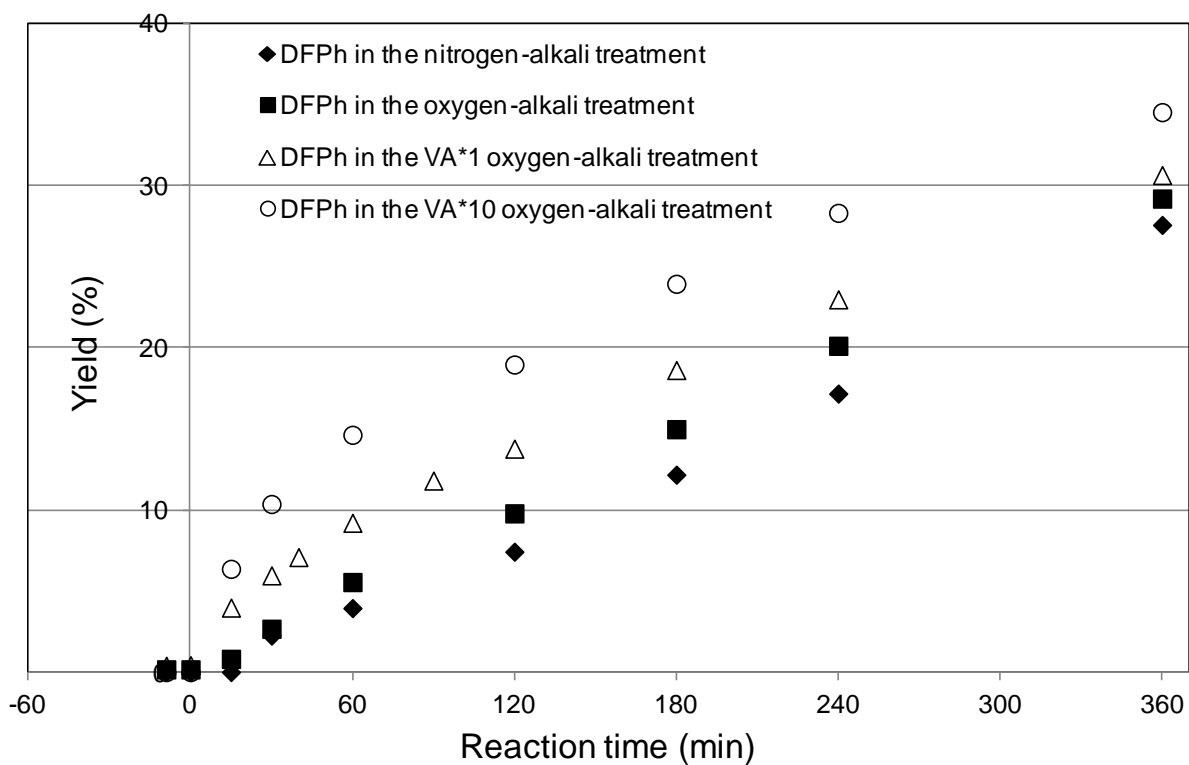


Fig.3-35 Change in the yield of DFPPh in the nitrogen-, oxygen-, VA*1 oxygen-, and VA*10 oxygen-alkali treatment

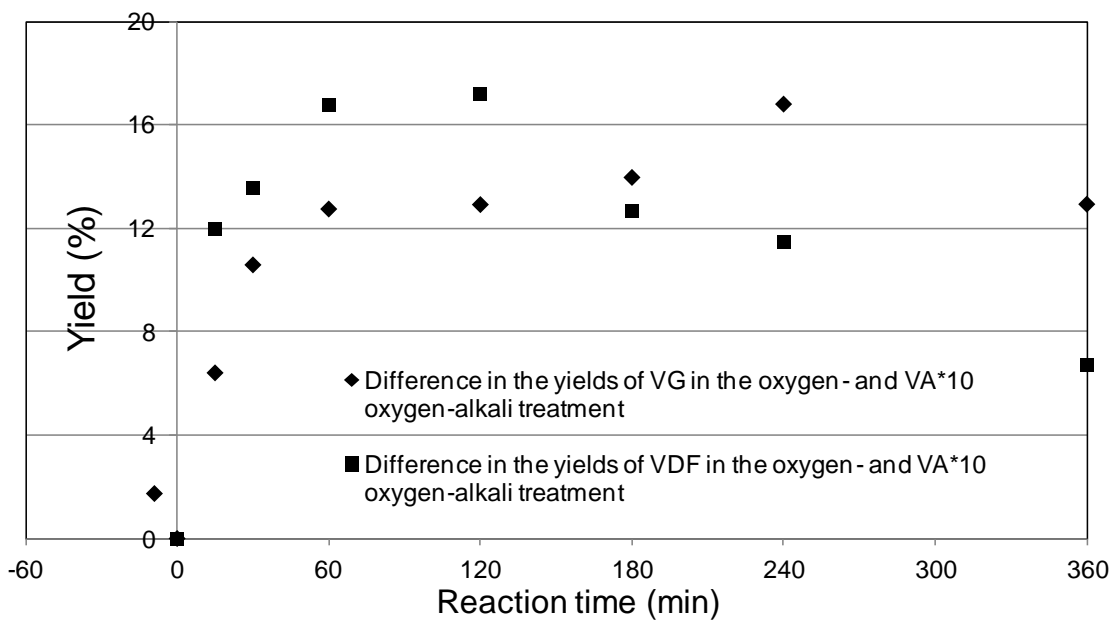


Fig.3-36 Differences in the yield of VG or VDF between the oxygen- and VA*10 oxygen-alkali treatments

3-3 本章のまとめ

酸素アルカリ処理における、 β -O-4 結合の開裂を検討するために、6 種類の β -O-4 型リグニンモデル化合物を合成し、それぞれに、窒素、酸素、そして、VA を添加した酸素アルカリ処理を行った。これらより、 β -O-4 型リグニンモデル化合物のアルカリの作用による分解、分子状酸素による分解、および、AOS による分解、そしてそれらの化合物の分解のうち β -O-4 結合開裂に伴って生成する B 環の生成を、検討した。

一般的な非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物である VG は、アルカリの作用、および、分子状酸素に対してはかなり安定であり、そして、AOS によって分解されることが示された。しかし、 β -O-4 結合が開裂することによって生成する、guaiacol は、酸素アルカリ処理中で分解されるため、検出されなかった。この結果から、 β -O-4 結合開裂を定量的に検討するためには、分子状酸素および AOS に対して抵抗性を持つフェノール性化合物を B 環として持つ β -O-4 型リグニンモデル化合物を使用しなければならないことが、明らかになった。

分子状酸素および AOS による分解に対して十分な抵抗性を持つフェノール性化合物 DCPH または DFPH を B 環として持つ、フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 GDC および GDF に酸素アルカリ処理を行ったところ、両化合物ともにアルカリの作用によって分解され、 β -O-4 結合が開裂するが、系中に酸素が存在することで、両化合物の分解とこれらの β -O-4 結合の開裂が著しく促進された。この結果から、本研究の目的の一つであり、Tong、Imai によって示された“リグニンの酸素アルカリ処理において、その側鎖の酸化分解に伴い β -O-4 結合が開裂し、非フェノール性ユニットがフェノール性ユニットに変換されるため、元々非フェノール性であったユニットの酸素酸化が十分に進行する”の現象が実際に起こることが確認された。しかし、この β -O-4 結合の開裂が、AOS による側鎖の酸化に起因するのかどうかについては、明らかにできなかった。

AOS による側鎖の酸化に起因する β -O-4 結合開裂の有無を検討するために、B 環に DCPH を持ち A 環が非フェノール性である β -O-4 型リグニンモデル化合物 VDC を酸素アルカリ処理した。VDC がアルカリ水溶液に不溶であったため、比較的 AOS と反応し難いであろう有機溶媒 *t*-BuOH を共溶媒として用いた。VDC は系中に AOS が生成しているに関わらず全く分解しなかった。この現象には、*t*-BuOH の存在が影響したと考えられるため、*t*-BuOH 等の有機溶媒を含まない反応系を用いる必要があることが示唆された。

カルボキシル基を持つため有機溶媒を含まないアルカリ性水溶液に溶解する非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 CMGDC' を VA と共に酸素アルカリ処理した。CMGDC' の β -O-4 結合は AOS によって開裂が促進されるものの、CMGDC' の分解挙動に対しては AOS の明瞭な影響は確認されなかった。この結果から、AOS による非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物の分解、および、 β -O-4 結合の開裂を詳細に検討するためには、イオン化することなくアルカリ性水溶液に溶解する化合物を使用する必要があることが分かった。

次に、有機溶媒を含まないアルカリ水溶液に溶解する DFPH を B 環として持つ非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 VDF を、酸素アルカリ処理した。VDF は分子状酸素に対しては安定であったが、アルカリの作用によって分解し、 β -O-4 結合の開裂が引き起こさ

れた。系中に、分子状酸素と反応して AOS を生成するフェノール性化合物 VA を加えることで、VDF の分解、および、B 環由来の DFPh の生成量が促進されたことから、AOS による VDF の酸化分解、および、 β -O-4 結合の開裂が促進されたと考えられた。本研究における酸素アルカリ処理条件では、VDF の A 環および B 環部位は、酸素アルカリ処理中で AOS によって酸化されにくいため、AOS は主に側鎖部位を酸化することによって VDF を分解し、その結果として、 β -O-4 結合が開裂することが示唆された。

第 4 章

活性酸素種の攻撃においてリグニン側鎖部位水酸基
の種類が及ぼす影響に関する検討

4-1 緒言

第3章の結果から、酸素漂白中において、リグニン中の β -O-4結合を構成する非フェノール性芳香環が、この結合が開裂することによって、フェノール性芳香環に変換されることが示された。この非フェノール性のフェノール性への変換は、フェノール性リグニン部位と分子状酸素との反応から生成する活性酸素種(Active Oxygen Species, AOS)によって、 β -O-4結合のアルキル側鎖部位が攻撃されることに起因することが示唆された。

本章では、AOSによる側鎖の酸化をより詳しく検討するために、異なる側鎖構造を持つモデル化合物に対して酸素アルカリ処理を施し、その分解挙動およびB環であるDFPhの生成挙動を比較検討した。

Maekawa ら⁴¹⁾は、数種類の糖モデル化合物となるアルジトール類に酸素アルカリ処理を施した結果、第2級水酸基を持たない ethylene glycol や pentaerythritol より、これを持つ glycerol や erythritol の方が、AOSによって分解されやすいことを報告した(Fig.4-1)。

また Yokoyama ら⁴²⁾は、酸素アルカリ処理中に分子状酸素と 2,4,6-trimethylphenol (TMPh, Fig.4-1)との反応から発生する AOS は、ベンジル位に第1級水酸基を持つ veratryl alcohol (Fig.4-1)よりここに第2級水酸基を持つ 1-(3,4-dimethoxyphenyl)ethane-1,2-diol (veratryl glycol, Fig.4-1)の方を分解しやすいことを報告した。

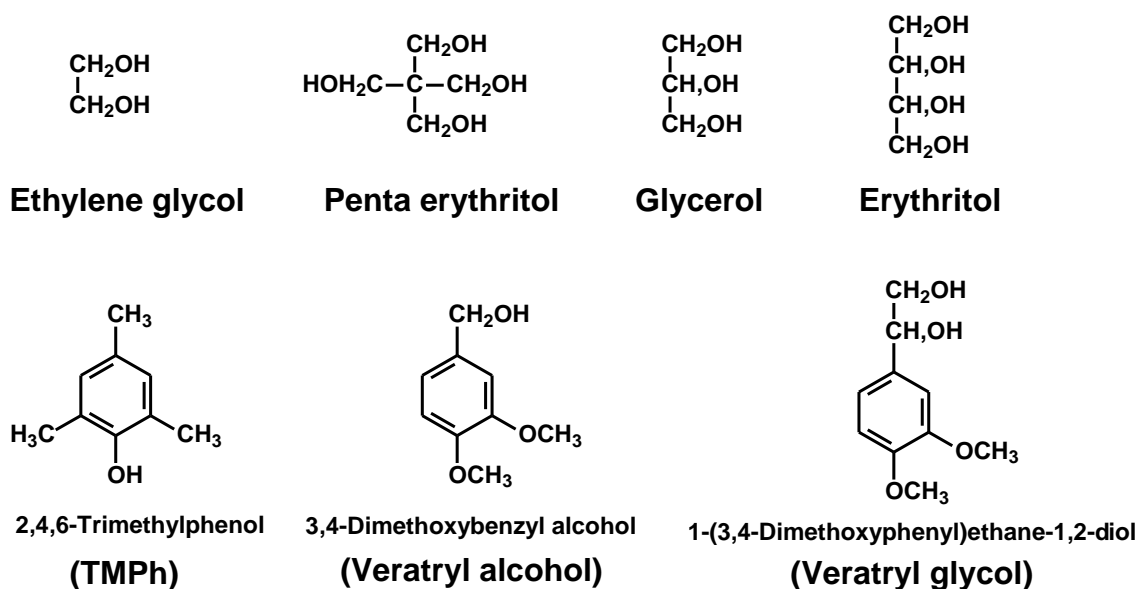


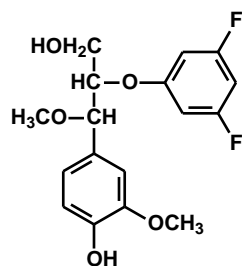
Fig.4-1 Structure of the model compounds used in the paper of Maekawa *et al.* and Yokoyama *et al.*

これらの報告から、AOS と側鎖部位との反応では、第 2 級水酸基の存在が重要であり、これを構成するヒドロキシメチレン基の炭素が、第 1 級水酸基を構成するヒドロキシメチル基の炭素よりも攻撃されやすい可能性が考えられる。

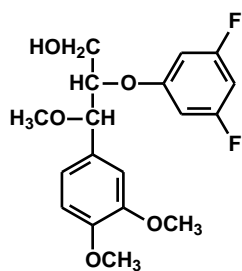
これらを背景に本章では、酸素アルカリ処理中での AOS の側鎖部位酸化において、ヒドロキシメチレン基が攻撃されやすいかどうか、そして、ベンジル位がヒドロキシメチレン基であることの影響、について検討することを目的とした。

まず、ベンジル位である α -位水酸基をメチル化したフェノール性および非フェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-methoxypropan-1-ol (α -methylated guaiacylglycerol- β -difluorophenyl ether, α -OMe-GDF, Fig. 4-2) および 2-(3,5-difluorophenoxy)-3-methoxy-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propan-1-ol (α -methylated veratrylglycerol- β -difluorophenyl ether, α -OMe-VDF, Fig.4-2) に酸素アルカリ処理を施し、これらの結果を前章で得られた α -位に水酸基をもつ GDF および VDF の結果とそれぞれ比較することによって、AOS による側鎖の酸化における α -位水酸基の存在の影響を検討した。

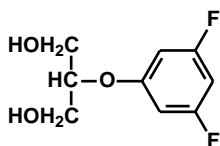
次に、側鎖構造の影響を詳しく検討するため、3,5-difluorophenoxy 基とアリアルエーテル結合した 2 つのプロピルジオール誘導体、すなわち、ヒドロキシメチル基のみを持ち、ヒドロキシメチレン基を持たないモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)propane-1,3-diol (propane-1,3-diol-difluorophenyl ether, PDF, Fig.4-2)、および、ヒドロキシメチルおよびヒドロキシメチレン基双方を持つ 3-(3,5-difluorophenoxy)propane-1,2-diol (propane-1,2-diol-difluorophenyl ether, PDF-2, Fig.4-2) を酸素アルカリ処理し、これらの結果を比較することによって、AOS の側鎖の酸化における第 1 級および第 2 級水酸基の存在の影響を検討した。



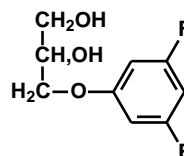
2-(3,5-Difluorophenoxy)-3-methoxy-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)propan-1-ol
 (α -Methylated guaiacylglycerol- β -difluorophenyl ether, α -OMe-GDF)



2-(3,5-Difluorophenoxy)-3-methoxy-(3,4-dimethoxyphenyl)propan-1-ol
 (α -Methylated veratrylglycerol- β -difluorophenyl ether, α -OMe-VDF)



2-(3,5-Difluorophenoxy)propane-1,3-diol
 (Propane-1,3-diol-difluorophenyl ether, PDF)



3-(3,5-Difluorophenoxy)propane-1,2-diol
 (Propane-1,2-diol-difluorophenyl ether, PDF-2)

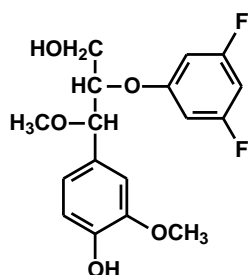
Fig.4-2 Structure of the model compounds used in this chapter.

