

## 広葉樹リグニンの化学\*

樋口 隆昌\*\*

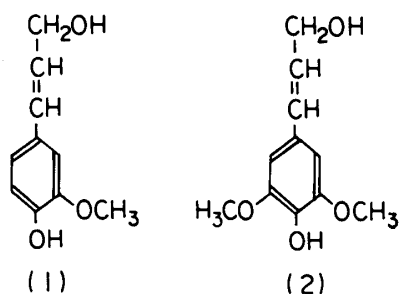
Chemistry of Hardwood Lignins

Takayoshi HIGUCHI\*\*

### はじめに

植物進化の研究によると陸上植物はアオノリ、アオミドロ、クラミドモナスのような緑藻類の祖先型からコケ、シダ類などを経て進化してきたもののようで、水中生活をしてきた藻類が陸上植物になるためには、組織が乾燥に耐える体制を獲得することがまづ必要であったといわれている。このために陸上植物では土壌から水分を取り入れるための根と、それを運搬する維管束が発達してきた<sup>1)</sup>。植物組織中におけるリグニンの発生は植物の進化の過程と密接に結びついており、リグニンはヒカゲノカヅラ、シダ類以上の管束植物に存在し、特に一般の針葉樹、広葉樹のような樹木では重力、雷、風雨などの厳しい環境条件から樹体を守るため、リグニンは木部の細胞壁内および壁間を結着するコンクリートの役割をしている。実際に木部細胞壁の形成に伴うリグニンの生成の様式を紫外線顕微鏡で調らべてみると、分化した木部細胞（木繊維、仮道管、道管など）の2次膜の S<sub>1</sub> 層が形成される頃に、1次膜のすみからリグニンが形成され始め、組織の成熟に伴って次第に中間層、1次膜、2次膜へと進んでいくことが明らかにされている<sup>2)</sup>。また最近の GORING らの研究<sup>3)</sup>によると完全に木化したブラックスプルース (*Picea mariana* MILL.) 仮道管壁のリグニンは70~80%が2次膜にあり、残りの30~20%が複合中間膜に含まれているが、膜壁中におけるリグニンの濃度は複合中間膜において著しく高く50~100%で、2次膜では約20%であり、上記したコンクリートの役割を考えるとバランスのよい分布をしていることが理解される。

リグニンの種類は植物の進化とともに変化しており、針葉樹（裸子植物）リグニンは主としてコニフェリルアルコール（1）の脱水素重合体からなるが、広葉樹（被子植物）リグニンは（1）とシナピルアルコール（2）の共重合体からなっていることが明らかにされてきつつある<sup>4)</sup>。



リグニンについては主としてパルプ工業との関連性からすでに100年以上にわたって研究が行われてきたが、近年にいたって針葉樹リグニンの化学構造の概略が明らかにされてきた。一方、広葉樹リグニンの構造研究についての系統的な研究は最近ようやく行われ始めた状況であるが、広葉樹リグニンはグワヤシル基とシリングル基を含むモノマーが基本的には針葉樹リグニンと同様の機構で重縮合しているものと考えられるので<sup>4)</sup>、針葉樹リグニンの構造様式がほぼ解明された今後は急速に明確にされていくものと思われる。

\* 第23回木研公開講演（大阪，1972.5.19）において講演

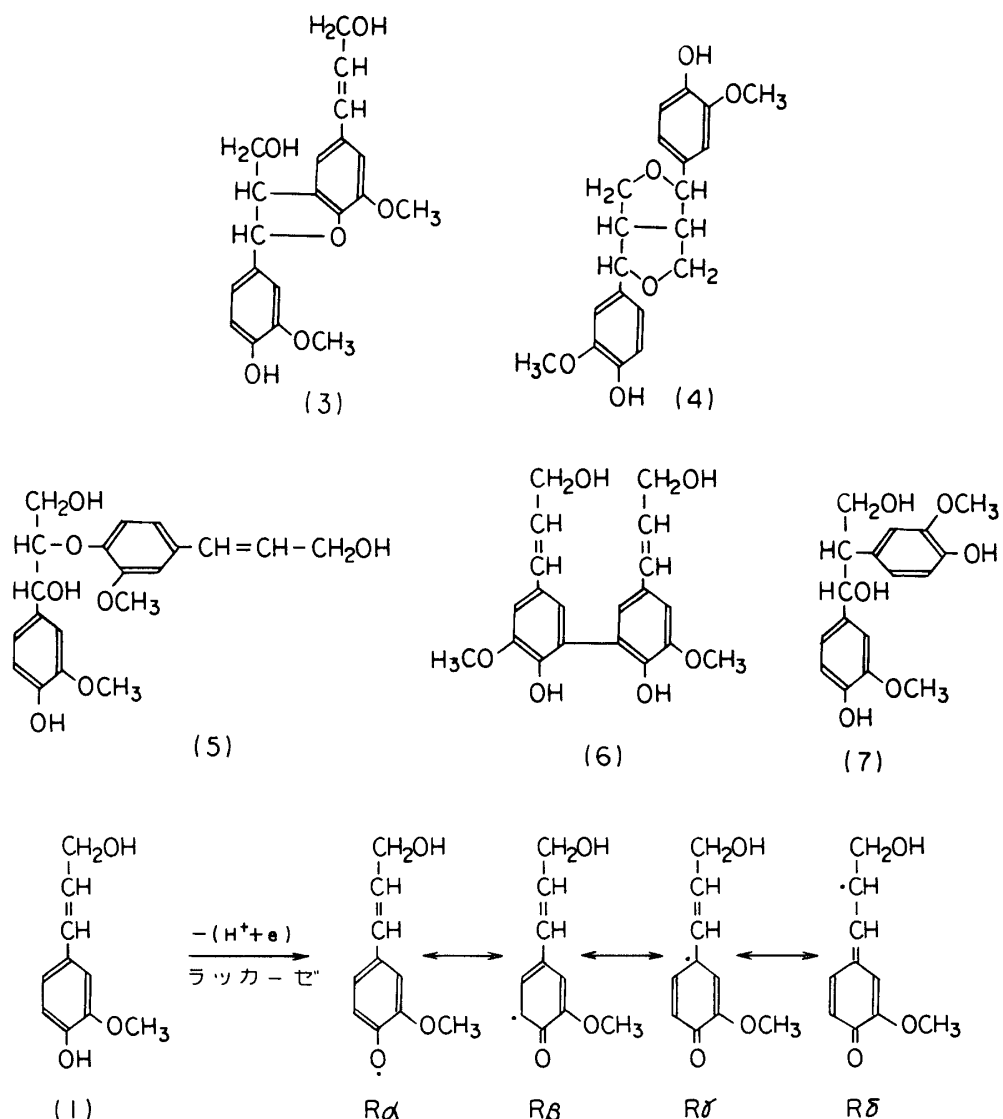
\*\* リグニン化学部門 (Division of Lignin Chemistry)

I 針葉樹リグニン

広葉樹リグニンの化学構造の説明に入る前に、針葉樹リグニンの化学構造について簡単にふれてみたいと思う。詳細については FREUDENBERG<sup>4)</sup> および榊原<sup>5)</sup> の総説を参照されたい。

1950年頃から FREUDENBERG らによってコニフェリルアルコール (1) のマツシユルム (*Psalliota campestris*) のラツカーゼによる脱水素重合反応が系統的に研究されてきた。その結果、(1) はラツカーゼの作用によって淡褐色の脱水素重合物 (Dehydrogenation polymer, DHP) を生じ、このものは種々の化学的性質、分解生成物の定性および定量、官能基分析、UV, IR, NMR などのスペクトル分析の結果からみてスプールの MWL ときわめてよく似ていること、DHP の中間生成物として2~6量体が生じるが、これらはリグニンの種々の化学的性質をよく説明する構造をしており、さらにラツカーゼ作用によって DHP を与えること、また DHP およびこれらの中間体はリグニンおよびその分解生成物と同じように光学的に不活性な DL 体であることを明らかにしている。

FREUDENBERG らはさらに DHP の生成機構についても考察を進め、(1) は第1図に示すようにラツカ



第1図 コニフェリルアルコールの酵素による脱水素反応

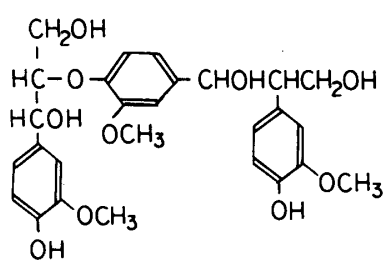
ーゼによってそのフェノール性 OH 基が脱水素され、生じたフェノキシラジカルの共鳴体が相互に自動的に結合してデヒドロジコニフェリルアルコール (3), DL-ピノレジノール (4), グワヤシルグリセロール-β-コニフェリルアルコール (5), デヒドロビスコニフェリルアルコール (6), 1,2-ジグワヤシルプロパン-1,3-ジオール (7) などの2量体を生じ、これらがさらに脱水素重合して DHP になることを明らかにした<sup>4)</sup>。

