

## (論文内容の要旨)

本論文は、リグニン生合成の最終段階であるモノリグノール (H型: *p*-クマリルアルコール、G型: コニフェリルアルコール、S型: シナピルアルコール) の酵素的脱水素重合反応機構の解明を目指し、モノリグノール $\gamma$ -*O*-配糖体 (H型: トリアンドリン、G型: イソコニフェリン、S型: イソシリンジン) を用いる西洋わさびペルオキシダーゼ (HRP) 触媒脱水素重合のモニタリング法の開発、およびそのモニタリング法による重合機構の解析についての一連の研究成果を取りまとめたものである。

第1章では、3種のモノリグノール $\gamma$ -*O*-配糖体の化学合成法について述べている。*p*-ヒドロキシベンズアルデヒド誘導体から、アセチル化反応、Knoevenagel縮合反応、カルボキシル基の選択的還元反応、グリコシル化反応 (イミデート法)、および脱アシル化反応の5段階からなる配糖体の高収率での大量合成法を確立した。

第2章では、3種の配糖体のHRP触媒重合について、モノリグノールの重合と対比しながら述べている。全ての配糖体のHRP触媒重合では、 $\gamma$ 位のグルコース基により人工リグニン (DHP) に水溶性が付与され、結果として、重合が均一系で進行することを明らかにした。H型およびG型配糖体の重合は対応するモノリグノールの重合と同様に高収率にDHPを与えることを見出し、また均一反応系の効果によりDHPの重合度が向上することも認めた。一方で、S型モノリグノールの重合ではDHPの収率と重合度が著しく低いことがすでに報告されていたが、S型配糖体の均一系重合においても同様であることを見出した。また、配糖体とモノリグノールの酸化電位、HRP触媒酸化速度の比較から、 $\gamma$ 位へのグルコース基の導入はモノリグノールの本質的な反応性に影響しないことも明らかにした。これらの結果より、配糖体の重合挙動は基本的にモノリグノールの重合挙動を反映すること、それ故に、配糖体のHRP触媒重合がモノリグノールのHRP触媒重合の均一系モデル反応として有効であることを見出した。

第3章では、G型およびS型配糖体のHRP触媒共重合について、モノリグノールの共重合と対比しながら述べている。配糖体の共重合は、全てのモノマー仕込み比において均一系で進行することを認めた。配糖体の共重合挙動はモノリグノールの共重合挙動を忠実に反映することを認め、共重合系においても配糖体のHRP触媒重合がモノリグノールのHRP触媒重合の均一系モデル反応として有効であることを確認した。また、いずれの共重合系においてもDHPの収率と重合度がG型モノマーの仕込み量と比例的に増加したことから、共重合において、G型モノマーの直接的な作用によりS型モノマーの高分子量化が促進されるという新知見を得た。

第4章では、配糖体の脱水素重合過程のUVスペクトルを用いたモニタリング法、およびその手法を用いたG型およびS型配糖体の重合挙動の解析について述べている。配糖

体の HRP 触媒重合において、その均一反応溶液を直接 UV スペクトル測定することで、重合過程における化学構造変化をリアルタイムで追跡し得ることを見出した。この手法により、G 型配糖体の重合と比較して、S 型配糖体の重合ではキノンメチド中間体 (QM) が非常に安定であることを明らかにし、S 型モノリグノールの重合における S 型 QM の低い反応性が DHP の低収率、低重合度の一因であることをはじめて提案した。また、G 型および S 型配糖体の共重合のモニタリングにより、S 型 QM の消失速度が G 型配糖体の添加量の増加と共に加速することを見出した。さらに、S 型 QM への G 型フェノール化合物の求核付加反応が特に速い速度で進行することから、共重合において G 型モノリグノールが S 型 QM の解消を促進する求核試薬として作用し、S 型モノリグノールの高分子量化を促進する機構を提案した。

第 5 章では、フォトダイオードアレイ検出器付きゲル浸透クロマトグラフィー (GPC-PDA) を用いた配糖体の脱水素重合過程のモニタリング法、およびその手法を用いた G 型および S 型配糖体の重合挙動の解析について述べている。配糖体の HRP 触媒重合において、その均一反応溶液を経時的に GPC-PDA 分析することにより、重合過程における分子量変化と化学構造変化を同時に追跡し得ることを見出した。この手法により、配糖体の単独重合および共重合過程をモニタリングし、解析法の有効性とともにより提案した機構の妥当性を認めた。