4-2 AOS の攻撃に基づく β -O-4 結合開裂機構における α -位水酸基の影響

4-2-1 α -位水酸基をメチル化したフェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-methoxypropan-1-ol (α -methylated guaiacylglycerol- β -difluorophenyl ether, α -OMe-GDF) の酸素アルカリ処理における β -O-4 結合の開裂

4-2-1-1 目的

本項では 4-1 で記述したように、 α -位水酸基の存在が AOS との反応に及ぼす影響について検討するため、A 環がフェノール性で α -位にメトキシル基をもつ 2-(3,5-difluorophenoxy)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-methoxypropan-1-ol (α -methylated guaiacylglycerol- β -difluorophenyl ether, α -OMe-GDF, Fig.4-3) を酸素アルカリ処理に供し、その結果を A 環がフェノール性で α -位に水酸基をもつ GDF (Fig.3-7) と比較した。なお、 α -OMe-GDF は A 環がフェノール性であるため、これと分子状酸素が反応し、この反応によって AOS が生成する。



2-(3,5-Difluorophenoxy)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-methoxypropan-1-ol
 α -Methylated guaiacylglycerol- β -difluorophenyl ether, α -OMe-GDF

Fig.4-3 Structure of the model compound used in this section

4-2-1-2 実験

α -OMe-GDF の合成手順を Fig.4-4 に示す。

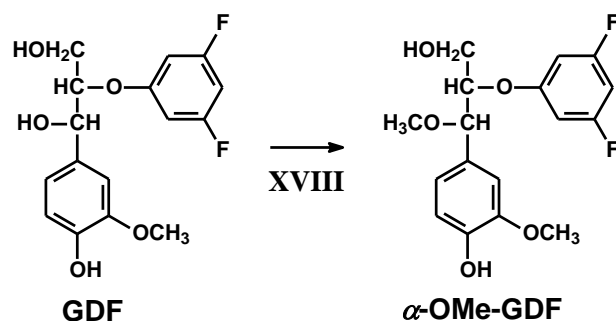
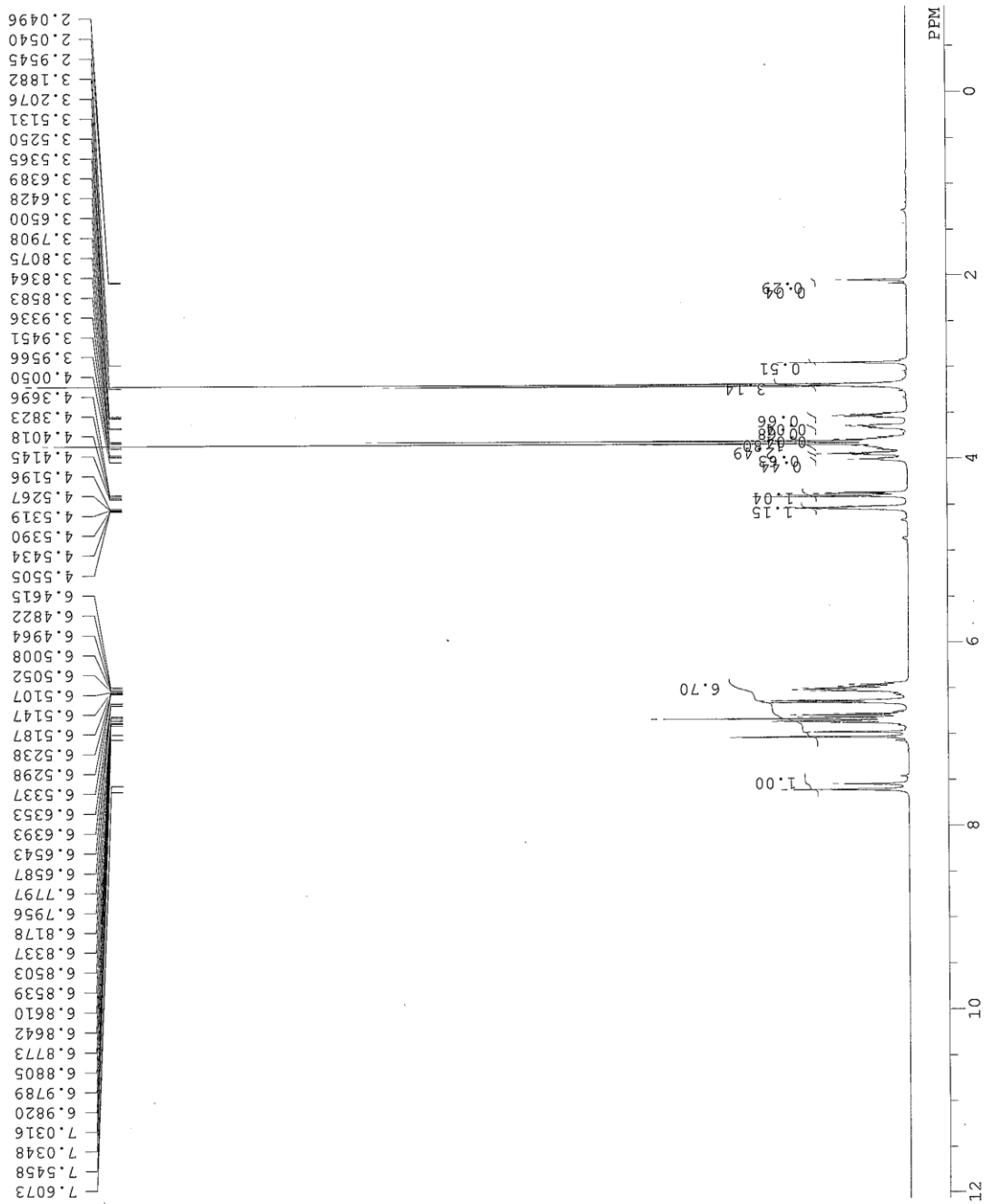


Fig.4-4 Synthetic route of α -OMe-GDF

XVIII α -位水酸基のメチル化

3-2-2-4 に記した方法で合成した GDF 0.70 g (2.15 mmol) を 300 ml 容ガラス製ナスフラスコにとり、メタノール 100 ml に溶解させ、98 % H_2SO_4 1.0 g を加え、50 °C の湯浴中で攪拌しながら 1 晩反応させた。TLC で反応が進んだことを確認した後、これにイオン交換水 100 ml 加え、を水溶液が中和されるまで溶液に炭酸水素ナトリウムを加えた。この溶液を酢酸エチル 50 ml で 3 回抽出し、酢酸エチル層を合わせて水 100 ml で 3 回洗浄の後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。酢酸エチル層を自然ろ過の後、ロータリーエバポレーター濃縮してシロップを得た。このシロップを中圧カラムで 2 つのモデル化合物に分取し、 $^1\text{H-NMR}$ で分析して、 $\alpha\text{-OMe-GDF}$ が得られたことを確認し、 $\alpha\text{-OMe-GDF}$ 0.65 g (1.91 mmol) を得た。出発物 GDF に対するモル収率は 88.9 % だった。 $\alpha\text{-OMe-GDF}$ の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを Fig.4-5 に、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルを Fig.4-6 にそれぞれ示す。

C:\WINALPHA\DATA\POLYMER\Frances-VetMicro\201213 a-OMe-GDF f'-[Gd].a

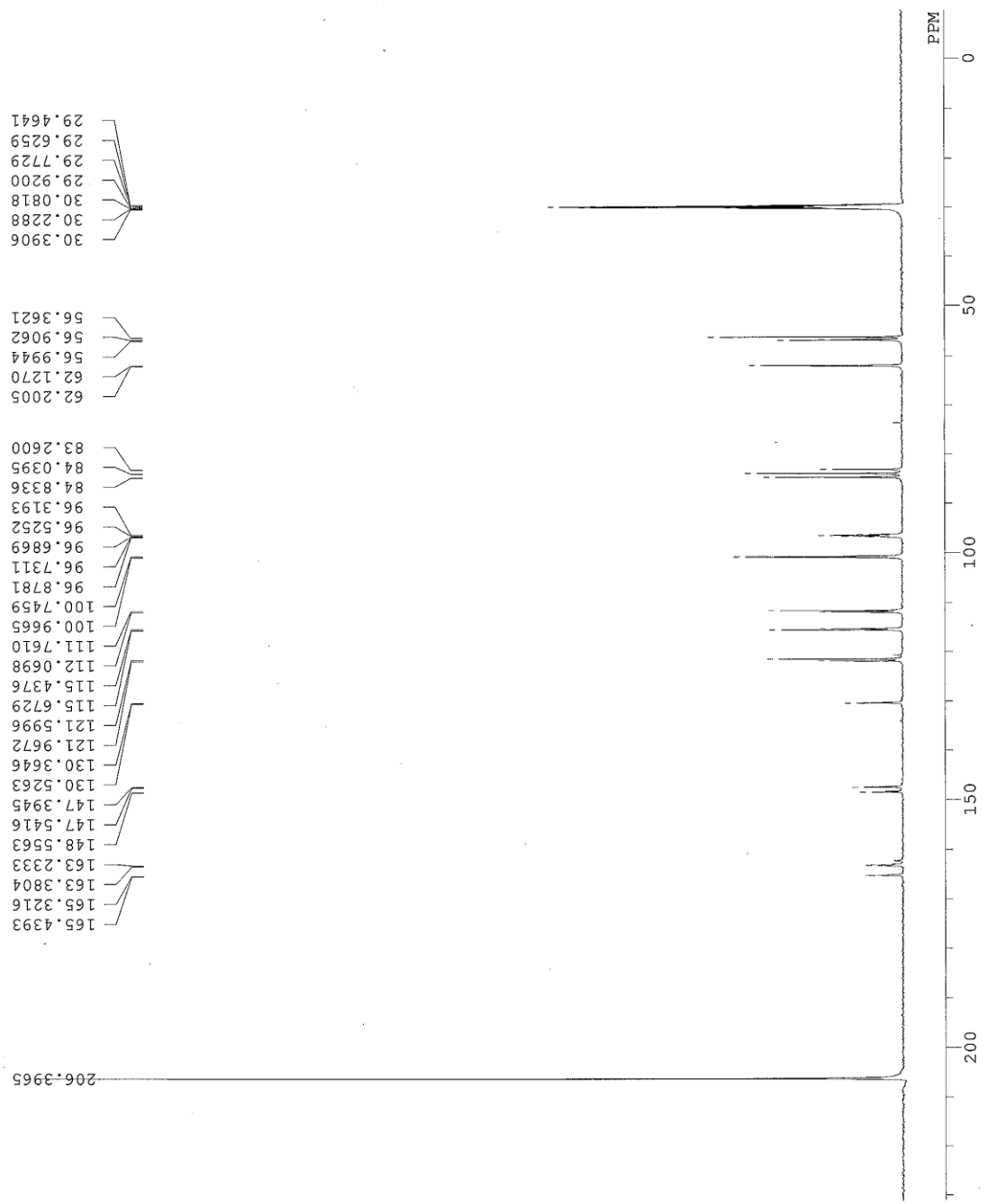


```

EXMOD          SINGL
IRMOD          NON
OBNUC          1H
OBFRQ          500.00 MHz
OBSET          0.00 KHz
PW1            6.50 usec
POINT          32768
SAMPO          32768
TIMES          16
SCANS          16
DUMMY          2
FREQU          6501.95 Hz
FILTR          4500 Hz
ACQTM          5.0397 sec
DEADT          89.06 usec
DELAY          61.54 usec
PD             1.5000 sec
ADBIT          16
RGAIN          15
IRNUC          1H
IRFRQ          500.00 MHz
IRSET          0.00 KHz
IRRPW          50 usec
IRATN          511
IRRNS          0
IRBP1          30
IRBP2          6
BF             0.20 Hz
T1            0.00
T2            0.00
T3            90.00
T4            100.00
XE            6501.95 Hz
XS            0.00 Hz
REFVL          201213 a-OMe-GDF f'-[Gd].a
DFILE          SINGL 1H
MENUF          TH5
SHMFL          0.00 KHz
LKSET          140
LKLEV          23
LGAIN          280
LKPFS          1769
LKSIG          22.4 C
CSPED          13 Hz
FIELD          19975000
  
```

Fig.4-5 ¹H-NMR spectrum of α-OMe-GDF

C:\WINALPHA\DATA\POLYMER\Frances-VetMicro\20121213 a-OMe-GDF C-NMR 13C-065.als



EXMOD	SINGL
IRMOD	BCM
OBNUC	13C
OBFRQ	125.65 MHz
OBSET	0.00 KHz
PW1	6.50 usec
POINT	16384
SAMPO	16384
TIMES	2000
SCANS	1505
DUMMY	2
FREQU	30303.03 Hz
FILTR	24000 Hz
ACQTM	0.5407 sec
DEADT	16.55 usec
DELAY	13.20 usec
PD	2.0000 sec
ADBIT	16
RGAIN	21
IRNUC	1H
IRFRQ	500.00 MHz
IRSET	0.00 KHz
IRRPW	50 usec
IRRAIN	511
IRRNS	0
IRBP1	30
IRBP2	6
BF	7.00 Hz
T1	0.00
T2	0.00
T3	90.00
T4	100.00
XE	30303.03 Hz
XS	0.00 Hz
REFVL	
DFILE	20121213 a-OMe-GDF C-NM
MENUF	SINGL 13C
SHMFL	TH5
LKSET	0.00 KHz
LKLEV	140
LGAIN	23
LKPHS	280
LKSIG	2950
CTEMP	22.9 C
CSPED	8 Hz
FIELD	19975000

Fig.4-6 ¹³C-NMR spectrum of α-OMe-GDF

酸素アルカリ処理

上記の方法で合成した α -OMe-GDF を窒素アルカリ処理、酸素アルカリ処理した。

反応装置

窒素アルカリ処理、酸素アルカリ処理に用いた反応装置は 3-2-1-2 に記述したものをを用いた。

反応溶液

反応溶液の調製に使用する器具は、あらかじめイオン交換水、超純水の順でよく洗浄し乾燥させた。

α -OMe-GDF の実験では以下の溶液を調製し反応に用いた。その調製を以下に示す。溶液の調製に用いた 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液と 10 mol/l NaOH 水溶液は、3-2-1-2 に記述した方法で調製したものをを用いた。

No.20 α -OMe-GDF 102 mg を 300 ml 容ガラス製ビーカーにとり、これに超純水 100 ml、および、10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml を加え、 α -OMe-GDF を完全に溶解させた。この溶液を 300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml を入れ、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、 α -OMe-GDF 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l の溶液を得た。

No.20 の方法で溶液を 2 回調製し、「窒素アルカリ処理」および「酸素アルカリ処理」にそれぞれ用いた。 α -OMe-GDF の酸素アルカリ処理では、AOS が分子状酸素と α -OMe-GDF のフェノール性部位との反応から発生するため、系中に AOS 生成源である VA を加えていない。

反応

反応の手順は 3-2-1-2 に記述した方法に従った。内部標準は 2.0 mmol/l 2,3-dichlorophenol メタノール溶液を用いた。

分析

島津製高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を以下のような条件に設定し、分析を行った。

HPLC 測定条件

カラム：Luna 5u C18(2) 100A (phenomenex 製、長さ 150 mm)

移動層： 水:メタノール (80:20—7 min—80:20—28 min—50:50—10 min—50:50)

流速：1.2 ml/min 分析時間：45 分

検出器：PDA 検出波長：254 nm

4-2-1-3 結果と考察

窒素アルカリ処理における α -OMe-GDFの分解挙動、 α -OMe-GDFの分解に伴って遊離するDFPhの生成挙動、そして、 α -OMe-GDFの反応生成物であるGDFの生成挙動を、Fig.4-7に示す。

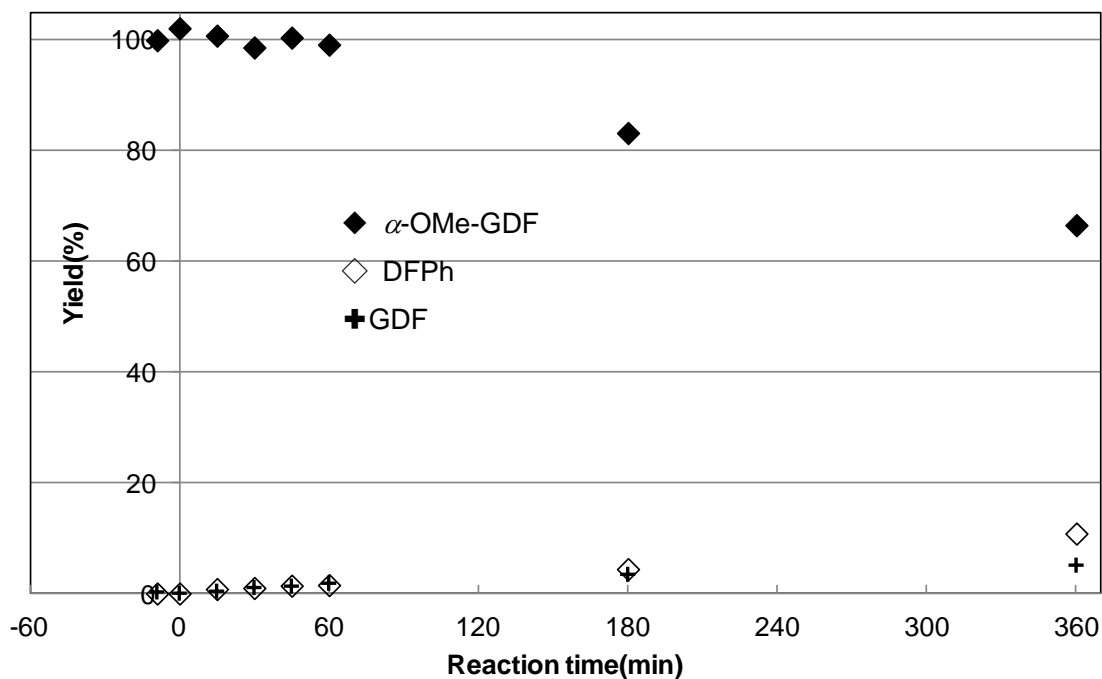


Fig.4-7 Change in the yields of α -OMe-GDF, DFPh, and GDF in the nitrogen-alkali treatment of α -OMe-GDF.

