

⑫ 公開特許公報(A)

平2-167091

⑮ Int. Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 平成2年(1990)6月27日

C 12 P 17/16

8931-4B

C 07 D 457/04

8829-4C

519/02

7822-4C

//(C 12 P 17/16

C 12 R 1:645)

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全3頁)

⑭ 発明の名称 麦角アルカロイドの分離精製法

⑰ 特 願 昭63-322957

⑱ 出 願 昭63(1988)12月21日

⑲ 発 明 者 高 野 進 埼玉県入間郡越生町上野2730

⑳ 発 明 者 佐々木 隆志 埼玉県入間郡鶴ヶ島町富士見2-20-3 パールハイム若葉105

㉑ 出 願 人 川研フアインケミカル 東京都中央区日本橋小舟町6番6号
株式会社

㉒ 出 願 人 味の素株式会社 東京都中央区京橋1丁目5番8号

明 細 書

従来技術

1. 発明の名称

麦角アルカロイドの分離精製法

2. 特許請求の範囲

1. 麦角菌クラビセパス・パスバリ(Claviceps paspali)の培養によって得られる麦角アルカロイドを含有する発酵液を、スチレンージビニルベンゼン共重合体およびフェノール系樹脂から選ばれる1種の多孔性高分子合成吸着剤と接触させ麦角アルカロイドを吸着させた後、溶離剤により該アルカロイドを溶出することを特徴とする麦角アルカロイドの分離精製法。

3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は、麦角菌クラビセパス・パスバリ(Claviceps paspali)の培養によって得られる発酵液より麦角アルカロイドを分離精製する方法に関するものである。

麦角アルカロイドは、医薬品として数々の薬効が知られている有用な化合物である。

クラビセパス・パスバリの発酵液は、主たる麦角アルカロイド成分として α -ヒドロキシエチルリゼルグ酸アミドとリゼルグ酸アミドの8:2混合物を含み、その他に培地成分である糖類や有機酸のアンモニウム塩、金属イオンおよび代謝産物や死菌体の構成成分である蛋白質、脂質、色素など多数の挟雑物を含有する水溶液である。

従来、麦角アルカロイドを分離する一般的方法としては、クロロホルム、酢酸エチル、n-ブタノールなどの有機溶媒を用いて抽出する方法が採用されてきた。しかしながら、この方法は麦角アルカロイドの回収率を向上させるために大量の溶媒を使用する必要があったり、また発酵液中に含有される蛋白質、脂質、消泡剤などに起因する乳化を起こし易いなどの問題点を含んでいる。

また、樹脂を用いる方法としては、特公昭45-12302号公報に強酸性カチオン型イオン交換樹脂を利用することが記載されている。しかしイオン交換樹脂の場合、樹脂の活性化や再生に特

別な処理操作を必要とする上、樹脂の膨潤や発熱など実用的には問題が多い。特開昭54-90198号公報には、アルコール性水酸基などの置換基を有する不溶性の重合体を用いた麦角アルカロイドの分離ないし精製法が記載されている。しかしその内容は、エルゴクリスチン、エルゴクリプチン、エルゴコルニンなどのペプチド型麦角アルカロイド混合物を相互に分離する方法に関するものである。

発明が解決しようとする課題

以上のように従来技術では、麦角アルカロイドを、それを含有する発酵液から取り上げる技術として工業的実施に満足できる方法は確立されていないのが現状である。

本発明は、ここに新たな麦角アルカロイドの分離精製法を提供する。

課題を解決するための手段

すなわち本発明は、麦角菌クラビセプス・パスパリ (*Claviceps paspali*) の培養によって得られる麦角アルカロイドを含有する発酵液を、スチレ

表面積は400~1000 m^2/g のものが使用される。たとえばスチレン-ジビニルベンゼン系共重合体の場合、三菱化成工業㈱のセパビーズSP207、SP206、SP800、SP900、ローム&ハースト社のデュオライトS-866およびS-861などが挙げられる。またフェノール系樹脂の場合、デュオライトS-761などが挙げられる。

高分子合成吸着剤は、バッチ処理で発酵液を処理することも出来るが、カラムに充填してそこに発酵液を通過させる方法がより簡便で好ましい。なお、樹脂の使用量は、麦角アルカロイドの吸着能60 mg/ml -湿潤樹脂に基づいて任意に決定される。カラムサイズは、とくに限定されないが、カラム長は管内径の2~5倍が好ましい。

本発明で使用される溶離剤は、アミド型麦角アルカロイドの親水性ゆえに5~80重量%の水を含有する有機溶剤が使用できる。有機溶剤としては、メタノール、エタノール、*n*-プロパノール、イソプロパノールなどの水溶性アルコール類、ア

