

ALCALOIDES DEL CLAVICEPS PASPALI STEV. ET HALL OBTENIDOS DEL PASPALUM DILATATUM POIR

CASTIGLIONI, M.
DEXIN SRL, Colonia 1181 Apto. 305,
Montevideo, Uruguay

MOYNA, P.
Cátedra de Farmacognosia
Facultad de Química.

TUBIO, R.
Cátedra de Farmacognosia
Facultad de Química

RESUMEN

Se presentan los resultados obtenidos en la búsqueda de alcaloides en el *Claviceps paspali* que naturalmente infecta las espigas de *Paspalum dilatatum* en Uruguay. El contenido en alcaloides es importante,

y los principales alcaloides encontrados fueron las amidas del ácido lisérgico e isolisérgico, y las metil-carbinol amidas de los mismos ácidos. Hay porcentajes menores de alcaloides del grupo de la clavina.

Veterinaria, 71: 133-35, 1979

INTRODUCCION

El *P. dilatatum* es una gramínea autóctona¹⁰ —a pesar de haber sido descrita como originaria de “la región cercana a Montevideo, Argentina”²!—, que tiene gran valor alimenticio para el ganado. Esto ha impulsado a su implantación en otras regiones² y a su uso en pasturas mejoradas. Presenta un inconveniente potencial cuando sus espigas son infectadas^{2,6,9} por el hongo *C. paspali*, cuyo esclerocio⁹ es tóxico debido a la presencia de alcaloides relacionados con el ergoleno^{1,2,5,11}.

Esta propiedad del hongo ha llevado a su utilización para la producción in-

dustrial de estos alcaloides, mediante cultivos sumergidos^{1,5,11}. Los alcaloides producidos dependen de la cepa estudiada^{1,11,13}, pero la más importante¹ produce las amidas y carbinol-amidas de los ácidos lisérgico e isolisérgico, con rendimientos que llegan hasta 2 g/lt.

El estudio de los alcaloides en hongos que directamente infectan pasturas no ha sido muy amplio^{2,7}, en gran parte debido a las dificultades prácticas en analizar las causas de las pérdidas no epizoóticas en las explotaciones ganaderas.

El hongo *Claviceps purpurea*, del mismo Género, es responsable del ergotismo tanto en humanos como en ruminantes.

Su síndrome puede dividirse en dos grandes categorías^{3,8}: los síntomas nerviosos o convulsivos y la aparición de gangrena⁸. La intoxicación por *C. paspali* produce un cuadro de síntomas nerviosos y han sido reconocidos tanto nacional⁹ como internacionalmente².

El presente estudio se llevó a cabo con el fin de establecer una mejor correlación entre la aparición de síntomas y la composición alcaloídica del *C. paspali* que crece naturalmente en nuestro medio.

MATERIAL Y METODOS

Obtención de la muestra

Se obtuvieron muestras de espigas infectadas de la plantación experimental de la Facultad de Agronomía (Montevideo), en el período febrero-marzo de 1977. Las muestras fueron separadas manualmente e identificadas por la Prof. B. Arrillaga de Maffei.

Obtención de los Alcaloides

La muestra de esclerocios fue tratada con éter de petróleo (ANCAP, 60-80) en un aparato de Soxhlet (12 horas). La muestra así desengrasada fue humedecida con amoníaco acuoso 1M, y extraída con cloruro de metileno (aparato Soxhlet, 12 horas). El solvente se evaporó (evaporador rotatorio, con presión reducida, temperatura del baño exterior, 45° C), obteniéndose el extracto crudo de alcaloides totales.

El extracto crudo se disolvió en una solución de ácido cítrico (acuoso 5%), se filtró, y luego se ajustó el pH a 9,0 con amoníaco. Esta solución alcalina fue nuevamente extraída con cloruro de metileno, obteniéndose un extracto purificado de alcaloides totales.

Separación de los Alcaloides

Los alcaloides fueron separados por cromatografía en papel preparativo (Papel Whatman N° 1, utilizando el solvente

N° 1 descripto por Groger *et al.*^{2,4}). Las fracciones fueron valoradas por el método de van Urk^{1,2}.

RESULTADOS

A partir de 86 g. de espigas se separaron 1 g de esclerocios y el extracto crudo de alcaloides totales obtenido fue de 56 mg, lo que representa un 5,6 % de los esclerocios.

El extracto purificado de alcaloides totales representó un 0,015 % sobre los esclerocios, determinados como amida del ácido lisérgico por métodos de van Urk^{1,2}.

Los alcaloides encontrados y los porcentajes del total de alcaloides son: amida del ácido lisérgico, 35 %; amida de ácido isolisérgico, 5 %; metil-carbinol amida del ácido lisérgico, 27 %; metil-carbinol amida del ácido isolisérgico, 3 %; alcaloides del grupo de la clavina, 10 %; alcaloides varios de estructura desconocida, 20%*.

DISCUSION

Hasta el momento se han encontrado tres grupos de cepas de *C. paspali* que, en cultivos sumergidos, producen diferentes alcaloides. El grupo básico fue estudiado por Arcamone *et al.*¹, y produce las amidas y carbinol-amidas de los ácidos lisérgico e isolisérgico. Una segunda cepa produce ergobasina y ergobasinina^{1,3}, y la tercer cepa forma principalmente ácido lisérgico y ácido 6-metil- $\Delta^{8,9}$ -ergolen-8-carbónico^{1,1}.