アルカリの作用によって引き起こされる α -OMe-GDFの反応の1つに、アルカリ性水溶液中におけるキノンメチド構造の生成が考えられる(Fig.4-8 上段)。キノンメチド構造の α -位炭素に $\cdot\text{OH}$ が付加することで、GDFが生成する(Fig.4-8 下段)。このため、この実験ではGDFの生成量も検討した。

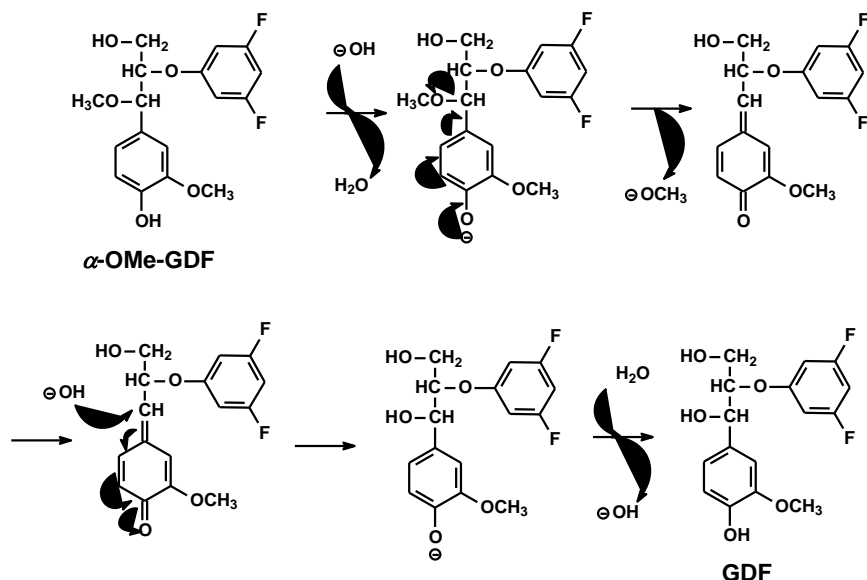


Fig.4-8 Procedure of GDF generation from α -OMe-GDF in the nitrogen-alkali treatment

α -OMe-GDF は窒素アルカリ処理において消失し、B 環由来の DFPh および GDF が検出された。したがって、本実験条件下において、 α -OMe-GDF はキノンメチド構造に変化可能と考えられる。しかし、3-2-2-3-2 に記述したように、窒素アルカリ処理においては、GDF からはキノンメチド構造が生成していないと考えた。この GDF および α -OMe-GDF におけるキノンメチド構造の生成の差は、本実験条件下、すなわち、メタノールを含まないアルカリ水溶液中においては、水酸化物イオンよりもメトキシドイオンの方が脱離しやすいためと考えられる。

α -OMe-GDF 残存量、DFPh 生成量、そして、GDF 生成量の合計は、 α -OMe-GDF の初期量に対して 100% に満たないため、 α -OMe-GDF から生成するキノンメチド構造には、GDF の生成以外にも反応経路が存在すると予想される。アルカリの作用による α -OMe-GDF の β -O-4 結合開裂機構としては、上記のようにして生成する GDF の α -位水酸基が解離し、生じる α -位アルコキシドによる β -位炭素への分子内求核反応、そして、 α -OMe-GDF の γ -位水酸基が解離して生成する γ -位アルコキシドによる β -位炭素への分子内求核反応等、が考えられる (Fig.4-9)。

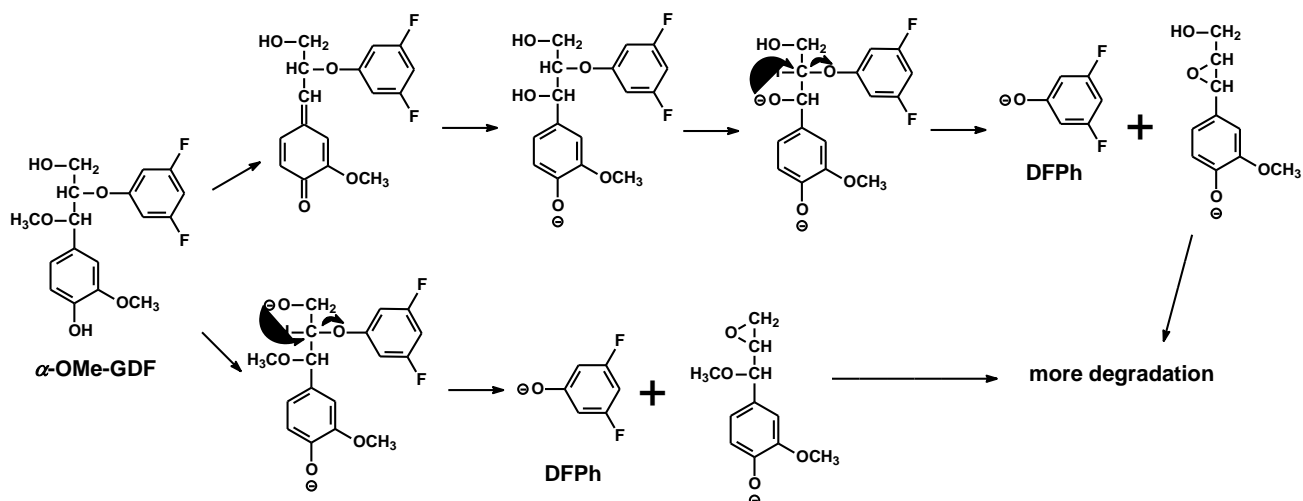


Fig.4-9 Procedure of β -O-4 bond cleavage of α -OMe-GDF by the neighboring group participation

酸素アルカリ処理における α -OMe-GDF の分解挙動、および、DFPh の生成挙動を、Fig.4-10 に示す。窒素アルカリ処理の場合と比較すると、どちらも非常に促進された。窒素アルカリ処理で検出された GDF の蓄積は、確認できなかった。したがって、これまでに使用したフェノール性 β -O-4 型リグニンモデル化合物 GDC および GDF の酸素アルカリ処理と同様に、酸素の存在によって α -OMe-GDF の分解、そして、その β -O-4 結合開裂に伴う DFPh の生成が促進されることが明らかになった。この反応において GDF は生成したとしても、分子状酸素によって分解されるため、検出できなかったのであろう。

α -OMe-GDF および GDF の酸素アルカリ処理における、これらの分解挙動および DFPh の生成挙動(Fig.4-10 および Fig.3-16)を比較すると、分解においては両者でほぼ同じ挙動であったが、DFPh の生成挙動においては、後者の場合の方が多いたことが分かる。 α -OMe-GDF の場合は、アルカリの作用によってキノンメチド構造が生成可能だが、これが β -位プロトン脱離によってエノールエーテル型になると、分子状酸素との反応によって C_{α} - C_{β} 結合が開裂するが、このとき β -O-4 結合は開裂しない。これが α -OMe-GDF からの DFPh の生成量が少ない理由の一つであろう。また、 α -位水酸基をメチル化すると、これを持つ側鎖部位への AOS の攻撃は抑制される可能性が考えられる。したがって、AOS の側鎖への攻撃に起因する β -O-4 結合の開裂は、GDF と比較すると α -OMe-GDF では少なくなることが予想され、これが α -OMe-GDF からの DFPh 生成量が少ないことを説明するその他の一因となり得ると考えられる。なお、この α -位水酸基のメチル化が及ぼす AOS の側鎖への攻撃性への影響については、次項で考察する。

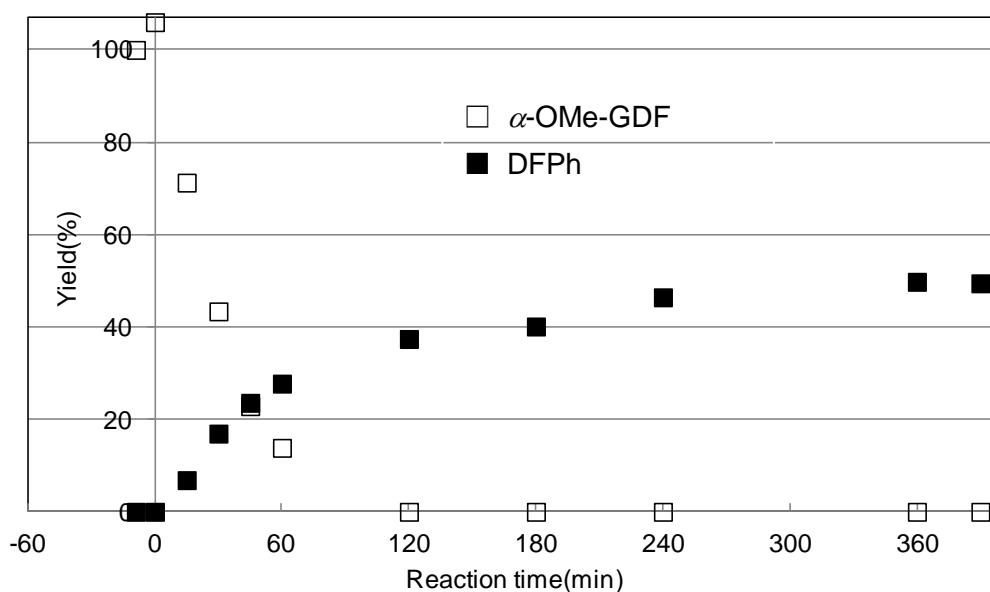


Fig.4-10 Change in the yields of α -OMe-GDF and DFPh in the oxygen-alkali treatment of α -OMe-GDF

α -OMe-GDF の酸素アルカリ処理において、酸素の存在が引き起こす DFPh の遊離は、GDF の酸素アルカリ処理の場合と同様に、A 環が分子状酸素によってムコン酸型に酸化され、これが何らかの酸化反応とアルカリの作用による反応を受けること、および、側鎖が AOS による酸化を受けることに起因する。前者の反応はフェノール性ユニットに特有のものであり、リグニン全体を考慮する場合には、酸素アルカリ処理における β -O-4 結合開裂の主要因とはなり得ない。そこで、後者の AOS による側鎖の攻撃における α -位水酸基の存在の影響を検討する必要がある。これを目的として次項では、A 環が非フェノール性である α -OMe-GDF の誘導体 2-(3,5-difluorophenoxy)-3-methoxy-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propan-1-ol (α -OMe-VDF, VDF の誘導体でもある)を、モデル化合物として使用した。

4-2-2 α -位水酸基をメチル化した非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)-3-methoxy-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propan-1-ol (α -methylated veratrylglycerol- β -difluorophenyl ether, α -OMe-VDF)の酸素アルカリ処理における β -O-4結合の開裂

4-2-2-1 目的

前項で記述したように、AOSによるリグニン側鎖部位の酸化において、ベンジル位の水酸基の存在が及ぼす影響について検討するために、 α -位に水酸基ではなくメトキシル基を、そして、B環として3,5-difluorophenyl基を持つ非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)-3-methoxy-3-(3,4-dimethoxyphenyl)propan-1-ol (α -methylated veratrylglycerol- β -difluorophenyl ether, α -OMe-VDF, Fig.4-11)の酸素アルカリ処理を行った。なお、 α -OMe-VDFは、VDFの α -位水酸基をメチル化した構造である。

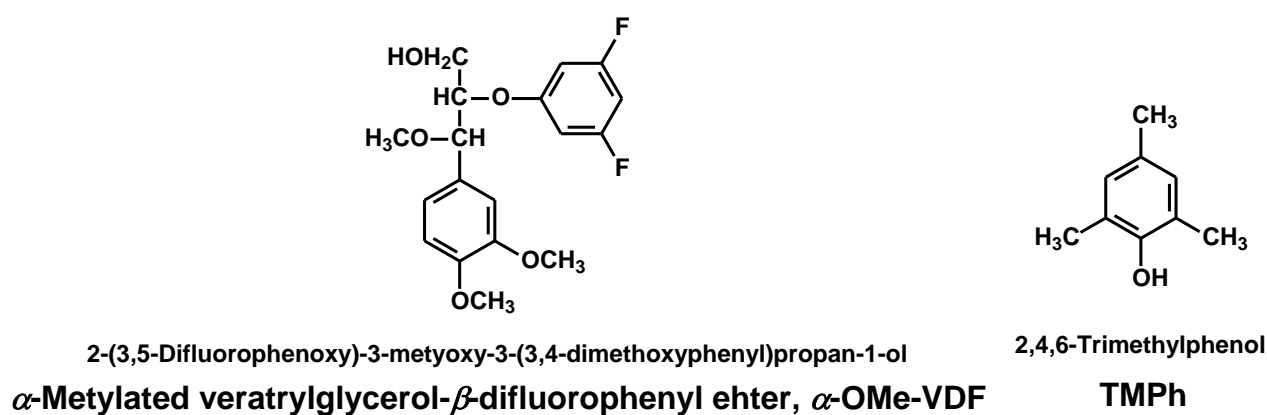


Fig.4-11 Structure of the model compounds used in this section

4-2-2-2 実験

Fig.4-12 に α -OMe-VDFの合成手順を示す。

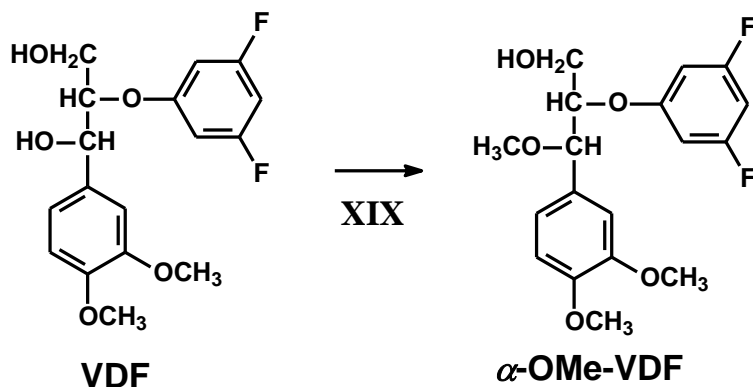


Fig.4-12 Synthetic route of α -OMe-VDF

XIX α -位水酸基のメチル化

3-2-5-2に記述した方法で合成した VDF 776 mg (2.28 mmol)を 200 ml 容ガラス製ナスフラスコにとり、メタノール 50 ml に溶解し、これに 98 % H_2SO_4 234 mg (2.34 mmol)を加え、50 °C の湯浴中で攪拌しながら 1 晩反応させた。TLC で反応が進んだことを確認した後、これにイオン交換水 100 ml 加え、その後、水溶液が中和されるまで炭素水素ナトリウムを溶液に加えた。この溶液を酢酸エチル 50 ml で 3 回抽出し、酢酸エチル層を合わせて水 100 ml で 3 回洗浄の後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。酢酸エチル層を自然ろ過の後、ロータリーエバポレーター濃縮してシロップを得た。このシロップを TLC で確認したところ、 R_f 値が VDF と異なる化合物があったので、これを分取用層クロマトグラフィーで分取して $^1\text{H-NMR}$ スペクトルで測定した。 $^1\text{H-NMR}$ スペクトルから α -OMe-VDF を確認できたため、 α -OMe-VDF 760 mg (2.15 mmol)が合成できたと判断した。出発物 VDF に対するモル収率は 94.3 %であった。 α -OMe-VDF の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを Fig.4-13 に、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルを Fig.4-14 にそれぞれ示す。