第1表は FREUDENBERG ら<sup>6)</sup> によって得られたこれらの2量体の相対的割合を示したものである。

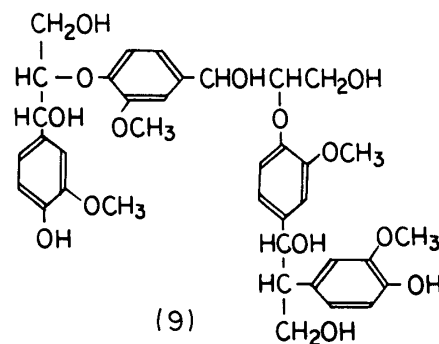
表から明らかのようにコニフェリルアルコール (1) から生じたラジカルの中で、フェニルマラン構造を生じる  $R_\beta + R_\delta$  のカップリングの寄与が最も大きく、次いで  $R_\delta + R_\delta$  カップリングによるピノレジノール構造および  $R_\alpha + R_\delta$  カップリングによる β-アリルエーテル構造の順となり、 $R_\gamma + R_\delta$  カップリングの後、側鎖の脱離を伴うジアリルプロパンの形成や  $R_\beta + R_\beta$  カップリングによるジフェニル化合物の形成は少量またはごく微量であり、また  $R_\beta + R_\beta$  カップリングによるジフェニルエーテル化合物は見出されないことが明らかに<sup>4)</sup>。

第1表 ラツカーゼによって生じたコニフェリルアルコールの2量体<sup>6)</sup>

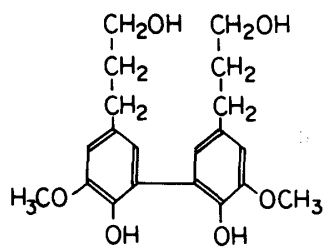
Products	% of total	% of dimers
Unchanged coniferyl alcohol	3	—
Polymer (DHP)	45	—
β-5 Dilignol	26	54
Rac. Pinoresinol	13	27
Rac. Epipinoresinol	trace	—
β-O-4 Dilignol	9	19
5-5 Dilignol	trace	—
Coniferyl aldehyde	0.2	—



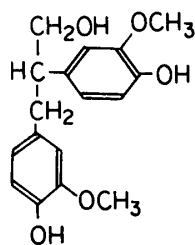
(8)



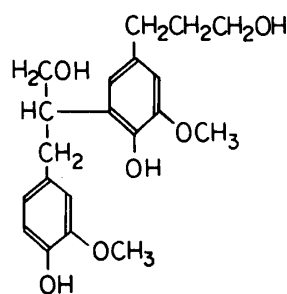
(9)



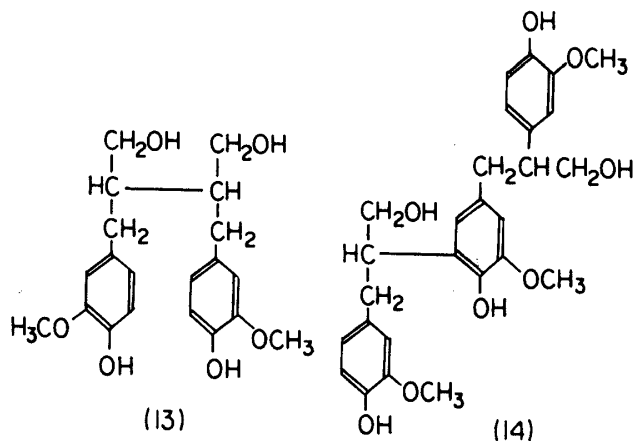
(10)



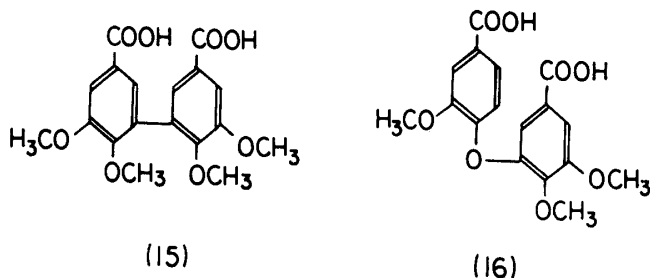
(11)



(12)

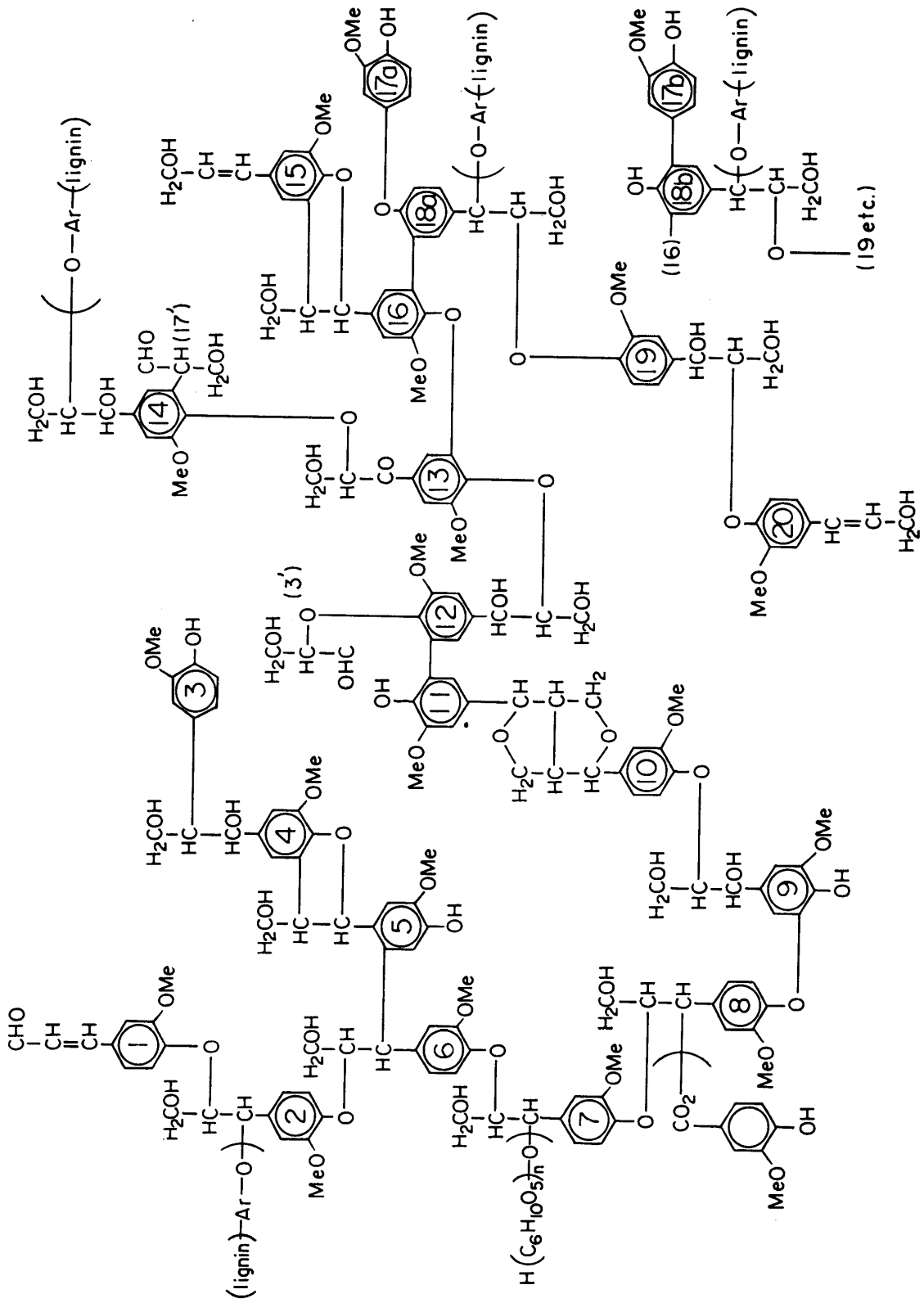


一方、リグニンの分解による構造研究も最近著しく進展し、ADLER<sup>7,8)</sup>, NIMZ<sup>9-13)</sup>, 榎原<sup>14-18)</sup>らはスプルースやエゾマツ材のリグニンから温和な加水分解により、1,2-シグワヤシルプロパン-1,3-ジオール (7), DL-ピノレジノール (4), デヒドロジコニフェリルアルコール (3), グワヤシルグリセロール-β-コニフェリルアルコール (5) その他 (8), (9) などを分離同定し、またリグニンの水素化分解物中からデヒドロ