第 6 章では、S 型配糖体および S 型モノリグノールの脱水素重合に及ぼす求核試薬の効果について述べている。S 型配糖体の HRP 触媒重合過程のモニタリングにより、求核試薬アジドイオンの添加が S 型 QM の解消と DHP の生成を著しく促進することを見出した。次いで、アジドイオン存在下で S 型モノリグノールの HRP 触媒重合を行ったところ、DHP の収率は無添加の場合の約 10% から最大で 83% にまで向上することが判明した。また、DHP の化学構造解析から、 $\beta$ -O-4 型構造の  $\alpha$  位にアジド基が優先的に導入されていること、すなわち、重合過程でアジドイオンが効率的に QM と反応したことを証明した。これらの結果より、S 型モノリグノールの脱水素重合の進行を阻害する主要因が QM の低い反応性にあることを実証した。

第 7 章では、S 型配糖体および S 型モノリグノールの脱水素重合に及ぼす溶媒 pH の効果について述べている。S 型配糖体の HRP 触媒重合過程のモニタリングにより、pH3.5 程度の酸性領域では、HRP 触媒活性が低下するものの、S 型 QM の消失速度が向上し、同時に DHP の生成が促進されることを見出した。次いで、S 型モノリグノールの HRP 触媒重合および DHP の化学構造解析を行ったところ、酸性溶媒中では溶媒水分子による S 型 QM への求核付加反応により DHP の収率が向上することが判明した。これらの結果より、QM の反応性の観点からは、S 型モノリグノールの脱水素重合には酸性条件が適することを見出した。

氏名

飛松裕基

(論文審査の結果の要旨)

モノリグノールの酵素的脱水素重合は、天然におけるリグニン生合成の実験室的モデル反応として、またリグニンモデルポリマーである人工リグニン (DHP) の合成反応として重要であるが、その重合機構には未解明な部分が多い。本論文は、モノリグノールの $\gamma$ 位水酸基が脱水素重合におけるラジカルカップリング反応に直接関与しない点に着目し、モノリグノール $\gamma$ -O-配糖体の合成、配糖体の脱水素重合挙動の解析、配糖体による新規な脱水素重合過程の解析法の開発、およびその解析法によるS型モノリグノールの重合の解析についての研究成果をまとめたものである。

内容のうち、特に高く評価できる点は次の通りである。

1. 3種のモノリグノール $\gamma$ -O-配糖体 (トリアンドリン、イソコニフェリン、イソシリジン) を簡便かつ高収率に化学合成することにはじめて成功している。
2. 配糖体の西洋わさびペルオキシダーゼ (HRP) 触媒脱水素重合において、水溶性DHPが均一系で生成することを明らかにしている。また、 $\gamma$ 位へのグルコース基の導入は脱水素重合でのモノリグノールの高分子量化の挙動と反応性に本質的には影響しないこと、すなわち、配糖体の重合はモノリグノールの重合を均一系で解析するための有効なモデル反応系となりえることを実証している。
3. 配糖体の均一系HRP触媒重合をUVスペクトル分光法とゲル濾過浸透クロマトグラフィー法を併用しモニタリングすることにより、従来困難であった脱水素重合過程での化学構造変化と分子量変化の同時解析に成功している。
4. S型モノマーの重合過程において、キノンメチド中間体 (QM) が極めて安定に存在していることをはじめて発見している。さらに、QMを解消する求核試薬の存在下でS型モノマーを重合すれば、DHPの高分子量化が著しく促進されることを確認し、S型モノマーの重合を阻害する主要因がQMの低い反応性にあることをはじめて実証している。
5. G型およびS型モノマーの共重合において、G型モノマーの仕込み量の増加にとともにS型QMの消失速度が加速し、かつDHPの高分子量化が促進されることを見出している。さらに、G型フェノール化合物のS型QMへの求核付加反応が効率よく進行することを明らかにし、共重合においてG型モノマーがS型QMを解消する求核試薬として作用することをはじめて提案している。
6. S型モノマーの脱水素重合において、pH3.5程度の酸性条件下では、溶媒水分子のS型QMへの求核付加反応が効率よく進行し、その結果として、DHPの高分子量化が促進されることを実証し、天然におけるリグニンの重合を制御する因子としてpH環境が極めて重要であることを指摘している。

以上のように、本論文は、モノリグノール $\gamma$ -O-配糖体による新規な脱水素重合過程のモニタリング法を確立し、さらにその方法により、S型モノリグノールの特異な重合挙動にQMが深く関与していることをはじめて実証した結果について述べており、リグニン化学、木材化学ならびに天然高分子化学の進歩に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成21年2月5日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士 (農学) の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。