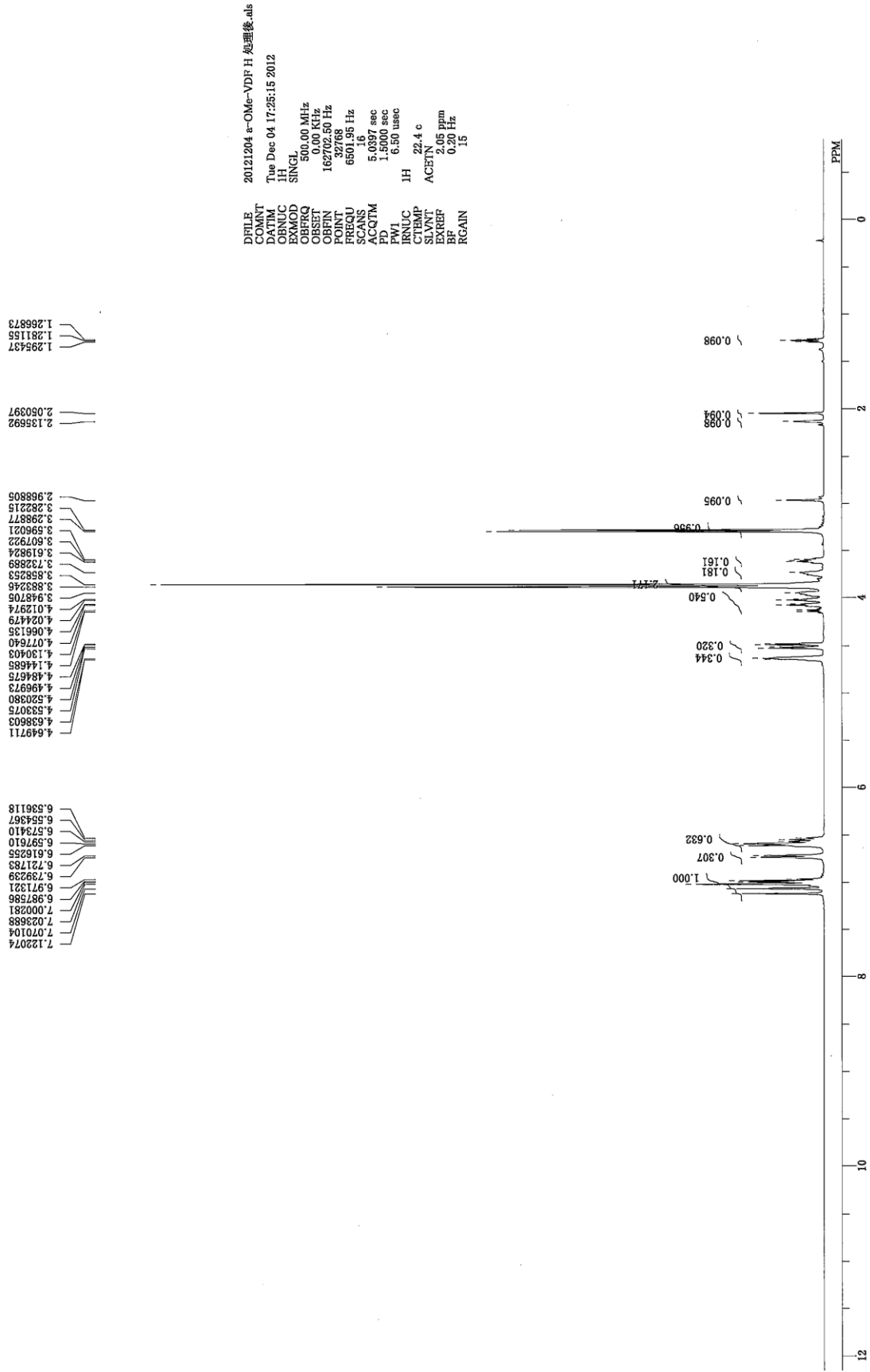


Fig.4-13 ^1H -NMR spectrum of α -OMe-VDF

C:\Documents and Settings\valice\デスクトップ\本村化学_大村VPDF and PDF-2 and α -OMe-VDF C 処理後.als

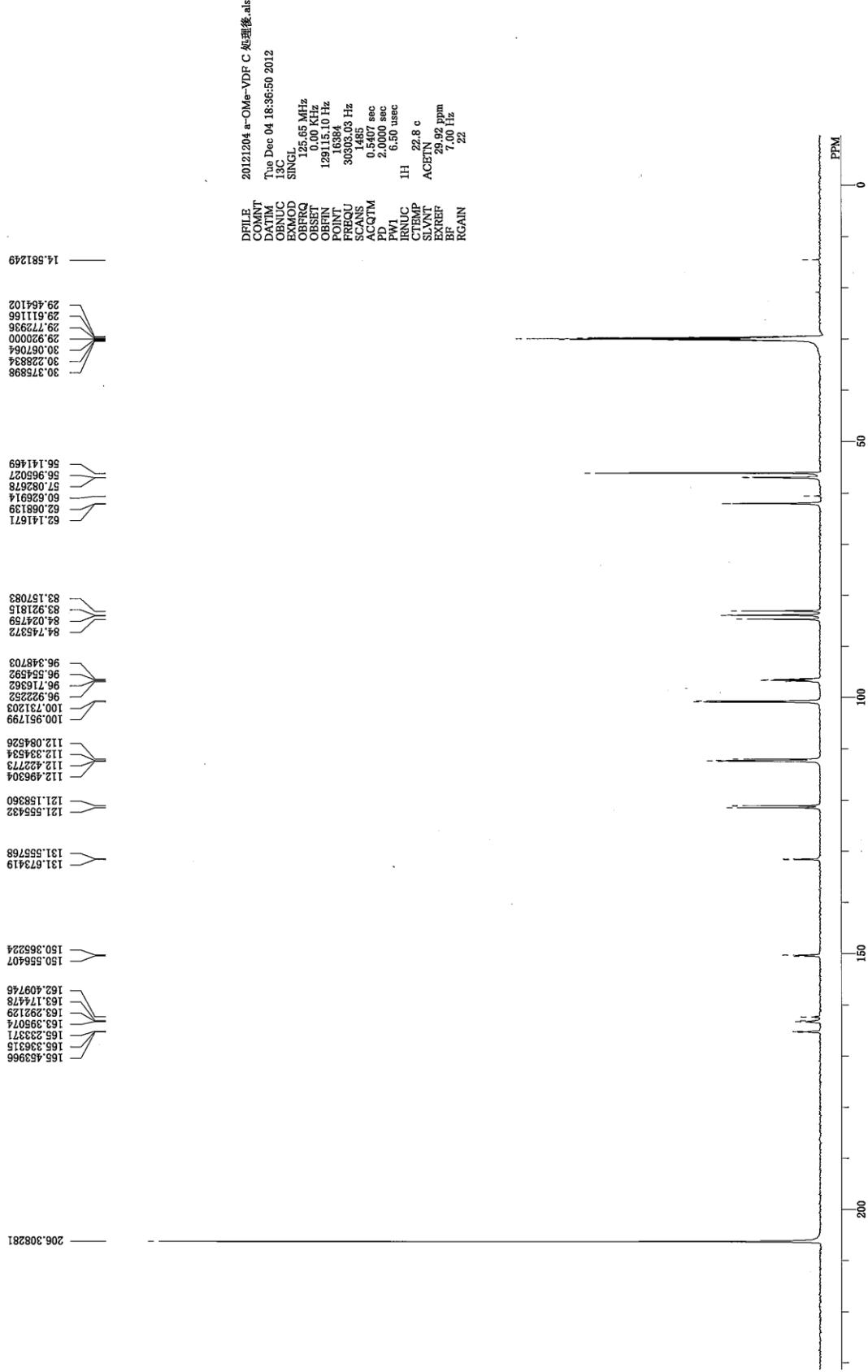


Fig.4-14 ^{13}C -NMR spectrum of α -OMe-VDF

アルカリ性溶媒に対する溶解性

上記の方法で合成した α -OMe-VDF 106 mg を 300 ml 容ポリエチレン製キャップ付きボトルにとり、これに超純水 250 ml 加え 70 °C 湯浴中で 7 日間おき、 α -OMe-VDF を超純水に溶解させることを試みた。7 日後、VDF が完全に超純水に溶解したように見えたので、この溶液を 30 °C まで冷やした後 HPLC で分析した。30 °C まで冷やした際、ボトル内に沈殿物の生成は見られなかった。HPLC を用いた検量線法で α -OMe-VDF を定量し、 α -OMe-VDF は水溶液に完全に溶解していること、そして α -OMe-VDF の分解が引き起こされていないことが確認されたため、 α -OMe-VDF の酸素アルカリ処理を行った。

酸素アルカリ処理

上記の方法で合成した α -OMe-VDF に酸素アルカリ処理、VA*10 酸素アルカリ処理、そして AOS 生成源として VA の代わりに 2,4,6-trimethylphenol (TMPh, Fig.4-11)を用いた TMPh*10 酸素アルカリ処理をそれぞれ施した。

反応装置

3 種類のアルカリ処理には、3-2-1-2 に記述した反応装置を用いた。

反応溶液

反応溶液の調製に使用する器具は、あらかじめイオン交換水、超純水の順でよく洗浄し乾燥させた。

α -OMe-VDF の実験では以下の溶液を調製し反応に用いた。その調製を以下に示す。溶液の調製に用いた 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液と 10 mol/l NaOH 水溶液は、3-2-1-2 に記述した方法で調製したものをを用いた。

No.21 α -OMe-VDF 106 mg を 300 ml 容ポリエチレン製キャップ付きボトルにとり、これに超純水 250 ml を加え攪拌しながら 70 °C で 7 日間かけて α -OMe-VDF をすべて超純水に溶解させた。この溶液を 30 °C まで冷却し、300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml を入れ、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、 α -OMe-VDF 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l の溶液を得た。

No.22 α -OMe-VDF 106 mg を 300 ml 容ポリエチレン製キャップ付きボトルにとり、これに超純水 250 ml を加え攪拌しながら 70 °C で 7 日間かけて α -OMe-VDF をすべて超純水に溶解させた。この溶液を 30 °C まで冷却し、300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、VA 462 mg を入れ、VA を完全に溶かした後、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、 α -OMe-VDF 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、VA 10 mmol/l の溶液を得た。

No.23 α -OMe-VDF 106 mg を 300 ml 容ポリエチレン製キャップ付きボトルにとり、これ

に超純水 250 ml を加え攪拌しながら 70 °C で 7 日間かけて α -OMe-VDF をすべて超純水に溶解させた。この溶液を 30 °C まで冷却し、300 ml 容ガラス製メスフラスコに移し、これに 10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、TPh 408 mg を入れ、TPh を完全に溶かした後、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、 α -OMe-VDF 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、TPh 10 mmol/l の溶液を得た。

No.21 の方法で調製した溶液は「酸素アルカリ処理」に、No.22 の方法で調製した溶液は「VA*10 酸素アルカリ処理」に、そして、No.23 の方法で調製した溶液は「TPh*10 酸素アルカリ処理」にそれぞれ用いた。

反応

反応の手順は 3-2-1-2 の方法に従った。内部標準は 2.0 mmol/l 2,3-dichlorophenol メタノール溶液を用いた。

分析

島津製高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を以下のような条件に設定し、分析を行った。

HPLC 測定条件

カラム：Luna 5u C18(2) 100A (phenomenex 製、長さ 150 mm)

移動層： 水:メタノール (90:10—10 min—90:10—30 min—20:80—5 min—20:80)

流速：1.0 ml/min 分析時間：45 分

検出器：PDA 検出波長：254 nm

4-2-2-3 結果と考察

Fig.4-15 に示すように、 α -OMe-VDF は AOS 発生源となる VA を加えていない酸素アルカリ処理ではほぼ分解されず、反応終了時(360 min)においても 98 %以上残存していた。また、 β -O-4 結合開裂の指標となる DFPh は、全く検出されなかった。これらのことから、 α -OMe-VDF は、アルカリの作用による分解反応および分子状酸素に対して十分な抵抗性を持つことが分かった。この結果と、VDF の VA を添加しない酸素アルカリ処理の結果 (Fig.3-33 および Fig.3-34)とを、VDF も分子状酸素に対して十分な抵抗性を持つことを考慮しながら比較すると、 α -位水酸基をメチル化することによって、アルカリの作用による分解、すなわち、 α -位水酸基の解離で生成する α -位アルコキシドには β -位炭素への分子内求核反応に伴う β -O-4 結合開裂の進行、が抑制されることが分かる。また、 γ -位水酸基がアルカリによってアルコキシドに変換されるならば、これによる β -位炭素への分子内求核反応に伴う β -O-4 結合の開裂が進行すると考えられたが、この機構による β -O-4 結合の開裂は起こってないと考えられる。

VA を添加した酸素アルカリ処理においては、 α -OMe-VDF が反応終了時に約 92.0 %残存しており、若干の α -OMe-VDF が分解された。しかし、DFPh の生成は確認できなかった。この結果から、 α -OMe-VDF は AOS によって多少分解されるものの、これに伴って β -O-4 結合は開裂せず、新たなフェノール性芳香環は生成しないことが示された。

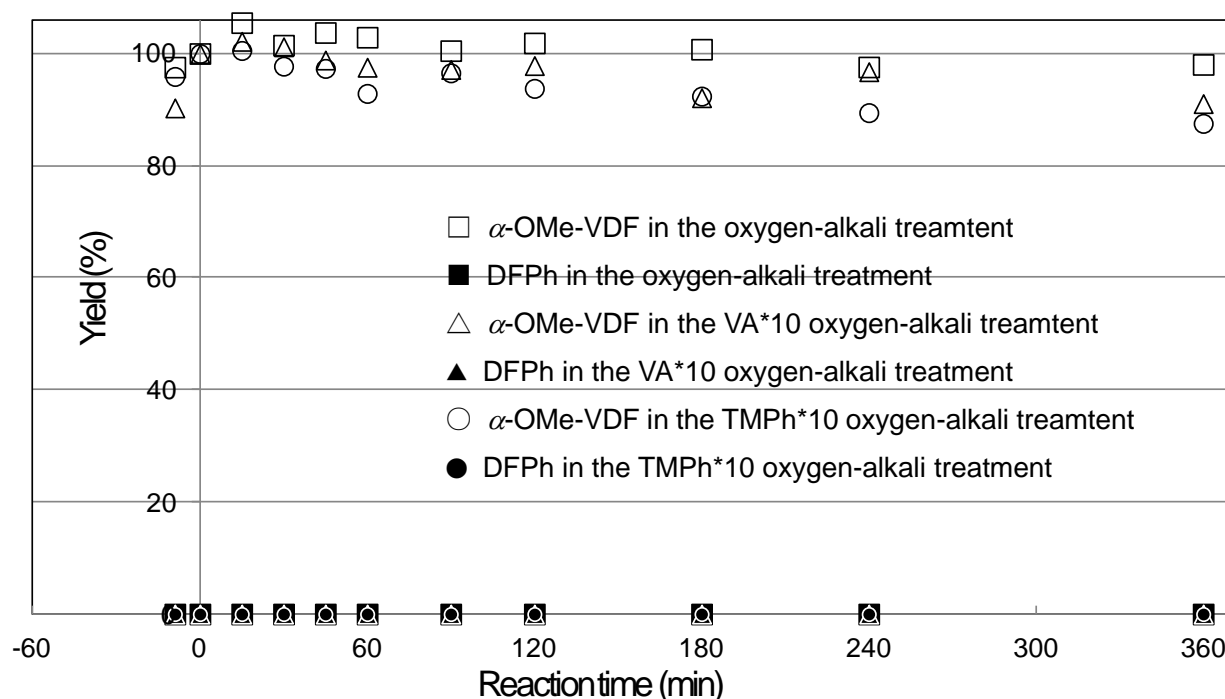


Fig.4-15 Change in the yield of α -OMe-VDF or DFPh in the oxygen-, VA*10 oxygen-, or TMPH*10 oxygen-alkali treatment of α -OMe-VDF