C <sub>γ</sub>	{	γ-OH, Coniferyl alcohol	0.06
		γ-OH, Other primary hydroxyl groups	0.78
		γ-O, Coniferyl aldehyde	0.03
		γ-O-α, in pinoresinol units	0.13
Total			<u>1.00</u>
C <sub>β</sub>	{	β-O-4, Total	0.45
		β-5, Total	0.14
		β-β, Total	0.17
		β-1, Total	0.15
		β=C <sub>α</sub> , Coniferyl alcohol and -aldehyde	0.09
		Total	
C <sub>α</sub>	{	α-OH, β-O-4 and β-1 units	0.20
		α=O, α-keto groups	0.07
		α=O, aldehydes in displaced side-chains	0.13
		α-O-γ, in pinoresinol units	0.13
		α-O-4, in β-5 units	0.10
		α=C <sub>β</sub> , in coniferyl alcohol and aldehyde	0.09
		α-O-4, in open ethers	0.08
		Various carbon-to-carbon linkages (?)	0.20
Total			<u>1.00</u>

第2図 スプルースリグニン中における官能基の分布



第3図 スブールスリグニンのモデル構造

ビスコニフェリルアルコールの還元物 (10), (7) の還元物 (11), フェニルクマラン開環型化合物 (12), その他 (13), (14) などが分離同定されてきた。

これらの分解生成物は上記したコニフェリルアルコール (1) のラツカーゼによる脱水素重合反応における中間体と一致し、針葉樹リグニンは (1) の脱水素によって生じたラジカルのカップリングにより生成したものであるという FREUDENBERG の説を裏づけるものであった。

一方、FREUDENBERG<sup>19)</sup> ら、LARSSON, MIKSCH<sup>20,21)</sup> らはスプルースリグニンのメチル化、KMnO<sub>4</sub> 酸化物中からデヒドロジベラトルム酸 (15), 2,5',6'-トリメトキシジフェニルエーテル-4,3'-ジカルボン酸 (16) などを単離同定し、リグニン中にはコニフェリルアルコール (1) の脱水素 2 量体中にはほとんどあるいは全く見出されないビフェニルおよびジフェニルエーテル構造が相当量含まれていることを明らかにしてきた。

これらの結果および主として ADLER<sup>22,23)</sup> らによって行なわれてきた官能基分析の結果 (第2図) などを総合し、スプルースリグニンのモデルとして第3図の構造が考えられている。

## II 広葉樹リグニンの多様性

### A 樹種による差異

早くから広葉樹材は MÄULE 反応および Cl<sub>2</sub>-Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 反応によって赤色を呈する (陽性) が、針葉樹材は褐色ないし橙褐色を呈する (陰性) にすぎないことが知られてきたが、CREIGHTON<sup>24)</sup> らは針葉樹材とともに種々の広葉樹材のアルカリ性ニトロベンゼン酸化を行ない、針葉樹材からはバニリン (V) のみであるが、広葉樹材からはバニリンとともに多量のシリングアルデヒド (S) が生じ、バニリンに対するシリングアルデヒドの比、(S/V) はほぼ 1~3 で、針葉樹でも例外としてマオー (S/V 値は 1~3) およびマキ類 (樹種によって変動が大きく S/V 値は 0~1) はシリングアルデヒドを生じることを見出し、S/V 値と MÄULE 反応間に相関性のあることを明らかにしてきた。

一方、川村、樋口<sup>25)</sup> らも植物の分類的位置とリグニンの性質との関係について、MÄULE 反応、ニトロベンゼン酸化による S/V 値、メトキシル基量、UV, IR スペクトルなどを利用して比較検討し、リグニンはその特徴から次のように分類できることを提唱してきた。

#### (A) N型リグニン (グワヤシル(G)-リグニン)

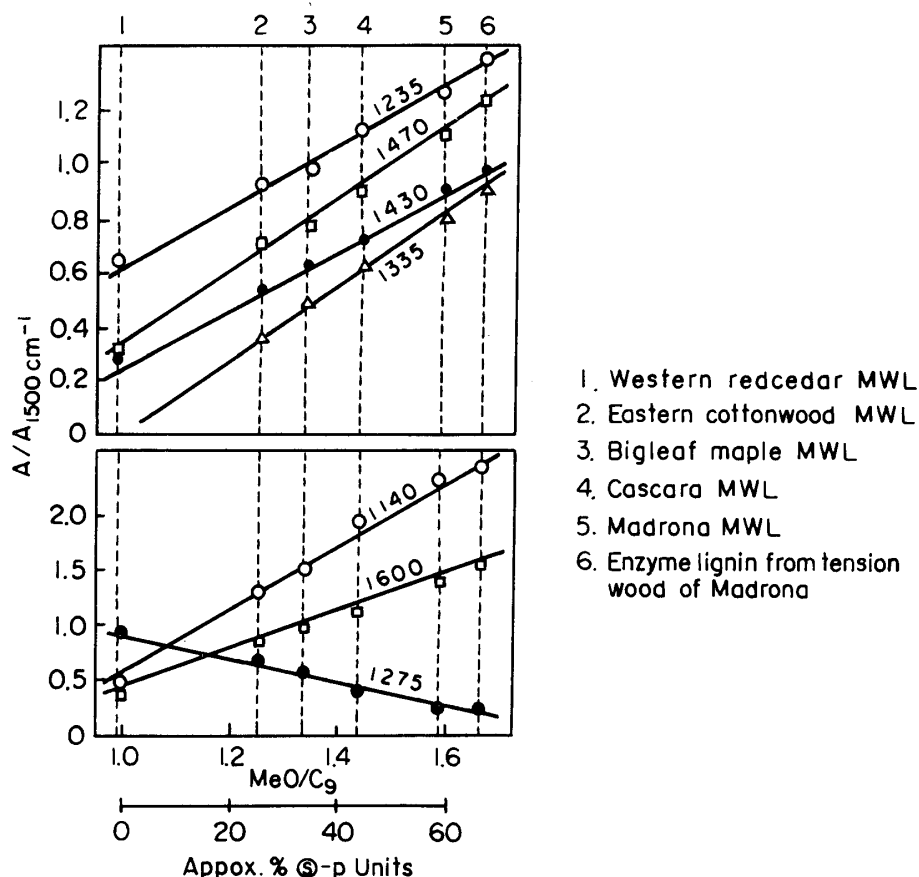
1. 標準グワヤシルリグニン (Ns 型)  
針葉樹リグニン
2. *Pteridophyta* リグニン (Np 型)  
シダ類, マルハチ, ヘゴ, ヒカゲノカヅラなど
3. ソテツリグニン (Nc 型)

#### (B) L型リグニン (グワヤシル-シリングル (GS)-リグニン)

1. 標準グワヤシル-シリングルリグニン (Ls 型)  
温帯産広葉樹
2. マオウリグニン (Ng 型)
3. 熱帯産広葉樹リグニン (Lt 型)
4. イネ科植物リグニン (Lm 型)
5. イネ科以外の単子葉植物リグニン (Lm' 型)

これらの研究は SARKANEN ら<sup>26)</sup> によってさらに発展され、彼らはリグニンのシリングル核は 1130, 1235, 1335, 1430, 1470, 1600 cm<sup>-1</sup> の吸収が強く、これらの吸収と MWL の MeO/C<sub>9</sub> 値との間に明らかに正の相関性があるが、一方、1275 cm<sup>-1</sup> の吸収はグワヤシルリグニンに特徴的で、MeO/C<sub>9</sub> 値との間に負の相関性のあることを明らかにし、川村、樋口によって広、針葉樹リグニンの特徴として個別に取り上げられ

てきた IR スペクトルの相対強度はリグニン中の G および S-リグニン単位の相対量との相関性で示すことができることを明らかにした。第4図はこの関係を表したものである。



第4図 MWL の IR 相対吸収強度 (1,500 cm<sup>-1</sup> の吸収を基準) とメトキシル基量との関係<sup>26)</sup>

さらに SARKANEN らは NaHB<sub>4</sub> 還元した MWL 試料を用いて UV スペクトルを測定すると 280 m $\mu$  における吸収が S-リグニン単位の増大と負の相関性があることも明らかにしている。

(B) 組織による差異

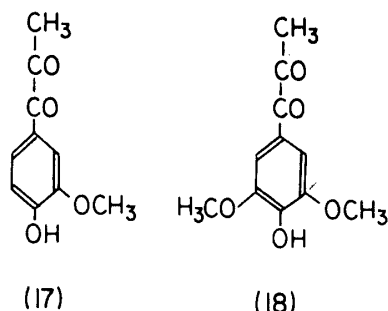
従来、広葉樹リグニンの研究は樹皮などを除いた健全な樹幹から得られた木粉、あるいはそれから得られた MWL を用いて行なわれてきた。したがって道管、木繊維、放射組織などによるリグニンの差異などについては明確にされていなかった。

