

INDICE

Resumen	
Introducción	
1.0 .- Los Alkaloides.	1
1.1 .- Definición.	1
1.2 .- Actividades fisiológicas y funciones.	2
1.3 .- Distribución.	4
1.4 .- Clasificación.	4
2.0 .- Los alcaloides indólicos.	5
2.1 .- Tipos estructurales.	7
2.2 .- Distribución en las plantas.	8
2.3 .- Alcaloides indólicos de importancia médica.	8
2.4 .- Formación de alcaloides indólicos in vitro.	10
3.0 .- Análisis de alcaloides indólicos.	12
3.1 .- Análisis cualitativo de alcaloides indólicos.	12
3.2 .- Análisis cuantitativo de alcaloides indólicos.	13
4.0 .- Justificación.	15
5.0 .- Objetivos.	16
6.0 .- Parte experimental.	17
6.1 .- Diseño experimental.	17
6.1.1.-Separación de los alcaloides.	18
6.1.2.-Optimización del método de cuantificación.	18
6.1.3.-Aplicación del método.	19
6.2 .- Materiales y métodos.	20
6.2.1.-Material biológico.	20
6.2.2.-Condiciones de crecimiento.	20
6.2.3.-Tratamientos.	21

7.0.- Métodos.	22
7.1 .- Extracción de los alcaloides	22
7.2 .- Purificación de los alcaloides.	22
7.3 .- Cromatografía de capa fina (TLC)	23
7.4 .- Detección de alcaloides indólicos.	23
7.5 .- Cuantificación de alcaloides totales.	24
7.6 .- Cuantificación de alcaloides individuales.	25
8.0 .- Resultados.	26
8.1 .- Desarrollo de la fluorescencia.	26
8.2 .- Separación de los alcaloides.	29
8.3 .- Optimización del método.	34
8.4 .- Protocolo	41
8.5 .- Aplicación del método	44
8.5.1.- Análisis de plantas sometidas a estrés de sequía.	44
8.5.2.- Análisis de plantas tratadas con ABA.	46
8.5.3.- Análisis de alcaloides en <u>Plumeria obtusa</u>	49
9.0 .- Discusión	51
10.0.- Conclusiones	54
BIBLIOGRAFIA	55

RESUMEN

Por observaciones casuales se encontró que la ajmalicina, un alcaloide que no presenta fluorescencia perceptible en condiciones normales, puede convertirse a otros compuestos fluorescentes cuando se le expone a los vapores de yodo. En base a este hecho se propuso el desarrollo de un método analítico para la cuantificación de la ajmalicina en forma simultánea con la serpentina (alcaloide que presenta fluorescencia nativa en condiciones normales). Aquí se describe un método para el análisis simultáneo por TLC de serpentina y ajmalicina en base a su fluorescencia nativa e inducida respectivamente. La separación de los alcaloides se llevó a cabo con el sistema de solventes Propanol 2/ Ac. acético/ agua 8:0.5:0.5 (v/v/v) en placas de gel de sílice. Una vez separados los alcaloides, la placa es expuesta a los vapores de yodo. El tiempo óptimo de exposición fue de 60 segundos. La cuantificación en un densitómetro puede efectuarse inmediatamente o 24 h después cuando la intensidad de fluorescencia de la ajmalicina es 60% mayor. La fluorescencia nativa de la serpentina no es afectada por el tratamiento con el yodo. Se prepararon curvas de calibración. Para serpentina se obtuvo una respuesta lineal en el rango de 0.14 a 2.13 nmoles aplicados y para la ajmalicina, en el rango de 0.07 a 2.13 nmoles. El método se aplicó para el análisis de ajmalicina y serpentina en extractos de plantas.