酸素アルカリ処理中に AOS 生成源として添加するフェノール性モデル化合物の種類によって、発生する AOS の種類や量が異なる可能性^{34,45)}があるため、AOS 生成源として VA

の代わりに TPh を用い、これを α -OMe-VDF の 10 倍量加えた酸素アルカリ処理を行った。その結果、 α -OMe-VDF の分解挙動は、VA*10 酸素アルカリ処理における分解とほぼ同じであった、また、DFPh の生成も確認されなかった。したがって、AOS 生成源が TPh であっても、 α -OMe-VDF は AOS に対して抵抗性を持っていた。

これらの結果から、酸素漂白においてリグニン中の非フェノール性ユニットで構成された β -O-4 結合の開裂には、側鎖部位に α -位水酸基の存在が必要であり、これが AOS との反応に深くかかわっていることが示唆された。水酸基を持つヒドロキシメチル基やヒドロキシメチレン基に対する AOS のようなラジカル種による酸化反応では、一般的に酸素とではなく炭素と結合する水素が引き抜かれると考えられており、この場合には、水酸基がメチル化されてメトキシ基となっても、酸化反応が十分に進行し得ると予想される。しかし、上記の結果から、この種の酸化反応であっても、水酸基が存在することが必要であることが示唆される。したがって、AOS のようなラジカル種による酸化反応において、炭素-水素結合の水素ではなくアルコール部位の酸素-水素結合の水素が引き抜かれている可能性も考えられる。

本稿で用いたような側鎖の炭素が 2 つ以上のモデル化合物の α -位水酸基は、ベンジル位であること、および、第 2 級であること、という 2 つの性質を持っている。 α -OMe-VDF の実験は、この 2 つの性質を区別すること無く水酸基の効果を検討した結果であるため、 α -OMe-VDF の実験結果から、これらそれぞれを分けて考察することはできない。また、ベンジル位に第 1 級水酸基を持つ非フェノール性リグニンモデル化合物である veratryl alcohol (Fig.4-1) より、ベンジル位に第 2 級水酸基を持つ非フェノール性リグニンモデル化合物 veratryl glycol (Fig.4-1) の方が、AOS 生成源となるフェノール性化合物を共存させた酸素アルカリ処理で分解されやすい⁴²⁾ことから、 α -位水酸基の性質として、ベンジル位であることと第 2 級であることを分けて考える必要があると思われる。そのため、緒言でも記したように、第 2 級水酸基を持つヒドロキシメチレン基と第 1 級水酸基を持つヒドロキシメチル基の AOS との反応性を比較検討することとした。

4-2-3 ヒドロキシメチル基とヒドロキシメチレン基の AOS との反応性の比較

4-2-3-1 目的

前項に記述したように、モデル化合物の側鎖構造の相違が、AOS との反応に及ぼす影響について詳しく考察するため、アリールエーテル結合と水酸基 2 つを持つプロピル鎖で構成されたモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)propane-1,3-diol (propane-1,3-diol-difluorophenyl ether, PDF, Fig.4-16)、および、3-(3,5-difluorophenoxy)propane-1,2-diol (propane-1,2-diol-difluorophenyl ether, PDF-2, Fig.4-16)の酸素アルカリ処理を行った。なお、前者は第 1 級水酸基のみを、後者は第 1 級と第 2 級水酸基双方を持つ。また、これらの化合物の中のプロピル鎖部位および芳香核部位は、それぞれ、本論文でこれまでに用いた 2 量体モデル化合物中の側鎖部位および B 環と同様の役割を担うと考えることが可能であろう。そこでこれ以降、これら PDF および PDF-2 のプロピル鎖部位を側鎖、そして、アリールエーテル部位を B 環と呼称する。

PDF および PDF-2 の B 環は 3,5-difluorophenoxy 基であるため、この部位はアルカリ、分子状酸素、および、AOS によって攻撃されにくい。そのため、AOS が共存する酸素アルカリ処理中に PDF または PDF-2 が分解され、DFPh が系中に遊離するならば、それは側鎖部位が酸化され、アリールエーテル結合が開裂した結果によるものと考えられよう。

また、PDF と PDF-2 の VA を共存させた酸素アルカリ処理の結果を比較することで、AOS による攻撃に対する第 1 級および第 2 級水酸基の存在の影響を検討できると考えられる。

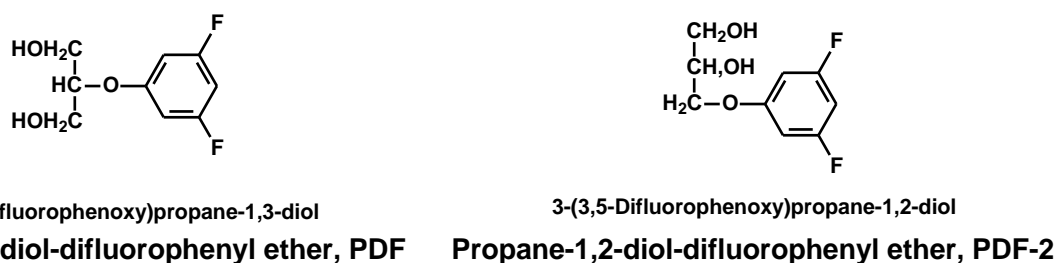


Fig.4-16 Structure of the model compounds used in this section

4-2-3-2 実験

Fig.4-17 に PDF の合成手順を示す。

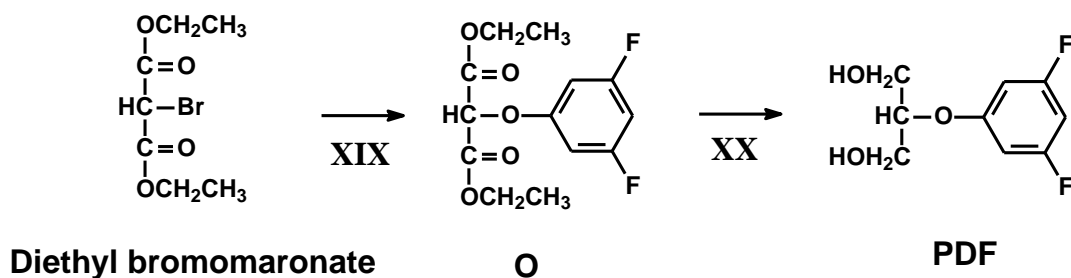


Fig.4-17 Synthetic route of PDF

XIX β -O-4 結合の生成

DFPh 0.77 g (5.92 mmol)を 200 ml 容ガラス製ナスフラスコ中でメタノール 40 ml に溶解し、28 %ナトリウムメトキシド/メタノール溶液 1.13 g (5.86 mmol)を加えた。濃縮してメタノールを十分取り除き、DFPh のナトリウム塩を得た。ここに乾燥アセトン 50 ml 加え、よくかき混ぜて溶解させた。これに和光純薬から購入した diethyl bromomaronate 1.41 g (5.92 mmol)を加え、40 °C の湯浴中で反応させた。反応の進行を TLC で確認した後、生成した KBr を自然ろ過で取り除き、さらにロータリーエバポレーターで大部分のアセトンを取り除いた。これを酢酸エチル 50 ml で 3 回抽出し、酢酸エチル層を合わせて水 100 ml で 3 回洗浄の後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。酢酸エチル層を自然ろ過の後、ロータリーエバポレーターで濃縮してシロップ状の物質 1.70 g を得た。このシロップを GC-MS で測定したところ、このシロップには親イオンピークが(O)の分子量と等しい $M/z=288$ を示し、分裂パターンが(N)由来のものと矛盾しないと考えられる物質が含まれている事が分かったため、分取用薄層クロマトグラフィーでこのシロップを分取し、(O)1.42 g (4.93 mmol)を得た。

XX エステル結合のヒドリド還元

上記の(O) 1.42 g (4.93 mmol)を 500 ml 容ガラス製ナスフラスコ中で乾燥 THF100 ml に溶解し、これに LiAlH_4 を 187.3 mg (4.93 mmol)加え、攪拌させながら 1 晩反応させた。反応終了後、3 N の HCl 水溶液 90 ml をゆっくり加え、攪拌させながら残存している LiAlH_4 をすべて溶液に溶解させた。この溶液は 2 層に分かれたため、上層にある THF 層を除いたあと、下層に残った水層を酢酸エチル 50 ml で 3 回抽出し、最初に取り除いた THF 層と酢酸エチル層を合わせて水 100 ml で 3 回洗浄の後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。THF 層と酢酸エチル層を合わせたものを自然ろ過の後、ロータリーエバポレーター濃縮してシロップを得た。このシロップを GC-MS で分析し、マススペクトルを確認したところ、親イオンピークが $M/z=204$ を示すピークが存在した。この値が PDF の分子量と等しいこと、および、分裂パターンが PDF 由来のものと矛盾しないと考えられることによって、これが PDF であると判断した。このシロップを分取用層クロマトグラフィーで分取して、PDF 580 mg (2.84 mmol)を得た。出発物 diethyl bromomaronate に対するモル収率は 48.0 %であった。PDF の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを Fig.4-18 に、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルを Fig.4-19 にそれぞれ示す。

C:\Documents and Settings\valicey\デスクトップ\木材化学 大村PDF and PDF-2 and α-OMe-VDFV20121204 PDF H with D2O 処理後.als

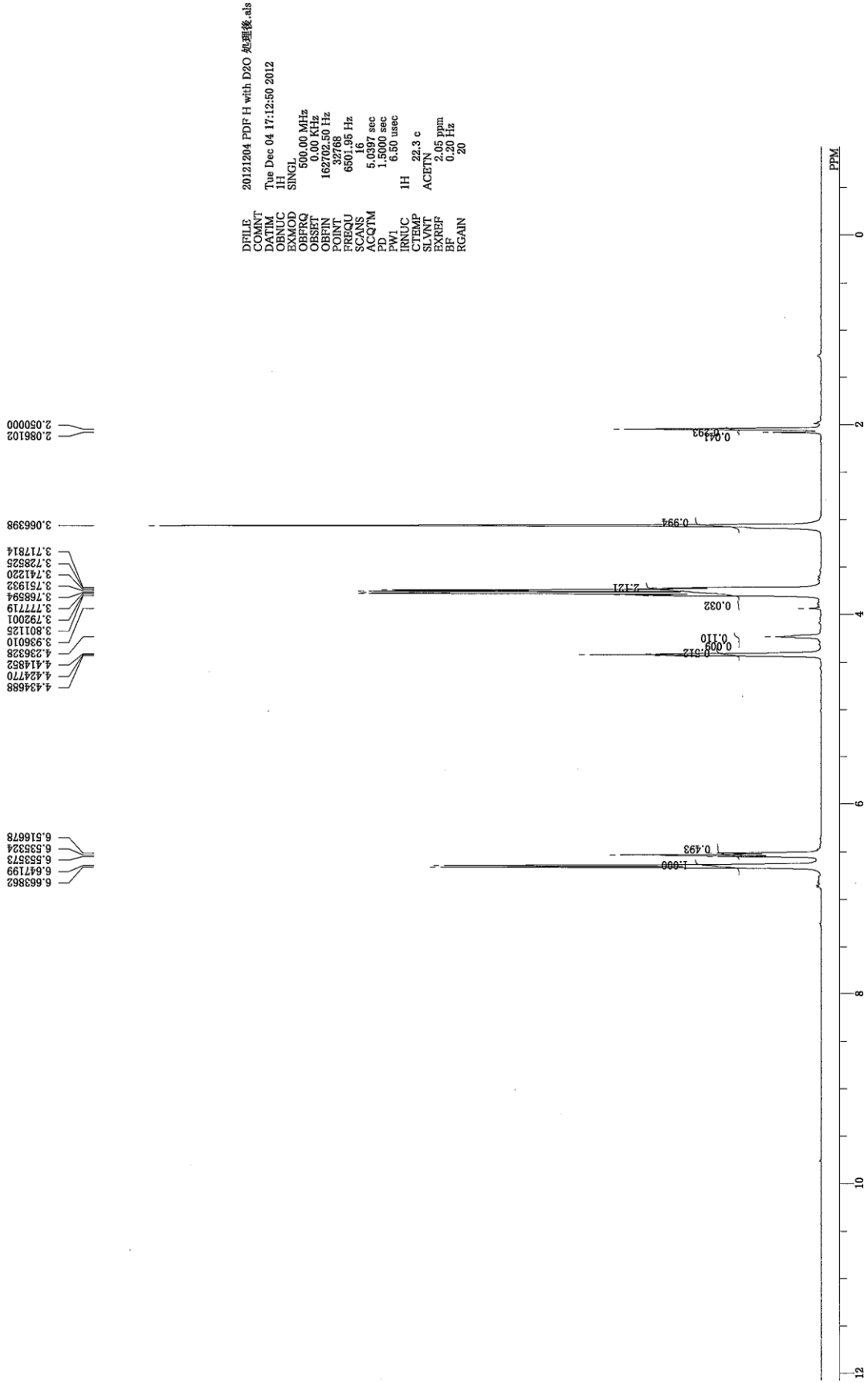


Fig.4-18 ¹H-NMR spectrum of PDF

C:\Documents and Settings\alice\デスクトップ\木材化学_大材料PDF and PDF-2 and α-OMe-VDF\20121129 PDF C データ.xls