BLAND<sup>27)</sup> はユーカリ (*Eucalyptus botryoides*) の組織の KLASON リグニン、MWL 量、S/V 値などについて詳細に研究し、S/V 値が組織の差によって著るしく異なり、例えば葉柄では 0.7 であるが古い樹皮では 1.5、若い木部、根の木部では 1.9~2.0 であることを明らかにした。川村、樋口<sup>28)</sup> もニセアカシヤの材部で最外層年輪のリグニンはメトキシル基量が少く (12.7%)、内部木部のリグニンのメトキシル基量は 18.3% で、MWL の IR、UV スペクトルも心材リグニンに比べてシリングル基の少ないリグニンの特徴を示していることを見出した。また樋口、BARNOUD<sup>29)</sup> は試験管内培養したニレの幼樹およびニレの一年生若枝の S/V 値がそれぞれ 0.86 および 1.4~1.7 と春から秋にかけて増大し、成熟したニレ材リグニンではその値が 2.0 であることを明らかにしてきた。

樋口、BARNOUD<sup>30)</sup> はさらに種々の広葉樹の組織培養によって得られたカルス (callus) のリグニンは対照として用いた材の S/V 値に比べて著るしく低く、エタノリシスによって生じるパニロイルメチルケトン

(VMK) (17) とシリンゴイルメチルケトン (SMK) (18) の比も同様の傾向を示し、ほとんど針葉樹リグニンの S/V 値に近く、それらの IR スペクトルも G-リグニンのスペクトルによく似ていることを明らかにしてきた。

これらの組織の別による S/V 値の変化についてはその他、中野ら<sup>31)</sup> (広葉樹葉)、樋口ら<sup>32)</sup> (タケ)、VENVERLOO<sup>33)</sup> (ポプラ)、田中ら<sup>34)</sup> (アメリカスズカケ) によっても報告されており、SARKANEN<sup>35)</sup> らはカバ、マドロナの引張りアテ材のリグニンが正常材に比べてシリンギル基の多いことも報告している。



C 細胞壁による差

最近 FERGUS および GORING<sup>36)</sup> はカバ (*Betula papyrifera* MARSH) 木部細胞壁中のリグニンの分布について紫外線顕微鏡により分光学的に分析し、道管の細胞壁および複合中間膜はスペクトルの最大吸収位置が 279 m $\mu$  であり主として G-リグニンからなり、一方、木繊維の複合中間膜では最大吸収が 275~276 m $\mu$  にあり、GS-リグニンからなるものと推定した。さらに彼らは木繊維と放射細胞の2次膜のリグニンは約 270 m $\mu$  に平坦な形の最大吸収を与え、主として S-リグニンからなることを提唱している。その結果を示すと第2表のとおりである。

第2表 カバ材細胞壁中におけるリグニンの分布<sup>36)</sup>

Element	Morphological differentiation	Type of lignin	Relative absorbance	Lignin % of tissue	Tissue volume % of total	Lignin % of total
Fiber	Secondary wall	Syringyl	1.0	19	73	60
	Marrow sect. of compound middle lamella	Syringyl-guaiacyl (1:1)	4.0	40	5	9
	Corner sect. of middle lamella	Syringyl-guaiacyl (1:1)	10.0	85	2	9
Vessel	Secondary wall	Guaiacyl	4.8	27	8	9
	Middle lamella	Guaiacyl	7.6	42	1	2
Ray cells	Secondary wall	Syringyl	1.4	27	11	11

被子植物リグニンは樹種によって S/V 値が異なり、したがって OCH<sub>3</sub>/C<sub>9</sub> 値にも差があることは知られていたが、そればかりでなく同じ樹種でも BRAUNS lignin (BL) と残渣リグニンの OCH<sub>3</sub> 量および S/V 値に著るしい差のあることも知られてきた<sup>37)</sup> (第3表)。すなわち、針葉樹リグニンにおいては BL と MWL との間にそれ程 OCH<sub>3</sub> 量の差は認められないが、カバ、カシ、キリでは BL (OCH<sub>3</sub> 15~16%) は針葉樹リグニンの OCH<sub>3</sub> 量に近く、S もほとんど含まないのに、MWL の OCH<sub>3</sub> 量は20%以上で典型的な広葉樹リグニン型である。しかし一方、アスベンの BL と MWL の間で OCH<sub>3</sub> 量に差の少ないもの、black wattle などのように BL で21%の OCH<sub>3</sub> 量を含むものも見出されている。これらの事実は black



樋口：広葉樹リグニンの化学

wattle を除けば中性常温エタノール抽出によって主として G-リグニンが溶出し、SG-リグニンは不溶のまま残っている傾向を示しており、この事が FERGUS, GORING による細胞膜壁の差異と G, S-リグニンとの関係、あるいは樹種による木部組織構造の差（散孔材、環孔材など）と関連性があるのかなどについては現在のところ不明である。いずれにしても、被子植物リグニン中の G, S 量は細胞膜壁によって不均一に分布していることは今後さらに明確にされていくものと推定される。

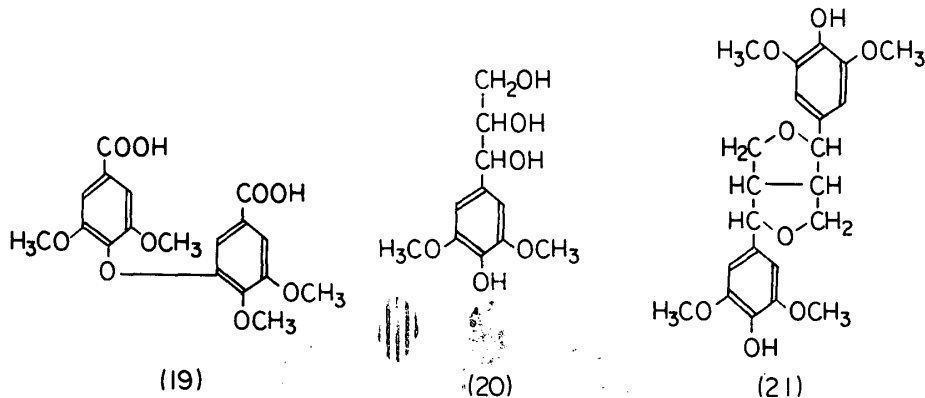
第3表 BRAUNS リグニンおよび MWL のメトキシ基量と元素組成<sup>37)</sup>

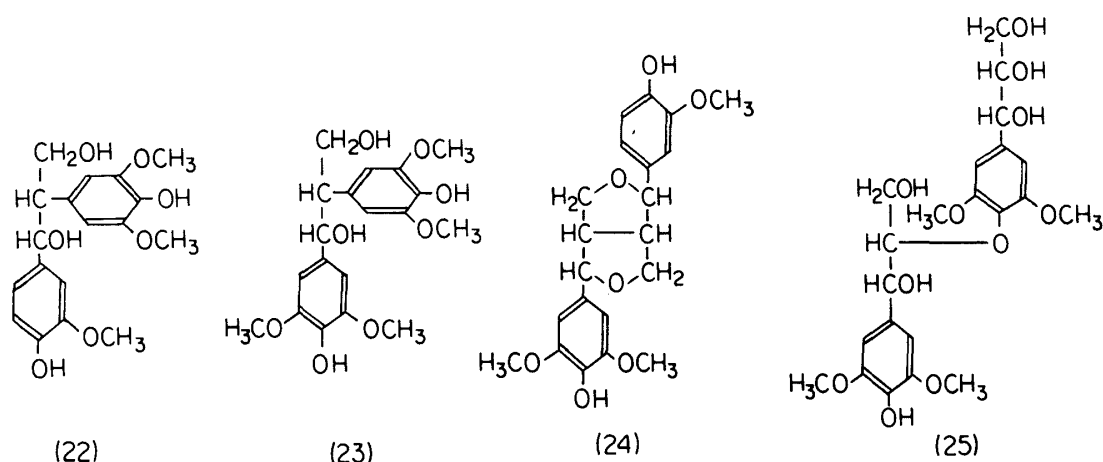
Species	Preparation	Carbon %	Hydrogen %	MeO %
Conifers :				
Black spruce ( <i>Picea mariana</i> )	B L	63.6	6.2	14.8
	MWL	63.7	6.3	15.4
Norway spruce ( <i>Picea abies</i> )	B L	65.3	5.9	15.9
	MWL	63.8	6.0	15.8
Scots pine ( <i>Pinus sylvestris</i> )	B L	64.0	6.3	14.5
	MWL	64.0	6.1	15.7
Angiosperm :				
Maple	B L	61.0	5.6	17.4
	MWL	60.4	5.7	20.0
Aspen	B L	63.5	6.0	19.5
	MWL	60.4	6.2	21.4
Birch	B L	61.4	5.5	14.9
	MWL	58.8	6.5	21.5
Oak	B L	58.6	5.3	14.8
Kiri	B L	60.1	6.2	16.6
Black wattle	B L	61.1	6.2	21.0

