

## INDICE

Resumen	
Introducción	
1.0 .- Los Alcaloïdes.	1
1.1 .- Definición.	1
1.2 .- Actividades fisiológicas y funciones.	2
1.3 .- Distribución.	4
1.4 .- Clasificación.	4
2.0 .- Los alcaloïdes indólicos.	5
2.1 .- Tipos estructurales.	7
2.2 .- Distribución en las plantas.	8
2.3 .- Alcaloïdes indólicos de importancia médica.	8
2.4 .- Formación de alcaloïdes indólicos in vitro.	10
3.0 .- Análisis de alcaloïdes indólicos.	12
3.1 .- Análisis cualitativo de alcaloïdes indólicos.	12
3.2 .- Análisis cuantitativo de alcaloïdes 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 alcaloïdes.	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 alcaloïdes	22
7.2 .- Purificación de los alcaloïdes.	22
7.3 .- Cromatografía de capa fina ( TLC )	23
7.4 .- Detección de alcaloïdes indólicos.	23
7.5 .- Cuantificación de alcaloïdes totales.	24
7.6 .- Cuantificación de alcaloïdes individuales.	25
8.0 .- Resultados .	26
8.1 .- Desarrollo de la fluorescencia.	26
8.2 .- Separación de los alcaloïdes.	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 alcaloïdes 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 iodo. 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/ Ác. 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 iodo. El tiempo óptimo de exposición fue de 60 segundos. La cuantificación en un densímetro 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 iodo. 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.