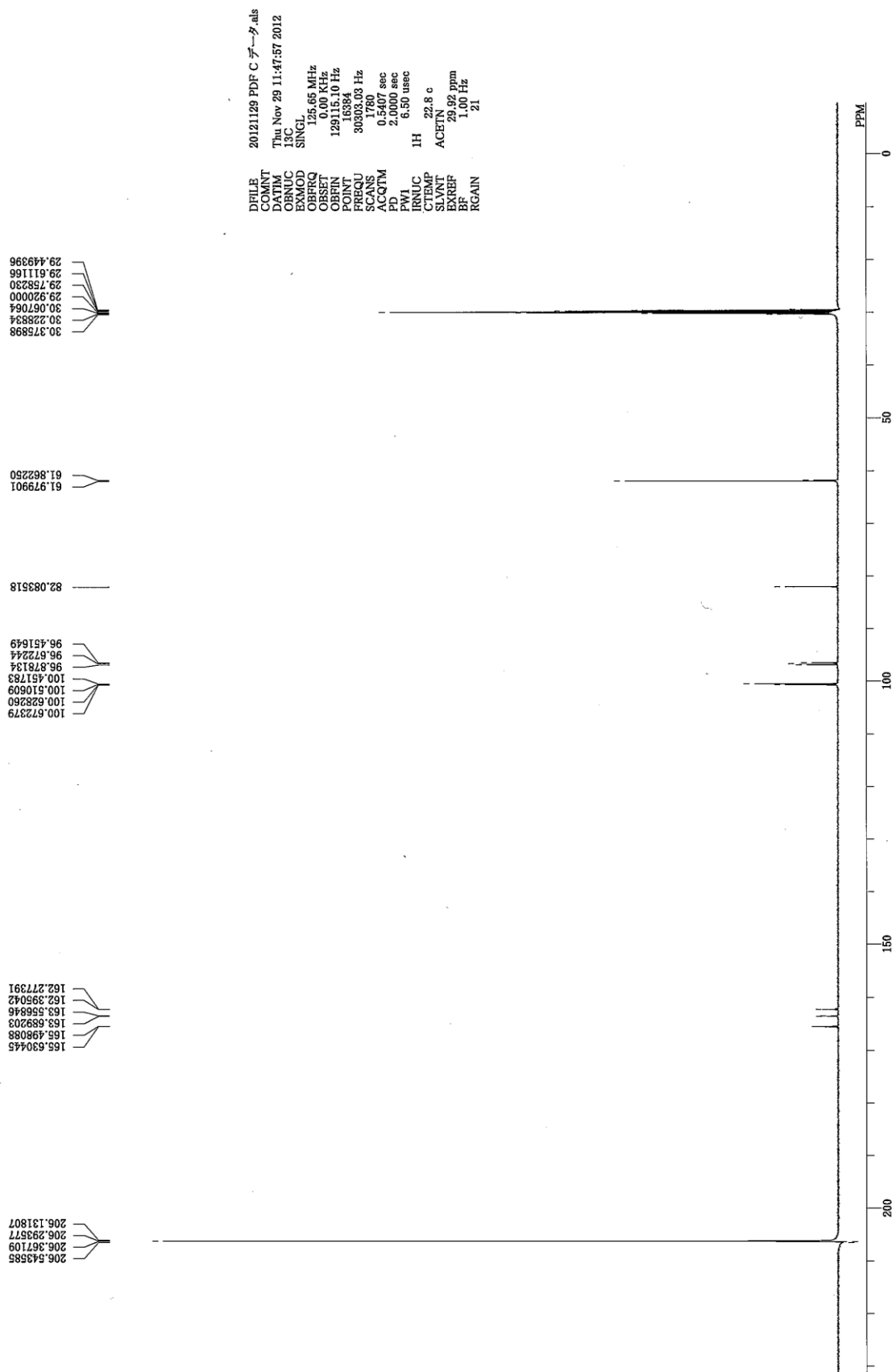


Fig.4-19 ^{13}C -NMR spectrum of PDF

PDF-2 の合成手順を Fig.4-20 に示す。

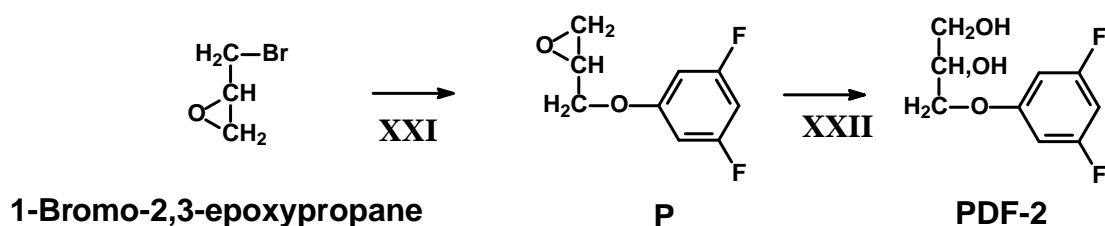


Fig.4-20 Synthetic route of PDF-2

XXI アリールエーテル結合の生成

DFPh 3.25 g (25.0 mmol)を 500 ml 容ガラス製ナスフラスコにとり、乾燥 THF 100 ml に溶解し、これに 1-bromo-2,3-epoxypropane 3.43 g (25.0 mmol)と K_2CO_3 4.14 g (30.0 mmol)を加え、攪拌させながら還流下で 3 日間反応させた。TLC で反応が進んでいる事を確認した後、自然ろ過で K_2CO_3 および KBr を取り除き、ロータリーエバポレーターで大半の THF を取り除いた。これに 0.5 mol/l NaOH 水溶液 200 ml を加え、ジクロロメタン 50 ml で 3 回抽出し、ジクロロメタン層を合わせて水 100 ml で 3 回洗浄の後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。ジクロロメタン層を自然ろ過の後、ロータリーエバポレーターで濃縮してシロップ状の物質を得た。これを GC-MS で分析したところ、このシロップには親イオンピークが (P)の分子量と等しい $M/z=186$ を示し、分裂パターンが(P)由来のものと矛盾しないと考えられる物質が含まれている事が分かった。このシロップを中圧カラムで分取し、(P) 3.53 g (19.0 mmol)を得た。

XXII 酸性水溶液中におけるエポキシドの開裂

(P) 3.53 g を 300 ml 容ガラス製ナスフラスコにとり、1,4-ジオキサン:水=4:1 の混液 100 ml と 98 % 硫酸 1.0 ml を加え、攪拌させながら室温で 2 日間反応させた。反応の進行を TLC で確認したあと、これにイオン交換水 80 ml と炭酸水素ナトリウムを加えて反応を停止させ、これを酢酸エチル 50 ml で 3 回抽出し、合わせた酢酸エチル層をイオン交換水 100 ml で 3 回洗浄の後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。酢酸エチル層を自然ろ過の後、ロータリーエバポレーターで濃縮して固体を得た。これを GC-MS で確認したところ、PDF-2 を示すスペクトルパターンを持つ物質の存在が確認されたため、中圧カラムを用いて分取し、PDF-2 3.77 g (18.5 mmol)を得た。出発物 1-bromo-2,3epoxypropane に対するモル収率は 74.0 %であった。PDF-2 の $^1\text{H-NMR}$ スペクトルを Fig.4-21 に、 $^{13}\text{C-NMR}$ スペクトルを Fig.4-22 にそれぞれ示す。

C:\Documents and Settings\valicey\デスクトップ\PDF\20121129 PDF-2 H テータ.als

2.041272
2.045636
2.050000
2.054364
2.058728
2.086498
2.950159
3.826118
3.838417
3.843177
3.854476
4.063754
4.074862
4.083987
4.087557
4.093095
4.097475
4.107393
4.117311
4.131197
4.144288
4.147859
4.160951
4.431514
4.443416
4.454524
4.466632
4.477931
6.561508
6.566872
6.570632
6.579757
6.584517
6.588881
6.598403
6.603163
6.607527
6.613478
6.620222
6.628157
6.632521
6.63694
6.646803
6.651167
6.654737
6.659498

20121129 PDF-2 H テータ.als
Thu Nov 29 12:00:47 2012
SINGL
500.00 MHz
1H
163702.50 Hz
32768
6501.95 Hz
16
5.0397 sec
1.5000 sec
6.50 usec
22.5 c
ACETON
2.05 PPM
0.20 Hz
20
RGAIN

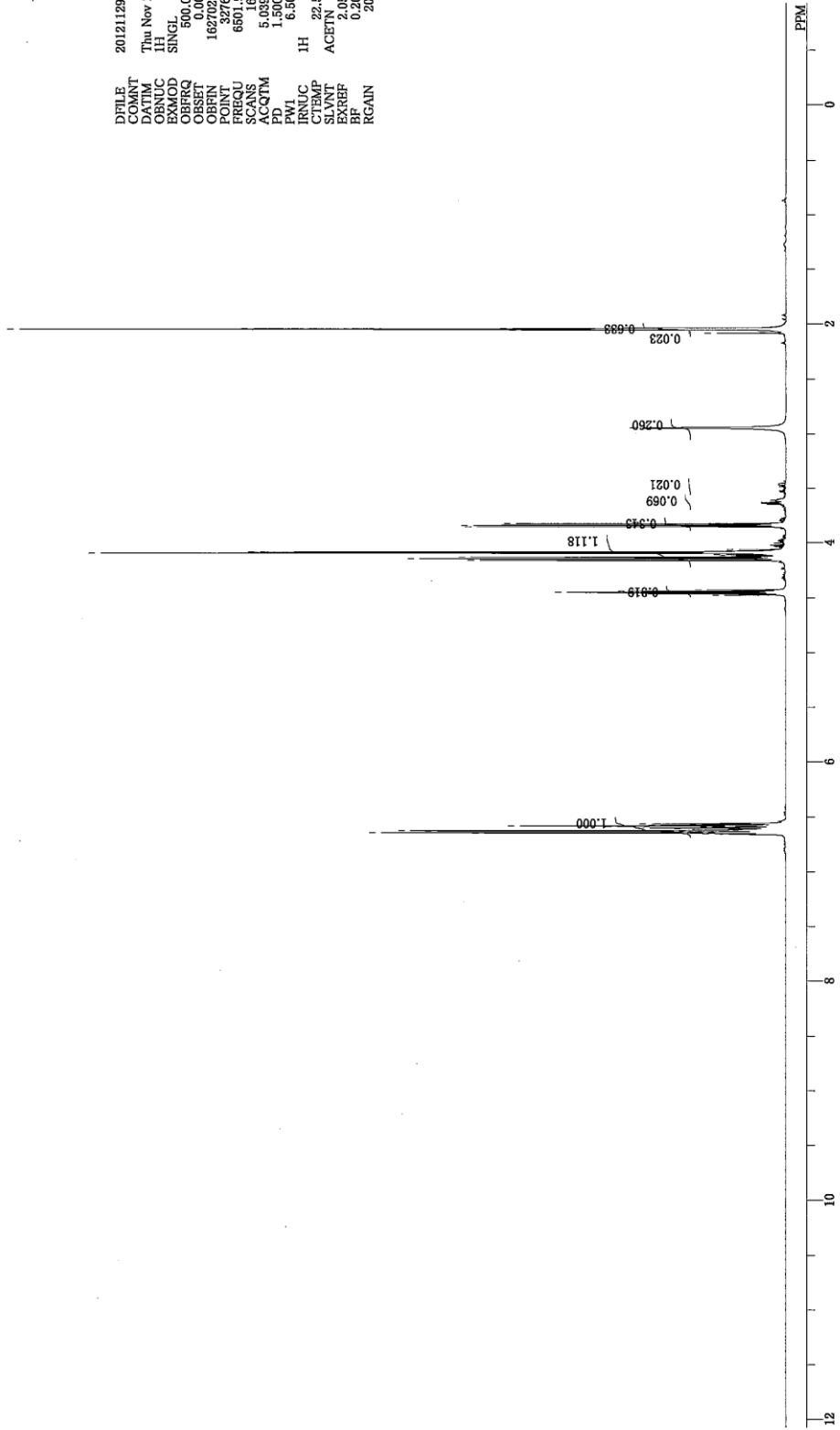


Fig.4-21 ^1H -NMR spectrum of PDF-2

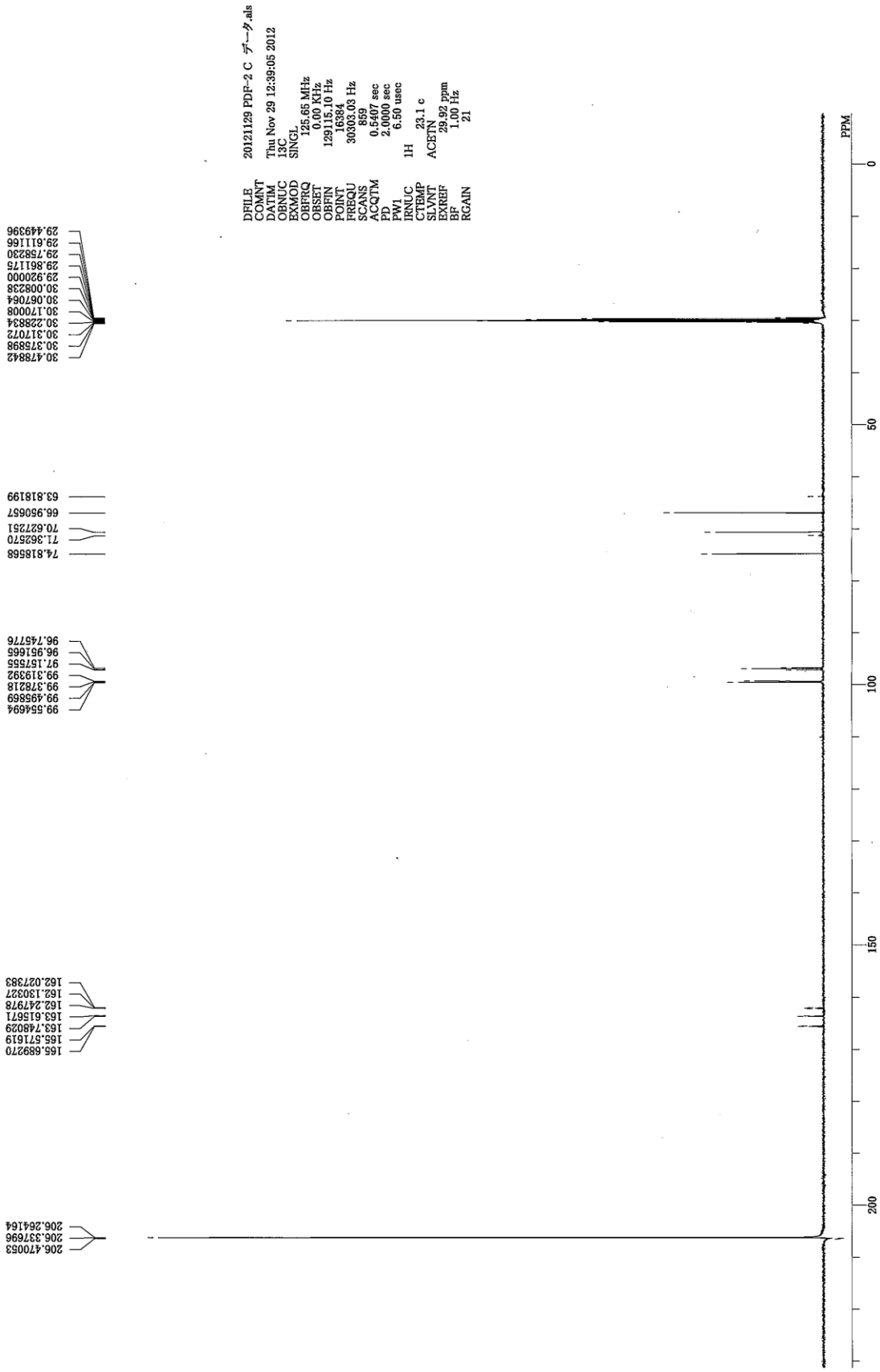


Fig.4-22 ¹³C-NMR spectrum of PDF-2

酸素アルカリ処理

上記の方法で合成した PDF および PDF-2 に、窒素アルカリ処理、酸素アルカリ処理、VA*1 酸素アルカリ処理、そして、VA*10 酸素アルカリ処理をそれぞれ施した。

反応装置

4 種類のアルカリ処理には、3-2-1-2 に記述した反応装置を用いた。

反応溶液

反応溶液の調製に使用する器具は、あらかじめイオン交換水、超純水の順でよく洗浄し乾燥させた。

PDF および PDF-2 の実験では以下の溶液を調製し反応に用いた。その調製を以下に示す。また溶液の調製に用いた 18 mmol/l FeCl₃ 水溶液と 10 mol/l NaOH 水溶液は、3-2-1-2 に記述した方法で調製したものを使用している。

No.23 PDF 61.2 mg を 300 ml 容ポリエチレン製キャップ付きボトルにとり、これに超純水 250 ml を加え、70 °C で 2 日間おき、PDF を超純水に溶解させた。PDF をすべて超純水に溶解させた後、溶液を室温まで冷却し、300 ml 容ガラス製メスフラスコに移した。これに、10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml を入れ、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、PDF 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l の溶液を得た。

No.24 PDF 61.2 mg を 300 ml 容ポリエチレン製キャップ付きボトルにとり、これに超純水 250 ml を加え、70 °C で 2 日間おき、PDF を超純水に溶解させた。PDF をすべて超純水に溶解させた後、溶液を室温まで冷却し、300 ml 容ガラス製メスフラスコに移した。これに、10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、VA 46.2 mg を入れ、VA を完全に溶かした後、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、PDF 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、VA 1.0 mmol/l の溶液を得た。

No.25 PDF 61.2 mg を 300 ml 容ポリエチレン製キャップ付きボトルにとり、これに超純水 250 ml を加え、70 °C で 2 日間おき、PDF を超純水に溶解させた。PDF をすべて超純水に溶解させた後、溶液を室温まで冷却し、300 ml 容ガラス製メスフラスコに移した。これに、10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、VA 46.2 mg を入れ、VA を完全に溶かした後、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、PDF 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、VA 10 mmol/l の溶液を得た。

No.26 PDF-2 61.2 mg を 300 ml 容ポリエチレン製キャップ付きボトルにとり、これに超純水 250 ml を加え、70 °C で 2 日間おき、PDF-2 を超純水に溶解させた。PDF-2 をすべて超純水に溶解させた後、溶液を室温まで冷却し、300 ml 容ガラス製メスフラスコに移した。これに、10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml を入れ、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、PDF-2 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l の溶液を得た。