III 広葉樹リグニンの化学構造

A 分解生成物

広葉樹リグニンはニトロベンゼン酸化によって多量のシリングアルデヒドを生じることは既述したが、メチル化後  $\text{KMnO}_4$  酸化によっても針葉樹リグニンから得られてきたグワヤシル系化合物の外にトリメチル安息香酸、2,3,4-トリメトキシ安息香酸、3,4,5-トリメトキシ-1,2-ジカルボン酸とともにグワヤシル基とシリング基間のジフェニルエーテル結合を含む 2,6,5',6'-テトラメトキシジフェニルエーテル-4,3'-ジカルボン酸 (19) が分離同定されてきた<sup>4)</sup>。





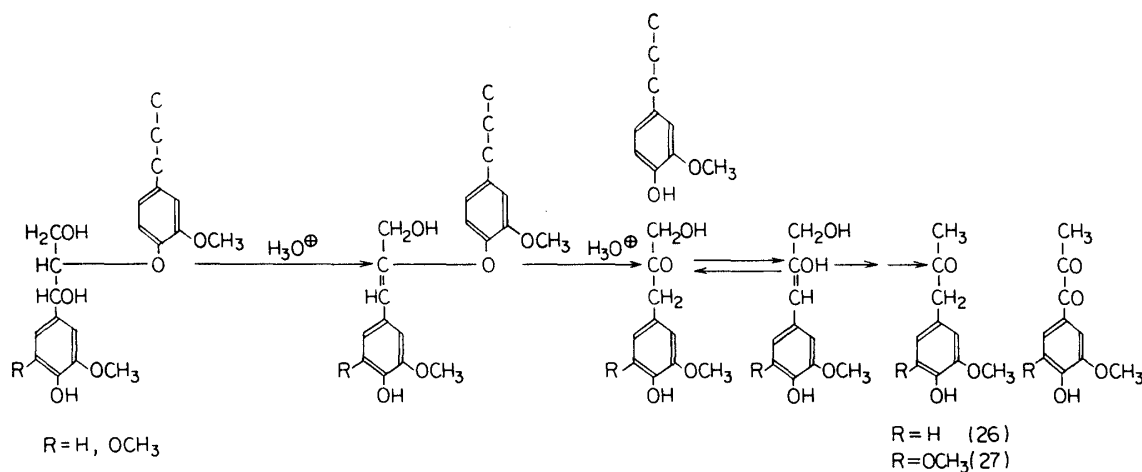
一方, NIMZ<sup>38-40)</sup> はブナ木粉を 100°C で長時間熱水抽出すると, 木粉量の40%が溶出し, その中約8.8% がリグニンから導かれた物質であることを明らかにし, その中から次の化合物を分離同定している。シリングルグリセロール (20), DL-シリングレジノール (21), 1-グワヤシル-2-ジメチルピロガリルプロパン-1,3-ジオール (22), ビス-ジメチルピロガリルプロパン-1,3-ジオール (23)。

さらに榊原<sup>5,41)</sup> らもブナ材のジオキサン水 (1 : 1) 溶液で温和な加水分解を行ない, シナップアルデヒドを, ヤチダモ材から (20), (21), (23) など分離同定するとともに, ごく最近<sup>42)</sup> になってグワヤシル基とシリングル基からなるレジノール型化合物, メジオレジノール (24) およびシリングルグリセロール-β-シリングルグリセロール (25) を単離同定している。

榊原<sup>43)</sup> はさらにヤチダモ材粉を酸化銅クロームを触媒として温和な水素化分解を行ない (21), ジフェニール化合物 (10) を単離同定している。これらの化合物はいずれも広葉樹リグニンの主体がコニフェリルアルコール (1) およびシナピルアルコール (2) の脱水素共重合体であるという FREUDENBERG の説を裏づけるものであった。

B 官能基分析

第2図に示したように針葉樹リグニンについては特に ADLER らにより, フェノール性 OH, カルボニル, ベンジルアルコールおよびベンジルエーテル基, アリルグリセロール-β-アリルエーテル基, フェニルクマラン構造などの定量がかなり詳細に研究されてきたが, 広葉樹リグニンについてはまだほとんど研究されていない状況である。



第5図 アリルグリセロール-β-アリルエーテルの酸分解

## 樋口：広葉樹リグニンの化学

筆者らは、種々の広葉樹リグニンのエタノリシスによりグワヤシル基とともにシリングル基を含む HIB-BERT ケトン (VMK (17) と SMK (18)) を分離定量し、両者の比は S/V 値によく似ていることを報告してきた。最近、さらに筆者ら<sup>44,45)</sup> はブナ MWL のアシドリシスによりグワヤシルグリセロール-およびシリングルグリセロール- $\beta$ -アリルエーテル基からそれぞれ生じる (第5図)、グワヤシルアセトン (26) およびシリングルアセトン (27) 量をガスクロマトグラフによって定量し、それらの量から C<sub>5</sub> 位に C-C 結合を含まない非縮合型  $\beta$ -アリルエーテル基量を算出するとともに、温和なアシドリシス (50°C, 24 hr) ならびにアシドリシス (120°C, 24 hr 還流) によってそれぞれ生じたフェノール性 OH 基の増加量からブナ MWL 中に存在するベンジルエーテル ( $\alpha$ -O-4) 量,  $\beta$ -アリルエーテル ( $\beta$ -O-4) 量,  $\beta$ -アリルエーテル以外の縮合型構造の量などを測定してきた (第4表)。

第4表 タケ, ブナ, ネヅコ MWL 中のアリルアルキルエーテル基量<sup>45)</sup>

	Bamboo	Beech	Thuja	Bamboo* (hydrolyzed)
Phenolic hydroxyl/C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	0.24	0.19	0.25	0.22
$\alpha$ -O-4	0.07	0.07	0.09	0.11
$\beta$ -O-4	0.56	0.51	0.35	0.53
Uncondensed	0.24	0.26	0.18	0.15
<i>p</i> -Hydroxyphenyl	0.02	—	—	—
Guaiacyl	0.11	0.16	0.18	0.07
Syringyl	0.11	0.10	—	0.08
Condensed type	0.32	0.25	0.17	0.38
Condensed type (except $\beta$ -O-4)	0.13	0.23	0.31	0.14

\* Bamboo MWL was hydrolyzed in 1N NaOH at room temperature for 24 hrs.

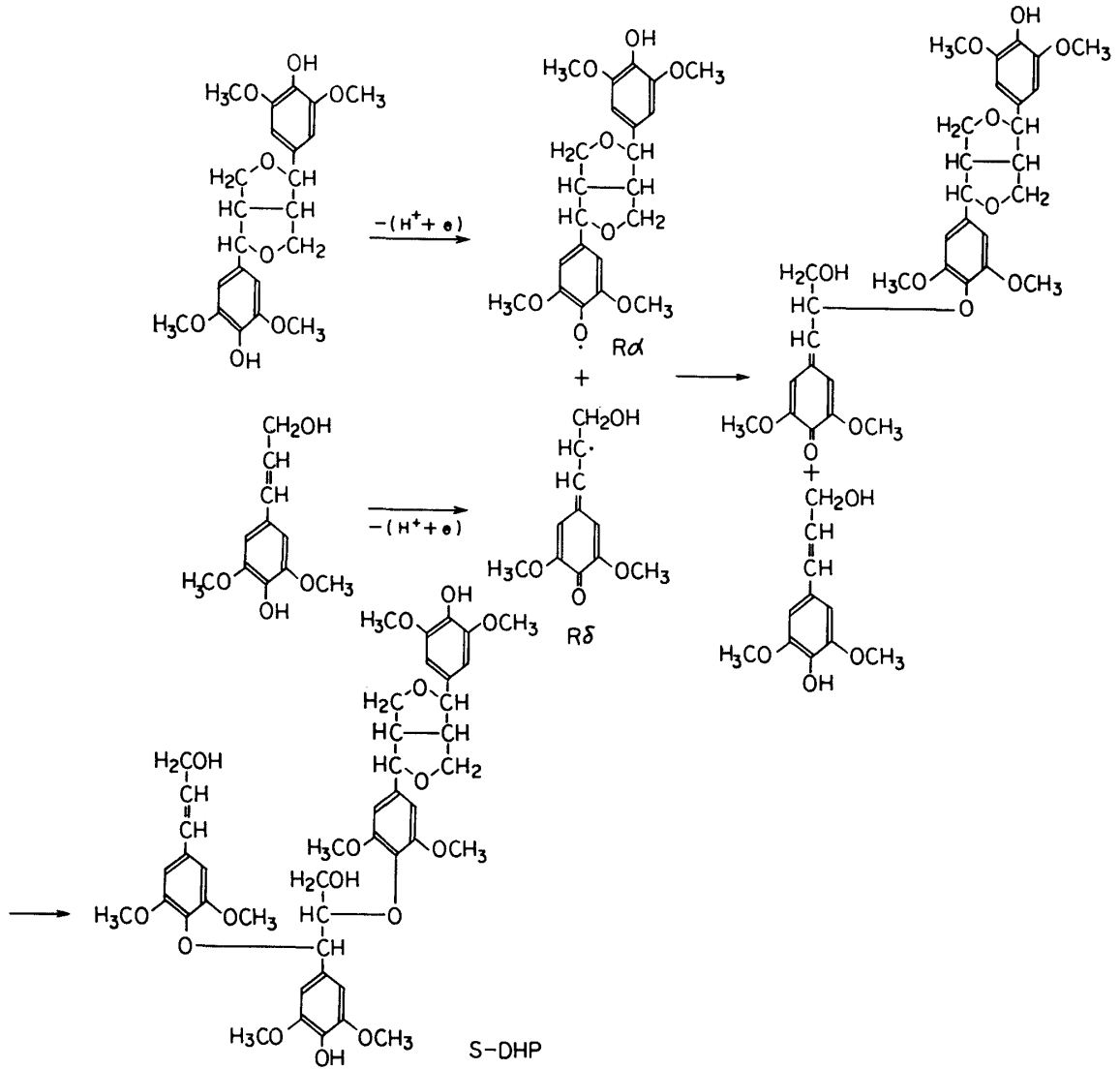
第4表から明らかのようにベンジルエーテル基量は針葉樹の場合とよく似ているが (0.07~0.09),  $\beta$ -アリルエーテル基量は0.51で針葉樹リグニンの場合の1.5~2.0倍であり、しかもその中の非縮合型の割合は針葉樹リグニンの1.5倍に達した。一方、 $\beta$ -O-4 以外の縮合型の量は逆に針葉樹リグニンが広葉樹リグニンの1.5倍であった。これらの事実は  $\beta$ -O-4 結合に対する S-リグニンの寄与と縮合型に対する G-リグニンの寄与を示唆する。