ン-ジビニルベンゼン共重合体およびフェノール系樹脂から選ばれる1種の多孔性高分子合成吸着剤と接触させ麦角アルカロイドを吸着させた後、溶離剤により該アルカロイドを溶出することを特徴とする麦角アルカロイドの分離精製法である。クラビセプス・パスパリの産生する発酵液は、 α -ヒドロキシエチルリゼルグ酸アミドやリゼルグ酸アミドなどのアミド型麦角アルカロイドに富むもので、同じ麦角菌でもクラビセプス・プルブレア (*Claviceps purpurea*) の発酵液がペプチド型麦角アルカロイドを主成分とするものであるのに対して、それらの化学構造、物理的および化学的性質は互いに異なっている。

本発明で使用する高分子合成吸着剤は、ジビニルベンゼン-スチレン共重合体およびフェノール系樹脂から選ばれる一種が使用できる。これら高分子合成吸着剤は、分子中に際立った官能基を有しないで、単にその分子の持つファンデアワールス力によって化合物を吸着する。一般に粒径は250~850 μm 、孔径は約500 \AA 、さらに

セトンなどの水溶性ケトン類、テトラヒドロフラン、ジオキサンなどの水溶性エーテル類、アセトニトリルなどの水溶性ニトリル類が使用され、単一溶媒またはこれらの混合溶媒として用いることができる。また、これらの溶媒系にアンモニア水炭酸水素ナトリウム水溶液などの弱アルカリ性成分やコハク酸、クエン酸などの弱酸性成分を添加しても良い。

次に、本発明の一実施態様を順を追って説明する。

クラビセプス・パスパリの発酵液は菌体を濾過後、そのままでも本発明方法に適用できる。しかし、液のpHは5.0~5.5であるので、麦角アルカロイドの収率を高めたい場合にはアンモニア水にてpHを7.0以上に調整して行えば、ほぼ定量的に麦角アルカロイドを回収することができる。高分子合成吸着剤はあらかじめカラムに充填しておき、水洗する。高分子合成吸着剤を充填したカラムへの発酵液の通過空間速度は、0.5~20 h^{-1} が適当である。発酵液の通過終了後、今度は溶離

液をカラムに通過させる。溶離剤の使用量ならびに通過速度は溶媒の種類により異なるが、ほぼ樹脂体積の3～6倍くらい使用すれば充分である。アルカロイドの溶出が終了したかどうかは薄層クロマトグラフィー等によって判定できる。溶離液は減圧下に溶媒を留去したのち、水を含む残渣を酢酸エチルなどの抽出溶媒で抽出すれば、容易に高純度の麦角アルカロイドを得ることができる。溶出の終わった高分子合成吸着剤は樹脂体積の2倍量の1規定水酸化ナトリウム水溶液を含むイソプロパノールまたはアセトンで洗浄後、更に充分に水洗することによって再生することができる。

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。

実施例

実施例 1

麦角菌クラビセパス・パスバリの発酵液500 ml (麦角アルカロイド含量1040 mg、pH 5.2) を高分子合成吸着剤セバビーズSP207 (三菱化成工業製) 20 mlを充填したカラム (φ

20×64 mm) に5 ml/minの流速で通液し、80 mlの水で洗浄した後、50%のアセトン水溶液80 mlで溶離した。実施例1と同様に処理し、純度90%の麦角アルカロイド915 mg (収率99%) を得た。

実施例 4

実施例1と同様の発酵液1000 ml (麦角アルカロイド含量832 mg) を濃アンモニア水でpH 9に調整したのち、デュオライトS-761の20 mlのカラム (φ20×64 mm) に5 ml/minの流速で通液し、80 mlの水で洗浄した後、50%のアセトン水溶液80 mlで溶離した。実施例1と同様に処理し純度92%の麦角アルカロイド859 mg (収率95%) を得た。

発明の効果

本発明により簡単な操作で麦角アルカロイドを含有する発酵液より高純度の麦角アルカロイドを高収率で得ることが可能になった。

20×64 mm) に5 ml/minの流速で通液した後、80 mlの水で洗浄し、ついで50%メタノール水溶液80 mlで溶離した。溶離液から減圧下にメタノールを留去し、残渣をアンモニア水でpH 9に調整したのち酢酸エチルで抽出し、酢酸エチルを除去して乾燥すると純度92%の麦角アルカロイド768 mg (収率68%) を得た。

実施例 2

実施例1と同様の発酵液1500 ml (麦角アルカロイド含量1248 mg) を濃アンモニア水でpH 9としたのち、セバビーズSP207の20 mlのカラム (φ20×64 mm) に5 ml/minの流速で通液した。これを80 mlの水で洗浄し、ついで85%イソプロパノール水溶液80 mlで溶離した。実施例1と同様に処理し、純度94%の麦角アルカロイド1314 mg (収率99%) を得た。

実施例 3

実施例1と同様の発酵液1000 ml (麦角アルカロイド含量832 mg) を濃アンモニア水でpH 9に調整したのち、デュオライトS-861 (ロ