No.27 PDF-2 61.2 mg を 300 ml 容ポリエチレン製キャップ付きボトルにとり、これに超純

水 250 ml を加え、70 °C で 2 日間おき、PDF-2 を超純水に溶解させた。PDF-2 をすべて超純水に溶解させた後、溶液を室温まで冷却し、300 ml 容ガラス製メスフラスコに移した。これに、10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、VA 46.2 mg を入れ、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、PDF-2 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、VA 1.0 mmol/l の溶液を得た。

No.28 PDF-2 61.2 mg を 300 ml 容ポリエチレン製キャップ付きボトルにとり、これに超純水 250 ml を加え、70 °C で 2 日間おき、PDF-2 を超純水に溶解させた。PDF-2 をすべて超純水に溶解させた後、溶液を室温まで冷却し、300 ml 容ガラス製メスフラスコに移した。これに、10 mol/l NaOH 水溶液 15 ml、18 mmol/l FeCl₃ 水溶液 6 ml、VA 462 mg を入れ、超純水を加えて 300 ml とした。これにより、PDF-2 1.0 mmol/l、NaOH 0.5 mol/l、FeCl₃ 0.36 mmol/l、VA 10 mmol/l の溶液を得た。

No.23 の溶液は 2 回調製し、「PDF の窒素アルカリ処理」、「PDF の酸素アルカリ処理」にそれぞれ用いた。No.24 の溶液は「PDF の VA*1 酸素アルカリ処理」に、No.25 の溶液は「PDF の VA*10 酸素アルカリ処理」に用いた。

No.26 の溶液は 2 回調製し、「PDF-2 の窒素アルカリ処理」、「PDF-2 の酸素アルカリ処理」にそれぞれ用いた。No.27 の溶液は「PDF-2 の VA*1 酸素アルカリ処理」に、No.28 の溶液は「PDF-2 の VA*10 酸素アルカリ処理」に用いた。

反応

3-2-1-2 に記述した方法に従った。内部標準液は 2 mmol/l 2,3-dichlorophenol メタノール溶液を用いた。

分析

島津製高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を以下のような条件に設定し、PDF および PDF-2 の分析を行った。

HPLC 測定条件

カラム：Luna 5u C18(2) 100A (phenomenex 製、長さ 150 mm)

移動層：水:メタノール (75:25—10 min—72:25—20 min—40:60—5 min—40:60)

流速：1.0 ml/min 分析時間：35 分

検出器：PDA 検出波長：254 nm

4-2-3-3 結果と考察

PDF の分解挙動、および、PDF の分解に伴って系中に遊離した DFPh の生成挙動を、Fig.4-23 に示す。また、PDF-2 の分解挙動、および、PDF-2 の分解に伴って系中に遊離した DFPh の生成挙動を、Fig.4-24 に示す。

アルカリの作用による PDF および PDF-2 の分解、そして、これらからの DFPh 生成を検討するために行った窒素アルカリ処理では、PDF および PDF-2 の大幅な分解は観測されなかったが、どちらの場合も 360 min において約 5 % (対初期 PDF または PDF-2) の DFPh が遊離した。この結果から、PDF および PDF-2 はアルカリの作用によって若干分解されることが示された。

3-2-4-3 および 3-2-5-3 で記したように、 α -位にベンジル性 2 級水酸基を持つ CMGDC および VDF は、窒素アルカリ処理中においてアルカリの作用によって分解され、それぞれから B 環由来である DCPh および DFPh が遊離した。一方、第 2 級水酸基を持つ PDF-2 は Fig.4-24 に示すように、これらよりはかなり安定であった。これらのモデル化合物の β -O-4 結合開裂は、隣接位水酸基の解離によって生成するアルコキシドアニオンの分子内求核置換反応に起因すると考えられるが、これら上記の結果から、この反応は隣接位が第 1 級および第 2 級のアロキシル性水酸基である場合と比較すると、ベンジル位における第 2 級水酸基である場合に非常に速いことがわかる。なお、ベンジル性 2 級水酸基は pKa の値が相対的に小さく、解離しやすいことが知られている。

窒素アルカリ処理と VA を添加しない酸素アルカリ処理における PDF の分解挙動を比較すると、後者では前者でよりも少し速く、また、DFPh の生成挙動も同様に、後者でその生成量が少し多かった。したがって、分子状酸素が系中に存在することによって、PDF の分解が促進される可能性が考えられるが、この現象を合理的に説明することはできない。一方、PDF-2 の分解およびこれに伴う DFPh の生成は、両処理においてほとんど差がなかった。したがって、PDF-2 は分子状酸素とほとんど反応しないと考えられる。

酸素アルカリ処理および VA を添加した酸素アルカリ処理における PDF または PDF-2 の分解挙動、そして、これらの分解に伴う DFPh の生成挙動を比較すると、系中に VA が存在することによって、これらが促進されることがわかる。したがって、VA と分子状酸素との反応により生成する AOS によって PDF と PDF-2 は分解され、DFPh の遊離が促進されることが示唆される。

PDF、PDF-2 それぞれについて、VA を添加していない場合と添加した場合 (PDF、PDF-2 の 10 倍量) の酸素アルカリ処理における、これらのモデル化合物の残存量の差を、Fig.4-25 に示す。また、Fig.4-26 に PDF、PDF-2 それぞれについて、VA を添加していない場合と添加した場合 (PDF、PDF-2 の 10 倍量) の酸素アルカリ処理における、DFPh 生成量の差を示す。

Fig.4-25 および Fig.4-26 から、VA を生成源とする AOS が系中に存在する場合の分解、および、その分解に伴う DFPh 生成双方について、PDF-2 の方が PDF よりも多いことが分かる。この結果から、AOS によるモデル化合物の分解、そして、その分解に伴う β -O-4 結

合の開裂は、第2級水酸基が側鎖に存在する場合の方が起こりやすいこと、すなわち、ヒドロキシメチレン基の方がヒドロキシメチル基よりも AOS によって攻撃されやすいことが示唆される。これは、Maekawa らがアルディトール類を用いて検討した結果⁴¹⁾と合致する。

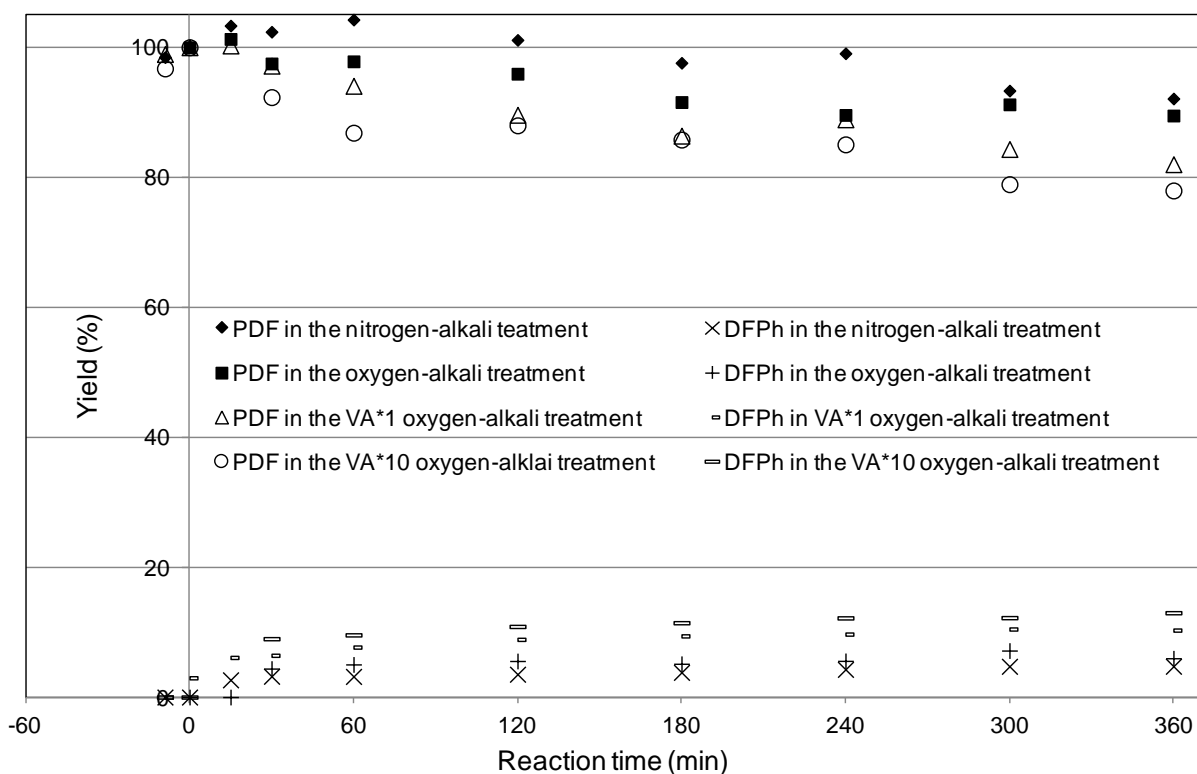


Fig.4-23 Change in the yields of PDF and DFPh in the nitrogen-, oxygen-, VA*1 oxygen-, or VA*10 oxygen-alkali treatment of PDF.

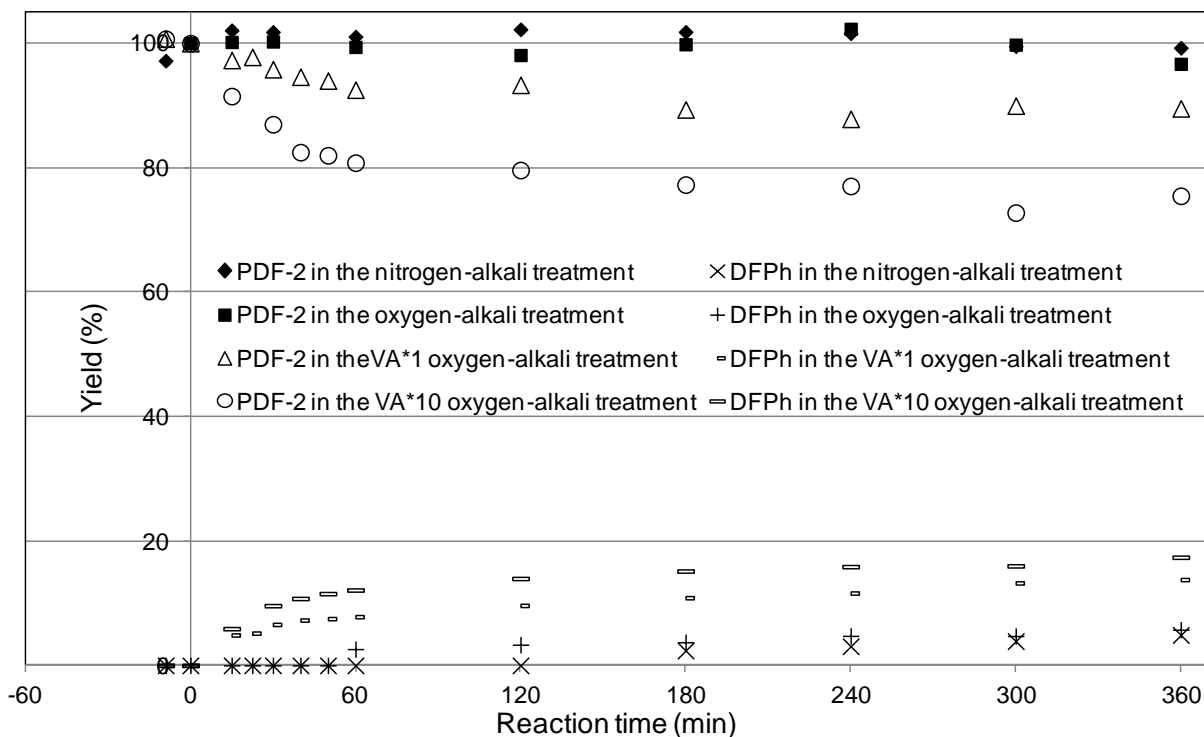


Fig.4-24 Change in the yields of PDF-2 and DFPh in the nitrogen-, oxygen-, VA*1 oxygen-, or VA*10 oxygen-alkali treatment of PDF-2.

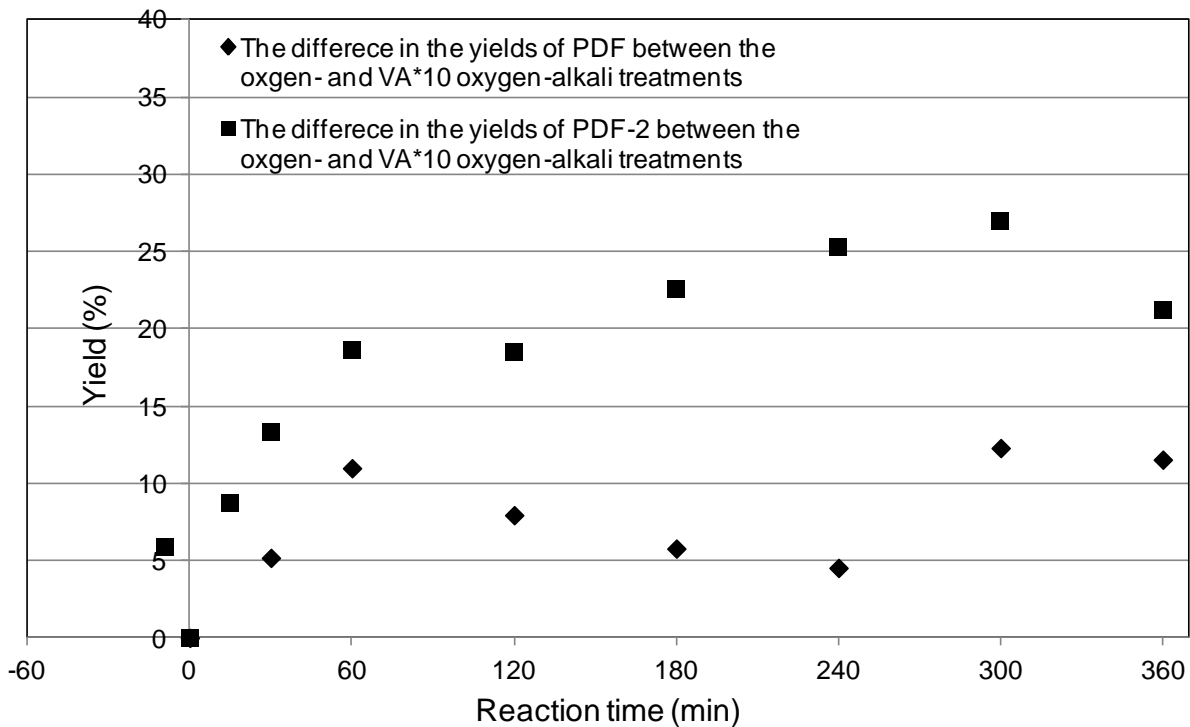


Fig.4-25 Difference in the yield of PDF or PDF-2 between the oxygen- and VA*10 oxygen-alkali treatments