以上、広葉樹リグニンの研究結果と針葉樹リグニン中の C<sub>6</sub> 単位の結合様式を考え合わせると、GS-リグニンはスプルーシリグニンのモデル構造 (第3図) の例えば2, 3, 7, 8, 10, 11, 19, 20のグワヤシル核をシリングル核におきかえたような構造で表わすことができるであろう。

### IV シリングル (S) リグニン

FREUDENBERG<sup>4)</sup> はシナピルアルコール (2) をラツカーゼで処理しても単独では DHP を生じないが、コニフェリルアルコール (1) と (2) の1:1の混合物は酵素により G と S を含んだ共重合物を (Mixed DHP) を生じ、この際 (1) に対する (2) の量が過剰である場合には、その過剰分は DHP に取込まれずに分解されてしまうことを報告している。しかし、上述したように FERGUS, GORING<sup>36)</sup> らの分光学的研究によってカバ材中に S のみからなるリグニンの存在する可能性が指摘され、また榊原ら<sup>42)</sup> によってヤチダモから得られたシリングルグリセロール- $\beta$ -シリングルグリセロール (25) は FREUDENBERG ら<sup>4)</sup> が推定してきたシナピルアルコールは酵素によって C <sub>$\beta$</sub> -C <sub>$\beta$</sub>  で選択的に結合してシリングレジノール型構造を生じる—という考えと異り、S のモノマー間でも  $\beta$ -アリル型構造を取り得ることを示してきた。 $\beta$ -アリル型構造はスプルーシリグニンのモデル構造 (第3図) から分かるように、予め生じたジおよびオリゴリグノ

ールをリグニンポリマーに生長させるための橋渡しをする重要な構造であり、シナピルアルコール (2) の酵素的脱水素によっても  $R_{\alpha} + R_{\delta}$  ラジカルの結合によってシリンググリセロール- $\beta$ -シナピルエーテル構造を形成できれば当然 S のみの DHP およびリグニンも生じるであろうと推定される (第6図)。

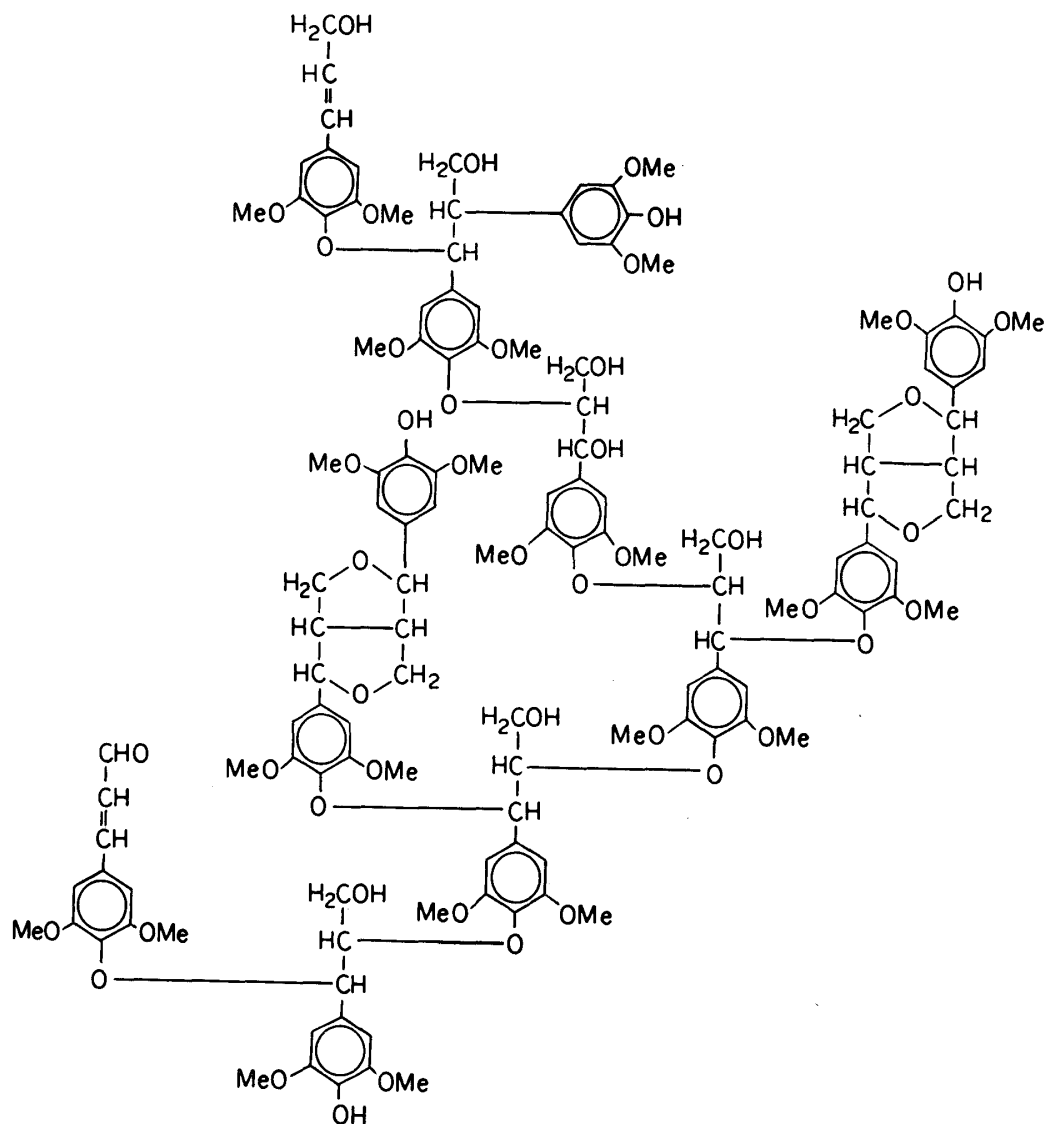


第6図 S-DHP の生成機構

筆者ら<sup>46)</sup>は最近、シナピルアルコール (2) を低濃度の  $H_2O_2$  を用いて除々にパーオキシダーゼで反応させると約20%の収率で淡褐色の DHP を生じ、このものの  $OCH_3$  量は 28.56%で、UV, IR スペクトル、ニトロベンゼン酸化、メチル化、 $KMnO_4$  酸化、アシドリシス (広葉樹リグニンの場合のほぼ倍量の S を含んだ HIBBERT モノマーを生じる) などの分解反応およびそのフェノール性 OH ( $0.33/OCH_3$ ) からみて明らかに (2) はコフェリルアルコール (1) からの DHP と類似した結合様式のポリマーになっているものと推定される。