Los únicos trabajos recientes realizados sobre esclerocios producidos naturalmente (esto es, a partir de espigas infectadas), describen como principales alcaloides a la carbinol amida del ácido lisérgico, con trazas de la amida del ácido lisérgico e isolisérgico, y finalmente ergometrina².

* La colaboración del laboratorio Sandoz Ltd. de Basilea, Suiza, hizo posible esta determinación.

En este trabajo se advierte, además, la ausencia de alcaloides del grupo de la clavina².

Nuestros resultados indican ciertas diferencias con el trabajo anterior. Para comenzar, un rendimiento cinco veces mayor de alcaloides purificados; luego la presencia como alcaloides principales de la amida y la metil-carbinol amida del ácido lisérgico, juntamente con la presencia de cantidades menores de la amida y la metil-carbinol amida del ácido isolisérgico; finalmente, la existencia de alcaloides del grupo de la clavina. La composición es similar a la descrita por Arcamone *et al.* para cultivos sumergidos¹.

CONCLUSIONES

De lo anterior se desprende que el contenido relativamente alto de alcaloides poderosamente activos en las cepas que naturalmente infectan *P. dilatatum* en el Uruguay puede llegar a ser el agente causante de efectos tóxicos (principalmente síntomas nerviosos) en el ganado. Para su control se pueden recomendar las indicaciones de Riet Alvariza, F. *et al.*⁹.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer la colaboración de la Prof. B. Arrillaga de Maffei —de la Cátedra de Botánica, Facultad de Química— por su apoyo y ayuda en la colección de muestras. Para la realización del trabajo fue invaluable la colaboración de los Dres. A. Wartburg y H. Kobel —de Sandoz Ltd., Basilea, Suiza—. Una importante donación de equipo científico de la Embajada Británica en Montevideo hizo posible el presente trabajo.

REFERENCIAS

1. ARCAMONE, F. et al.: "Production of lysergic acid derivatives by a Strain of *Claviceps paspali* Stevens and Hall in submerged culture". *Nature* 187, 238-9, (1960).
2. BIANCHI, P. et al.: "La tossicità degli scleroti naturali di *Claviceps paspali* Stevens et Hall su alcuni animali domestici". *Zoo. profilas*, Feb., 79-98, (1965).
3. BOVE, F. J.: "The story of Ergot" Edit. Karger, New York, 1970, 157 pp.
4. GROGER, D.; TYLER, V. E.; DUSEMBERRY, J. E.: "Ergot alkaloids from *Claviceps paspali* growing on *Paspalum dilatatum* Poir". *Lloydia* 14, 97 - 105, (1961).
5. KOBEL, H.; SCHREIBER, E. y RUTSCHMANN, J.: "Ergot alkaloids IX. 6-methyl-^{8,9} ergoline - 8-carboxylic acid, a new ergoline derivative from cultures of strain of *Claviceps paspali*". *Helv. Chim. Acta* 47, 1052-64, (1964).
6. MARCHINATO, J. B.: "Manual de las enfermedades de las plantas". Edit. Sudamericana, Buenos Aires, 1944, 368 pp.
7. PORTES, J. K.; BACON, C. V. and ROBBINS, R.: "Major alkaloids of a *Claviceps paspali* isolated from toxic Bermuda Grass". *J. Agric. Food Chem* 22(5), 838-41, (1974).
8. QUIÑONES, C. et al.: "Ergotismo, primera comprobación en el Uruguay". C.I.VET Miguel Rubino M.G.A. Publicación N° 1, 1962, 14 pp.
9. RIET - ALVARIZA, F. et al.: "Síndrome nervioso en bovinos producido por el hongo *Claviceps paspali*", *Veterinaria* 62:82-89, (1976).
10. ROSENGURT, B.; ARRILLAGA DE MAFFEI, B. e IZAGUIRRE DE ARTUCIO, P.: "Gramíneas Uruguayas" Depto. de Pub. de la Universidad, Montevideo 1970, 369 pp.
11. TSCHERTER, H. and HAUT, H.: "Three new ergot alkaloids from saprophytic cultures of *Claviceps paspali*". *Helv. Chim. Acta* 57, 113-21, (1974).
12. VAN URK, H. W.: "A new sensitive reaction for the ergot alkaloids, ergotamine, ergoxine, and ergotinine, and its adaptation to the examination and colorimetric determination of ergot preparations" *Pharm. Weekblad* 66, 473-81, (1929).
13. Patente E.U.A. N° 6.409.764: Microbiological preparation of ergobasine Sandoz Ltda. *Chem. Abst.* 63, 15509^b, (1965).

Recibido para su publicación el 22 de mayo de 1978.

SUMMARY

The alkaloids present in *Claviceps paspali* growing on *Paspalum dilatatum* spikes in Uruguay are described. The alkaloid content is important, and the more abundant alkaloids were the amides of ly-

sergic and isolysergic acids, together with the methyl-carbinolamides of the same acids. There are smaller percentages of clavine alkaloids.

Veterinaria, 71: 133-35, 1979