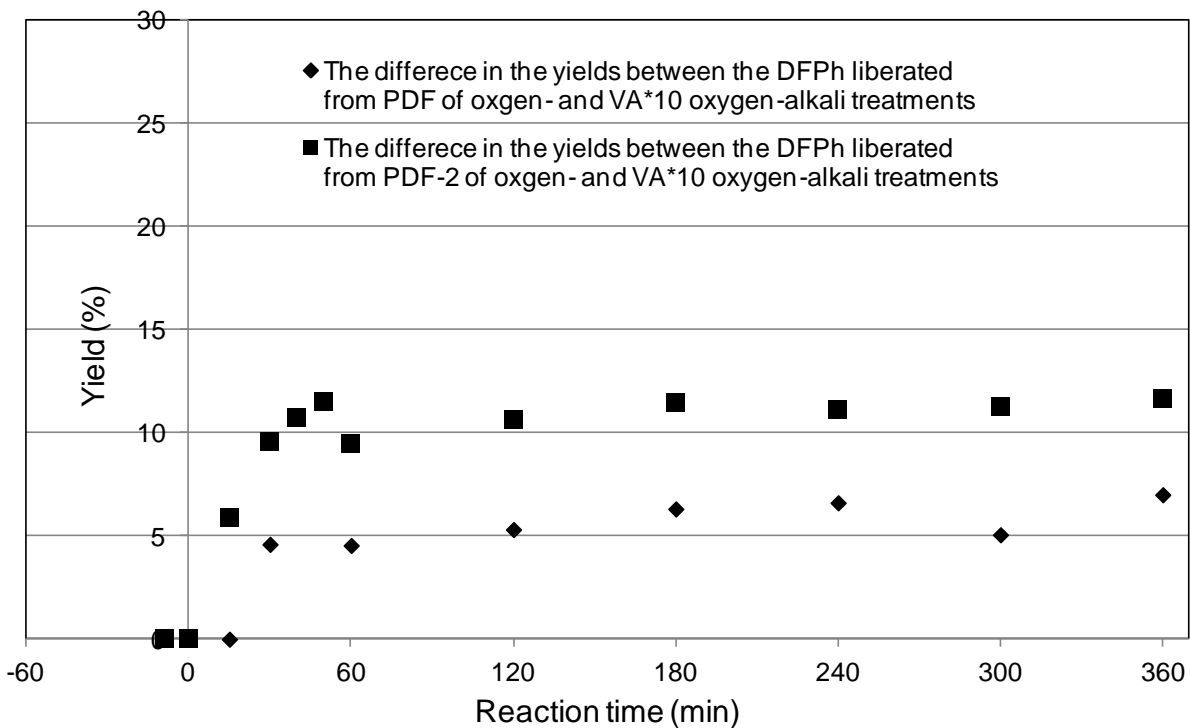


Fig.4-26 Difference in the yield of DFPh liberated from PDF or PDF-2 between the oxygen- and VA*10 oxygen-alkali treatments

4-3 本章のまとめ

リグニン側鎖部位の酸化における α -位水酸基の存在の影響を検討するために、 α -位に水酸基の代わりにメトキシ基を持ち、B環としてDFPhを持つフェノール性または非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物 α -OMe-GDFまたは α -OMe-VDFを酸素アルカリ処理し、その結果を、 α -位に水酸基を持つGDFまたはVDFの酸素アルカリ処理結果とそれぞれ比較した。その結果、 α -OMe-GDFはGDFより、 β -O-4結合の開裂が引き起こされにくく、そして、 α -OMe-VDFにおいては、AOSを共存させた酸素アルカリ処理によっても β -O-4結合の開裂が全く引き起こされなかった。この結果、特に α -OMe-VDFの結果から、AOSと側鎖の反応によって引き起こされる β -O-4結合の開裂においては、 α -位水酸基の存在が重要であり、これが存在しないと β -O-4結合の開裂が進行し難いことが示唆された。

AOSの側鎖部位の酸化において、 α -位水酸基の性質をベンジル性水酸基であること、および、第2級水酸基あることを区別して検討するために、そして、第1級水酸基をもつヒドロキシメチル基および第2級水酸基を持つヒドロキシメチレン基の反応性の相違を検討するために、第1級水酸基のみを持つ側鎖部位とB環で構成されたモデル化合物PDFと、第1級および第2級水酸基を持つ側鎖部位とB環で構成されたモデル化合物PDF-2を酸素アルカリ処理し、これらの結果を比較した。この比較により、側鎖部位に第2級水酸基が存在することによって、AOSに分解されやすくなることが示唆された。また、窒素アルカリ処理におけるPDF-2とVDFの結果の比較から、アルカリによる基質の分解はベンジル性2級水酸基の存在がによって大きく促進されることが示唆された。

第 5 章

結論

5-1 結論

最も一般的な非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物として用いられる VG (Fig.2-3)の窒素、酸素、そして AOS を共存させた酸素アルカリ処理結果より、酸素アルカリ処理中では AOS によって VG の側鎖部位が酸化分解され、これに伴って β -O-4結合が開裂し、非フェノール性であった芳香環部分がフェノール性へと変換されていることが示された。

DCPh (Fig.2-3)または DFPh (Fig.2-3)を B 環として持つ、フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物 GDC および GDF の窒素、酸素アルカリ処理結果から、 β -O-4結合のみで構成されており、末端にフェノール性部位を持つリグニン部位は系中に酸素アルカリ処理で速やかにその β -O-4結合が開裂することが示唆された。

B 環に DCPh を持つ非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物 VDC (Fig.2-3)および CMGDC (Fig.2-3)をそれぞれ酸素アルカリ処理した。これらの結果から、酸素アルカリ処理中に発生させた AOS による非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物の β -O-4結合開裂を検討するためには、リグニンモデル化合物が、有機溶媒を用いることなく、そして、一部がイオン化することなくアルカリ性水溶液に溶解することが重要であることが示された。

そのため、有機溶媒を含まないアルカリ性水溶液に、一部がイオン化することなく、溶解する非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物 VDF (Fig.2-3)を酸素アルカリ処理した。

B 環に DFPh を持つ非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物 VDF の酸素および AOS を共存させた酸素アルカリ処理結果より、リグニン中の側鎖部位が AOS によって分解され、 β -O-4結合開裂が促進されている事が示された。

α -位水酸基の代わりにメトキシル基を持つフェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物 α -OMe-GDF (Fig.2-3)を酸素アルカリ処理し、その結果を、GDF のものと比較した。酸素アルカリ処理における α -OMe-GDF の分解挙動は、GDF と類似したが、DFPh 生成挙動は GDF より小さかった。この DFPh 生成挙動の差は、 β -O-4結合の開裂を伴わない分解機構の存在、一例をあげるとキノンメチド構造を経ることによる C_{α} - C_{β} 間結合の開裂、を示唆しており、この機構をとることによって AOS による側鎖部位攻撃による β -O-4結合の開裂機構が抑制されている可能性が考えられる。

α -位水酸基の代わりにメトキシル基を持つ非フェノール性 β -O-4型リグニンモデル化合物 α -OMe-VDF (Fig.2-3)を酸素アルカリ処理し、その結果を VDF のものと比較した。その結果、AOS による側鎖部位の酸化分解には、 α -位水酸基の存在が重要である、ことが示唆された。

第 1 級水酸基を持つ側鎖部位と B 環で構成されたモデル化合物 2-(3,5-difluorophenoxy)propane-1,3-diol (PDF, Fig.2-3)、および、第 2 級水酸基を持つ側鎖部位と B 環で構成されたモデル化合物 3-(3,5-difluorophenoxy)propane-1,2-diol (PDF-2, Fig.2-3)の酸素アルカリ処理を行った。これらの酸素アルカリ処理の結果から、側鎖部位に第 2 級水酸基を持つと、AOS

による基質の分解、および、アリールエーテル結合の開裂が促進されることが示唆された。

これらの実験結果から、酸素漂白処理条件下において、フェノール性 β -O-4 型リグニン部位は速やかに分解され、 β -O-4 結合の開裂が引き起こされていること、そして、非フェノール性 β -O-4 型リグニン部位は系中に生成した AOS によってその側鎖部位が酸化分解され、 β -O-4 結合の開裂がひきこされている可能性が示唆され、Tong および Imai によって示唆された“酸素漂白処理においては、リグニン中の β -O-4 結合などを構成する非フェノール性部位は、その側鎖の酸化分解に伴いアリールエーテル結合が開裂した結果として、フェノール性部位に変換される。このため、元のリグニン中では非フェノール性であった部位の分子状酸素による酸化反応が進む。”という可能性を支持する結果が得られた。

AOS による側鎖部位の酸化分解、および、それに伴う β -O-4 結合開裂の機構には、B 環の脱離能、A 環がフェノール性であるかどうか、側鎖部位に 2 級水酸基を持つか、そして、ベンジル性 2 級水酸基存在するかどうか、が関与していると示唆された。

5-2 参考文献

- 1) 細谷修二, (1992) 紙パルプ技術協誌, **46**(11):1344
- 2) J. Gierer (1980) *Wood Science and Technology*, **14**:241
- 3) J. Gierer (1985) *Wood Science and Technology*, **19**:289
- 4) Eriksson, T. and J. Gierer (1985) *J.Wood.Chem.Technol.*, **5**(1):53
- 5) J. Gierer (1970) *Svensk Papperstidn.*, **73**(18):571
- 6) S. Ljunggren (1986) *J.Pulp.Paper.Sci.*, **12**(2):54
- 7) Hui Xu and Yuan-Zong Lai (1997) *J.Wood.Chem.Technol.*, **17**(3):223
- 8) Hui Xu and Yuan-Zong Lai (1999) *J.Wood.Chem.Technol.*, **19**(1&2):1
- 9) 日本化学会 (1995) 活性酸素種の化学, 学会出版センター., pp.4,5
- 10) J. Griere, T. Reitberger, E. Yang, B. Yoon (2001) *J.Wood.Chem.Tech.*, **21**(4):313
- 11) E. Johansson, S. Ljunggren (1994) *J. Wood Chem. Technol.*, **14**:507
- 12) R.C.Eckert, H.-M.Chang and W.P.Tucker (1973) *Tappi*, **56**(6):134
- 13) J. Gierer, F. Imsgard (1977) *Acta Chem. Scand.*, **B31**:537
- 14) G. Tong (2000) 博士論文 東京大学大学院
- 15) G. Tong, Y. Matsumoto, G. Meshitsuka (2000) *J.Wood.Sci.*, **46**(1):32
- 16) G. Tong, Y. Matsumoto, G. Meshitsuka (2000) *J.Wood.Sci.*, **46**(5):371
- 17) A. Imai (2000) 修士論文 東京大学大学院
- 18) A. Imai, I. Tomoda, T. Yokoyama, Y. Matsumoto, G. Meshitsuka and G. Tong (2008) *J.Wood.Sci.*, **54**(1):62
- 19) A. Imai, I. Tomoda, T. Yokoyama, Y. Matsumoto, G. Meshitsuka and G. Tong (2007) *J.Agr.Food.Chem.*, **55**:9043
- 20) Donald T. Sawyer, Joan S. Valentine (1981) *Acc. chem. Res.*, **14**:393
- 21) K. Kratzl, E. Risnyovszky-Schafer, P. Claus, E. Wittmann (1966) *Holzforschung.*, **20**:21
- 22) K. Kratzl, P. Claus, W. Lomsky, and J. S. Gratzl (1974) *Wood Science and Technology.*, **8**:35
- 23) Monica Ek, Josef Gierer, Kerstin Jansbo, and Torbjorn Reitberger (1989) *Holzforschung.*, **43**(6):319
- 24) Josef Gierer, Erquan Yang, and Torbjorn Reitberger (1992) *Holzforschung.*, **46**(6):495
- 25) Josef Gierer, Erquan Yang, and Torbjorn Reitberger (1994) *Holzforschung.*, **48**(5):405
- 26) Josef Gierer, Erquan Yang, and Torbjorn Reitberger (1996) *Holzforschung.*, **50**(4):342
- 27) Josef Gierer, Erquan Yang, and Torbjorn Reitberger (1996) *Holzforschung.*, **50**(4):353
- 28) Briger Ericsson, Bengt O. Lingren and Olof Theander (1971) *Svensk Papperstidning.*, **30**:757
- 29) Yuang H. E. and Guinn V. P. (1966) *Tappi.*, **49**(5):190
- 30) Fossum T., Hartler N. and Libert J. (1972) *Svensk Papperstidning.*, **75**(8):305
- 31) Hosoya S., Hatakeyama H. and Nakano J. (1970) *Mokuzai Gakkaishi.*, **16**(3):140
- 32) Tomoya Yokoyama, Yuji Matsumoto, and Gyosuke Meshitsuka (1999) *J.Wood.Chem.Tech.*, **19**(3):187
- 33) 紙パルプ技術協会 (2000) パルプの洗浄・精選・漂白, 紙パルプ技術協会., pp.101

- 34) M. Yasumoto, Y. Matsumoto and A. Ishizu (1996) *J.Wood.Chem.Tech.*, **16**(1):95
- 35) T. Yokoyama, Y. Matsumoto, M. Yasumoto, and G. Meshitsuka (1996) *J.Pulp.Paper.Sci.*, **22**(5), J151
- 36) T. Yokoyama, Y. Matsumoto and G. Meshitsuka (2007) *J.Agr.Food.Chem.*, **55**:1301
- 37) H. R. Gersmann and A. F. Bickel (1962) *J.Chem.Society.*, pp.2356
- 38) Criss D., Ingram L. L., Schultz T. P., Fisher T. H. (1997) *J.Org.Chem.*, **62**:7885
- 39) Donald Dimmel and Goran Gellerstedt (2010) *Lignin and Lignans*, pp.359
- 40) F. Konishi, T. Yokoyama and Y. Matsumoto (2009) *Holzforshung.*, **63**:52
- 41) T. Yokoyama, I. Maekawa, Y. Matsumoto and G. Meshitsuka (1998) *J.Wood.Sci.*, **44**(5):421
- 42) T. Yokoyama, Y. Matsumoto and G. Meshitsuka (2005) *Holzforshung.*, **59**(3):269
- 43) Josef Gierer (1997) *Holzforshung.*, **51**(1):34
- 44) Paula Y. Bruice (2007) ブルース有機化学, (株)化学同人., pp.98~99
- 45) A. Nakagawa, T. Yokoyama, Y. Matsumoto (2012) *J.Wood Sci.*, **58**(6):563
- 46) J. Gierer, F. Imsgard (1980) Chemistry of Delignification with Oxygen Ozone and Hydrogen Peroxide, *Uni Publishers Co.Ltd.* 137
- 47) H-M. Chang, J.S. Gratzl (1980) Chemistry of Delignification with Oxygen Ozone and Hydrogen Peroxide, *Uni Publishers Co.Ltd.* 151
- 48) Haber F. and Weiss J. (1932) *Naturwissenschaften* **20**:948
- 49) 紙パルプ技術協会 (2000) パルプの洗浄・精選・漂白, 紙パルプ技術協会., pp.96
- 50) 紙パルプ技術協会 (2000) パルプの洗浄・精選・漂白, 紙パルプ技術協会., pp.94~96

5-3 謝辞

本研究を進めるにあたり、2007年からの、6年の間、終始懇切丁寧なご指導をいただき、叱咤激励をして下さいました、東京大学大学院農学生命科学研究科生物材料科学専攻木材化学研究室の松本雄二教授、並びに、横山朝哉准教授に心より御礼を申し上げます。

特に横山准教授には、実験の手法から、結果に対する考察、学会発表、そして、論文作成に至るまで、6年間の間様々な面で直接の、そして、細やかな御指導を戴きまして、心より深く感謝しております。

細かい実験手法、特にモデル化合物の合成および NMR 分析方法に関して、多数の御指導を下さった、東京大学大学院農学生命科学研究科生物材料科学専攻木材化学研究室の秋山拓也助教に深く感謝しております。

日本大学生物資源科学部森林資源科学科バイオマス科学研究室に所属していたとき、御指導いただきました、志水一允博士(元日本大学生物資源科学部森林資源科学科バイオマス科学研究室)、そして、学部生の卒業研究から、研究内容を始め、生活、そして、進路の面まで御指導いただき、相談に乗って下さった相見光博士(現日本製紙株式会社)に心より御礼を申し上げます。

6年間に同じ研究室に所属していた先輩、後輩、そして友人達に多大な感謝をしております。6年間同じ研究室にいた山ギシ崇之博士、木材化学研究室での実験手法を丁寧に指導して下さいました伊藤宏昭様(現サンド株式会社)、酸素アルカリ処理手法を教えて下さった小西史子様(現三菱レイヨン株式会社)、研究に関して貴重な考察をして頂いた竹野甲子夫様(現キャノン株式会社)、モデル化合物の合成手法に関して一緒に考えて下さった今井貴章様(現大王製紙株式会社)、研究に関して貴重な示唆を下さった石川裕剛様(現株式会社ダイセル)、そして、VG の出発物質を分けて下さった清水智子様には深く感謝をしております。

最後になりましたが、長い間生活の面で支援して下さいました両親に多大な感謝をしております。

5-4 投稿論文一覽

1. Satoshi Ohmura, Tomoya Yokoyama and Yuji Matsumoto (2012) Progress of oxidation of non-phenolic lignin moiety in an oxygen bleaching process via the conversion of non-phenolic into phenolic lignin moiety, *Journal of Wood Science*, **58**(3):243-250
2. Satoshi Ohmura, Tomoya Yokoyama and Yuji Matsumoto (2012) Significance of benzylichydroxymethyl-ene group in the reaction of lignin side-chain with active oxygen species under oxygen bleaching conditions, *Journal of Wood Science*, 投稿中