すでに FREUDENBERG により (1) からの DHP の生成にあたって基質と酵素を一度に同時に反応させる (Zulaufverfahren, 混合法) 場合と、酵素溶液中に少量ずつ徐々に基質を加えながら長時間にわたって反応させる場合 (Zutropfverfahren, 滴下法) とでは中間体の生成割合が異なり、DHP の性質も異なる可能性があることが指摘されてきた<sup>4)</sup>。

最近, SARKANEN<sup>47)</sup> は DHP 調製時における両法の差が重合機構におよぼす影響について詳細に論議し, 混合法では多量の 2 量体が生成し, 生じた 2 量体は主として C<sub>4</sub>-O-C<sub>5</sub>, C<sub>5</sub>-C<sub>5</sub> 結合をとおしてポリマーになり, したがって側鎖 2 重結合の多い DHP (burk polymer) となり, 一方, 滴下法の場合はモノマージカル濃度が低くなり, モノマー同志の結合よりもモノマージカルがオリゴマージカルと主として β-O-4 結合をとおしてポリマーに生長していく (endwise-polymer) と説明している。なお, シナピルアルコール (2) のみの場合でも滴下法により β-アリルエーテル構造を含む DHP のできる可能性を示唆している。上記した筆者らの研究は初めて実際に S のみからなる DHP の調製に成功したもので, そのモデル構造として第 7 図のような結合様式を考えることができ, 広葉樹リグニン中に S-リグニンが存在する根拠を与えるものと考えられる。



第 7 図 シリングリグニンのモデル構造

### V S および G-リグニンの生合成を制御する因子

リグニンがシキミ酸経路を経て生じた L-フェニルアラニン, 桂皮酸類を経て合成されることは今ではよく知られている<sup>48)</sup>。L-フェニルアラニン (28) はフェニルアラニンアンモニヤリアーゼによってトランスシ

シナミック酸 (29) になるが、この酵素は高等植物に広く分布しており、しかも木化に伴って著るしく増大し、リグニンの形成と密接な関係をもっている。このようにして生じたシナミック酸は *p*-クマール酸 (30) を経てコーヒー酸 (31) になるのであるが、これらの反応を触媒する酵素も明らかにされている。コーヒー酸からフェルラ酸 (32) への反応を触媒する *O*-メチルトランスフェラーゼ (OMT) は初め、FINKLE<sup>49,50)</sup> らによってリンゴ樹形成層およびススキから得られてきた。

<sup>14</sup>C-フェルラ酸を植物に与えると針葉樹の G-リグニンばかりでなく、広葉樹の SG-リグニンの G および S 部によく取込れる。

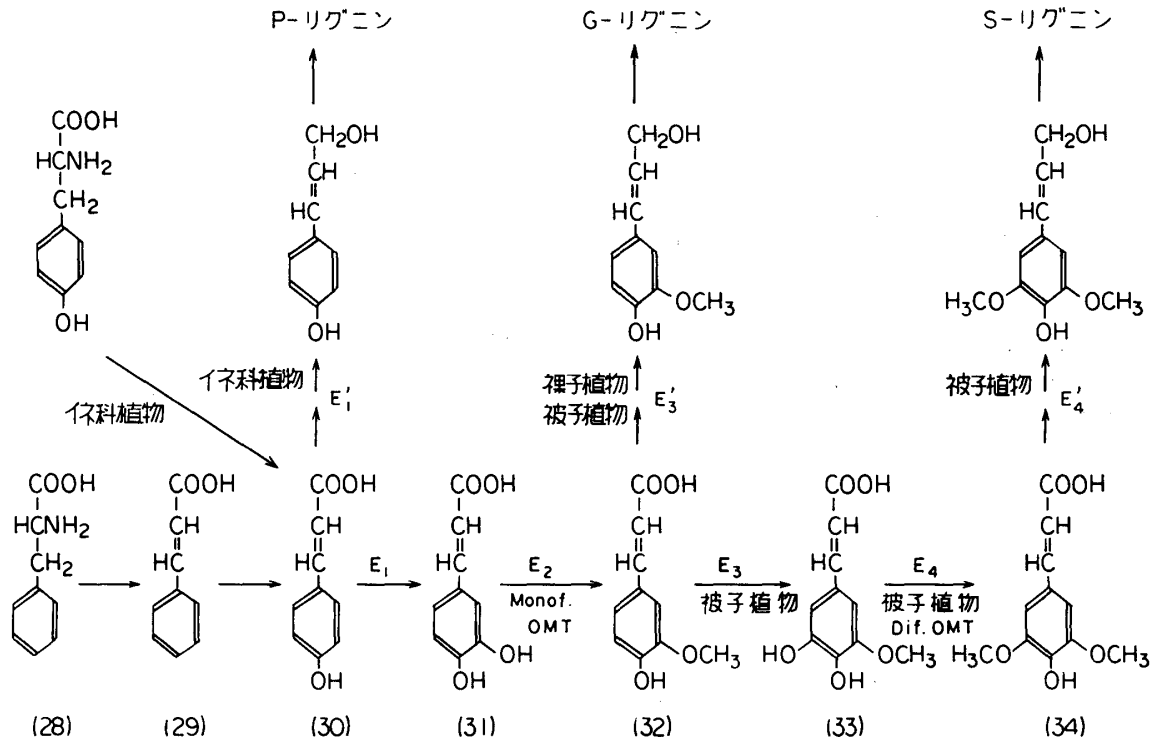
したがってフェルラ酸の生合成までの反応経路は裸子、被子両植物で共通であると考えられる。それでは被子植物だけが何故フェルラ酸から S-リグニンを合成できるのであろうか？ 筆者らはこの問題を解決するため、まずタケノコ、ポプラなどから OMT を抽出した<sup>51,52)</sup>。この酵素はコーヒー酸と *S*-アデノシルメチオンからフェルラ酸 (FA) を生成するが、コーヒー酸の代りに 5-ヒドロキシフェルラ酸 (33) を用いるとシナツブ酸 (SA) (34) を生成することが明らかにされ、その比 (SA/FA) 値がタケノコ (1:1)、ポプラ (3:1) であることが分った。さらにクロマツ発芽根とイチョウの若芽から抽出した OMT<sup>53)</sup> は面白いことにコーヒー酸からフェルラ酸の生成は触媒したが、5-ヒドロキシフェルラ酸 (33) をほとんどシナツブ酸 (34) にすることができないことが明らかになった。したがって裸子植物 OMT はコーヒー酸を優先的にメチル化してフェルラ酸を生成する機能 (monofunction) を持つのに対し、被子植物 OMT はコーヒー酸と 5-ヒドロキシフェルラ酸をともにメチル化してそれぞれフェルラ酸とシナツブ酸を生成する機能を持つ (difunction) OMT であり、この OMT の機能の差により被子植物のみが GS-リグニンを合成し得ることを明らかにした<sup>54)</sup>。

それではすべての被子植物の OMT は difunction であろうか？ 例えば MÄULE 反応陽性のマオウは裸子植物であっても difunction OMT を持ち、同反応の陰性のセンリョウには裸子植物型の monofunction OMT があるのであろうか？ これらの点についてはまだ研究が進んでいない。

リグニンの S/V 値に関係するもう一つの重要な反応がある。それはフェルラ酸 (32) を 5-ヒドロキシフェルラ酸 (33) にするヒドロキシ反応である。この反応に関与するヒドロキシラーゼはまだ抽出に成功していないが、これまた S-リグニン生成上の鍵酵素の一つであろう。その事を証明すると思われる一つの現象として広葉樹組織培養のカルスリグニンがある。

前述したようにリラ、ニレ、ポプラ、クワなどのカルスのリグニンは例外なく非常に低い S/V 値を与えるばかりでなくその他の種々の化学的性質も針葉樹リグニンによく似てくる。ところが、この組織から得られた OMT は SA/FA=1.8 で高い SA 活性を有し、正常の被子植物 OMT と同じように difunction であり<sup>54)</sup>、またタケの成熟過程で幼竹のリグニンは S/V 値が低いけれども、その OMT の性質も成竹の場合と変わらず SA/FA (1:1) であった。これらの事実から推定されることは、カルスおよび幼竹などでは十分な量の 5-ヒドロキシフェルラ酸がないためにシナツブ酸生成量が少く、したがって difunction OMT を含むにもかかわらず S/V 値が低くなるということである。すなわち、これらの組織ではフェルラ酸-5-ヒドロキシラーゼの活性が S-リグニン生成の制限因子となっており、この酵素の生成は木部母細胞の分化と関係しているように思われ、脱分化したカルスではこの酵素量が少いものと推定されるのである<sup>55)</sup>。また FERGUS, GORING らによって推定されているカバ木繊維 2 次膜の S-リグニンについても、2 次膜形成にあたって一定の細胞器官にフェルラ酸-5-ヒドロキシラーゼが局在し、次いで difunction OMT と還元酵素系の作用によってシナピルアルコールが局所的に生成すれば、その部分に S-リグニンのできる可能性は充分あり得ると考えられる。

