

INDICE

RESUMEN	
INTRODUCCION	1
CAPITULO I	3
OBJETIVOS	3
I. Objetivos	3
CAPITULO II	4
ANTECEDENTES	4
II.1. Breve descripción de <i>Catharanthus roseus</i>	4
II.1.1. Utilidad de la planta	4
II.2. Cultivo de tejidos	5
II.2.1. Cultivo de callos	5
II.2.2. Requerimientos nutricionales del cultivo de tejidos <i>in vitro</i>	7
II.2.3. Fitorreguladores	7
II.2.4. Ventajas del cultivo de tejidos	8
II.2.5. Desventajas del cultivo de tejidos	8
II.3. Metabolismo secundario	8
II.3.1. Alcaloides	9
II.3.2. Biosíntesis de los alcaloides de <i>Catharanthus roseus</i>	10
II.3.3. Importancia comercial	11
II.4. Diseño experimental	12
CAPITULO III	16
MATERIALES Y METODOS	16
III.1. Material biológico	16
III.2. Reactivos	16
III.3. Métodos	16
III.3.1. Cultivo de tejidos	16
III.3.1.1. Propagación	16
III.3.2. Análisis de los alcaloides	17
III.3.2.1. Extracción de los alcaloides totales de <i>C. roseus</i>	17
III.3.2.2. Cromatografía de capa delgada	17
III.3.3. Purificación de los alcaloides	18
III.3.3.1. Partición por polaridad	18
III.3.3.2. Purificación por cromatografía de columna tipo "flash"	19
III.3.3.3. Cromatografía de capa preparativa	19
III.3.4. Métodos espectroscópicos de identificación	20
III.3.4.1. Espectroscopía de infrarrojo	20
III.3.4.2. Espectroscopía de resonancia magnética nuclear	20
III.3.4.3. Espectrometría de masas	20

CAPITULO IV	24
RESULTADOS Y DISCUSION	24
IV.1 Análisis de los alcaloides	24
IV.1.1. Extracción de los alcaloides	24
IV.1.2. Análisis cualitativo de los alcaloides	24
IV.2. Purificación de los alcaloides	25
IV.2.1. Partición por polaridad	25
IV.2.2. Purificación de los alcaloides por cromatografía en columna y/o por cromatografía en placa preparativa	26
IV.2.2.1 Purificación de la fracción MH1A (baja polaridad)	26
IV.2.2.2. Purificación de la fracción MH1B (mediana-baja polaridad)	27
IV.2.2.3. Reunión de las fracciones MH1A Y MH1B	28
IV.2.2.4. Purificación de la fracción MH1AB	29
IV.2.2.5. Purificación de la fracción MH2AB	30
IV.2.2.6. Purificación de la fracción MH3AB	30
IV.2.2.7. Purificación de la fracción MH4AB	31
IV.2.2.8. Purificación de la fracción MH5AB	32
IV.3. Identificación de los alcaloides	32
IV.3.1. Identificación de la fracción MH1	33
IV.3.2. Identificación de la fracción MH2	34
IV.3.3. Identificación de la fracción MH3	35
CONCLUSIONES	37
BIBLIOGRAFIA	56

RESUMEN

El presente trabajo presenta el diseño de la metodología para el aislamiento y purificación de los alcaloides no polares presentes en un cultivo de callos fotomixotróficos de *Catharanthus roseus*, para realizar lo anterior, se llevó a cabo una extracción ácido-base para obtener los alcaloides totales; el proceso de purificación se inició mediante la partición por polaridad de dicho extracto de alcaloides totales, utilizando cuatro diferentes disolventes, de polaridad creciente (hexano, diclorometano, acetato de etilo y butanol). Posteriormente se llevó a cabo la purificación de las bandas mayoritarias de alcaloides presentes en las fracciones no polares (hexánica y diclorometánica) utilizando diferentes técnicas cromatográficas. Finalmente, nos avocamos a identificar a aquellos alcaloides que se purificaron de dichas fracciones no polares, mediante el uso de técnicas espectroscópicas como son: resonancia magnética nuclear protónica, infrarrojo y espectrometría de masas; lográndose identificar a los siguientes alcaloides: ajmalicina, catarantina y vincamina.