いずれにしてもフェルラ酸-5-ヒドロキシラーゼと OMT の基質特異性が裸子植物リグニンと被子植物リグニンの形成を制御していることが明らかになり、植物の進化と関連してきわめて興味深いことである。この関係を第 8 図に示した。



第8図 裸子，被子両植物によるリグニン生合成経路の差異

リグニンモノマーとしてのコニフェリルアルコール (1) とシナピルアルコール (2) の生成割合は上記両酵素の活性と密接に関連しているものと考えられるが、生じた両アルコールは高等植物に広く分布している細胞膜壁と結合したパーオキシダーゼの作用によって脱水素重合して DHP を経てリグニンになるものと考えられる。その機構については第1図で説明したが、裸子植物と被子植物のパーオキシダーゼは基質特異性に特に差がなく<sup>56)</sup>、ともにコニフェリルアルコール (1) とシナピルアルコール (2) の混合物に作用し、S と G をともに含む共重合体を生成する。SIEGEL の研究<sup>57)</sup>によるとパーオキシダーゼも植物の進化と関連があり、紅藻、褐藻のパーオキシダーゼは (1) を含むグワヤシル化合物およびシリニル化合物を酸化しないが、緑藻のそれは酸化することを見出してあり、高等植物が緑藻の祖先型を経て進化してきたとの説と一致することは偶然なのか、必然的なのか興味深い問題である。

## む す び

広葉樹リグニンの研究の現状について針葉樹リグニンの化学と関連して説明してきた。広葉樹リグニンはシリニル基を含み、C<sub>5</sub> 位がメトキシル基で置換されているため、シリニル基同志では C<sub>β</sub>-C<sub>5</sub>、C<sub>5</sub>-C<sub>5</sub> などの結合様式をとることはできないが、基本的には針葉樹リグニンの場合と同じようにコニフェリルアルコールとシナピルアルコールのフェノキシラジカル共鳴体をとおしてのカップリングによって生じた重縮合体と考えられる。しかしシリニル基の生成については被子植物と裸子植物の間に判然とした差があり、被子植物の O-メチルトランスフェラーゼのみが 5-ヒドロキシフェルラ酸からシナツブ酸を形成する機能を持つこと、これまで否定されていた S のみからなる DHP およびリグニンの存在が明らかにされてきたこともリグニンの進化と関連してきわめて興味深いことである。

## 文 献

- 1) 前川文夫，植物の進化を探る，岩波新書 (1969)。

- 2) A. B. WARDROP and D. E. BLAND, Proc. 4th Intern. Congr. Biochem., **II**, 92 (1958).
- 3) B. J. FERGUS, A. R. PROCTER, J. A. N. SCOTT and D. A. I. GORING, Wood Sci. Technol., **3**, 117 (1969).
- 4) K. FREUDENBERG and A. C. NEISH, Constitution and Biosynthesis of Lignin, Springer-Verlag (1968).
- 5) 榊原 彰, 木材誌, **18**, 265 (1972).
- 6) K. FREUDENBERG and H. SCHLUTER, Ber., **88**, 617 (1955).
- 7) E. ADLER, K. LUNDQUIST and G. E. MIKSCH, Adv. Chem. Ser., **59**, 22 (1966).
- 8) K. LUNDQUIST, Acta Chem. Scand., **24**, 889 (1970).
- 9) H. NIMZ, Ber., **98**, 533, 588 (1965).
- 10) K. FREUDENBERG, C. L. CHEN, J. M. HARKIN, H. NIMZ and H. RENNER, Chem. Commun., No. **11**, 224 (1965).
- 11) H. NIMZ, Ber., **99**, 2638 (1966).
- 12) H. NIMZ, *ibid.*, **100**, 181, 2633 (1967).
- 13) H. NIMZ, Holzforsch., **20**, 105 (1966).
- 14) 佐野嘉拓, 榊原 彰, 木材誌, **16**, 81, 121 (1970).
- 15) 榊原 彰, 太田路一, 和田 功, 松倉紀男, 木材誌, **15**, 84 (1969).
- 16) 太田路一, 榊原 彰, 木材誌, **15**, 247 (1969).
- 17) 松倉紀男, 榊原 彰, 木材誌, **15**, 297 (1969).
- 18) 松倉紀男, 榊原 彰, 木材誌, **17**, 263, 265 (1971).
- 19) K. FREUDENBERG and C. L. CHEN, Ber., **93**, 253 (1960).
- 20) S. LARSSON and G. E. MIKSCH, Acta Chem. Scand., **23**, 97, 3337 (1969).
- 21) S. LARSSON and G. E. MIKSCH, *ibid.*, **25**, 647, 673 (1971).
- 22) E. ADLER, H. D. BECKER, T. ISHIHARA and A. STAMVIK, Holzforsch., **20**, 3 (1966).
- 23) E. ADLER and K. LUNDQUIST, Acta Chem. Scand., **15**, 223 (1961).
- 24) R. H. J. CREIGHTON, R. D. GIBBS and H. HIBBERT, J. Am. Chem. Soc., **66**, 32 (1944).
- 25) I. KAWAMURA and T. HIGUCHI, Chim. Biochim. Lignine Cellulose Hemicelluloses, 469, Grenoble (1964).
- 26) K. V. SARKANEN, H. M. CHANG and G. G. ALLAN, Tappi **50**, 583, 587 (1967).
- 27) D. E. BLAND, Holzforsch., **20**, 12 (1966).
- 28) 川村一次, 樋口隆昌, 木材誌, **8**, 148 (1962).
- 29) 樋口隆昌, F. BARNOUD, 木材誌, **12**, 36 (1966).
- 30) T. HIGUCHI and F. BARNOUD, Chim. Biochim. Lignine Cellulose Hemicelluloses, Grenoble 255, (1964).
- 31) 中野準三, 高塚千代子, 谷口芳子, 右田伸彦, 木材誌, **13**, 28 (1967).
- 32) 樋口隆昌, 木村長治, 川村一次, 木材誌, **12**, 173 (1966).
- 33) C. J. VENVERLOO, Holzforsch., **25**, 18 (1971).
- 34) 田中治郎, 宮崎 信, 木材誌, **18**, 513 (1972).
- 35) K. V. SARKANEN and C. H. LUDWIG, Lignins, 73, Wiley-Interscience (1971).
- 36) B. J. FERGUS and D. A. I. GORING, Holzforsch., **24**, 113 (1970).
- 37) K. V. SARKANEN and C. H. LUDWIG, Lignins, 178, Wiley-Interscience (1971).
- 38) H. NIMZ, Ber., **98**, 3153, 3160 (1965).
- 39) H. NIMZ and H. GABER, *ibid.*, **98**, 538 (1965).
- 40) H. NIMZ, *ibid.*, **99**, 469 (1966).
- 41) 大森茂俊, 榊原 彰, 木材誌, **17**, 464 (1971).
- 42) 大森茂俊, 榊原 彰, 木材誌, **18**, 577 (1972).
- 43) 須藤賢一, 榊原 彰, 222, 第21回木材学会大会研究発表要旨 (1971).
- 44) 樋口隆昌, 棚橋光彦, 佐藤 惺, 木材誌, **18**, 183 (1972).
- 45) 樋口隆昌, 棚橋光彦, 中坪文明, Wood Research, **54**, 9 (1973).
- 46) 山崎 徹, 幡 克美, 樋口隆昌, 木材誌, 投稿中.
- 47) K. V. SARKANEN and C. H. LUDWIG, Lignins, 150, Wiley-Interscience (1971).
- 48) T. HIGUCHI, Adv. Enzymol., **34**, 207 (1971).



樋口：広用樹リグニンの化学

- 49) B. J. FINKLE and R. F. NELSON, *Biochem. Biophys. Acta*, **78**, 747 (1963).
- 50) B. J. FINKLE and M. S. MASRI, *ibid.*, **85**, 167 (1964).
- 51) T. HIGUCHI, M. SHIMADA and H. OHASHI, *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 1459 (1967).
- 52) M. SHIMADA, H. OHASHI and T. HIGUCHI, *Phytochem.*, **9**, 2463 (1970).
- 53) M. SHIMADA, H. FUSHIKI and T. HIGUCHI, *ibid.*, **11**, 2657 (1972).
- 54) M. SHIMADA, *Wood Research*, **53**, 19 (1972).
- 55) 樋口隆昌, 島田幹夫, 伏木秀文, 42, 第3回植物組織培養シンポジウム要旨集 (1972).
- 56) 樋口隆昌, 伏木秀文, 島田幹夫, 185, 第22回木材学会大会研究発表要旨 (1972).
- 57) S. M. SIEGEL, 8, *Abst. 9th Ann. Meeting North America Phytochem. Soc., Banff* (1969).