



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE YUCATAN

FACULTAD DE QUIMICA

"PURIFICACION E IDENTIFICACION DE ALCALOIDES DE UNA
LINEA CELULAR DE Catharanthus roseus"

T E S I S

PRESENTADA POR:

Cesar de los Santos Briones

EN SU EXAMEN PROFESIONAL
EN OPCION AL TITULO DE:

QUIMICO BIOLOGO BROMATOLOGO

RIBLIOTECA CICY

MERIDA, YUCATAN, MEXICO.

1994

INDICE

	Página
INTRODUCCION	1
CAPITULO I	
ANTECEDENTES	6
I.1. <i>Catharanthus roseus</i> (L) G. Don.	6
I.2. Metabolismo secundario	7
I.3. Alcaloides	8
Alcaloides indólicos	9
I.4. Cultivo de tejidos vegetales	10
Cultivo de callos	12
OBJETIVOS	14
DISEÑO EXPERIMENTAL	15
CAPITULO II	
MATERIALES Y METODOS	16
II.1. MATERIALES	16
II.1.1. Material biológico	16
II.1.2. Reactivos	16
II.2. METODOS	17
II.2.1. Preparación del medio de cultivo sólido	17
II.2.2. Resiembra del material biológico en la campana de flujo laminar en medio sólido	19
II.2.3. Extracción de los alcaloides totales	20
II.2.4. Cuantificación de alcaloides totales	21
II.2.5. Cromatografía de capa delgada	22
II.2.6. Purificación de los alcaloides	22
II.2.6.1. Partición por polaridades	22
II.2.6.2. Cromatografía por columna	24

II.2.6.3. Cromatografía por placa preparativa	24
II.2.7. Identificación de los alcaloides	25
II.2.7.1. Espectroscopía de infrarrojo	25
II.2.7.2. Espectroscopía de resonancia magnética nuclear	25
II.2.7.3. Espectrometría de masas	26
 CAPITULO III	
RESULTADOS Y DISCUSION	27
 III.1. Análisis de los alcaloides	27
III.1.1. Extracción de los alcaloides	27
III.1.2. Análisis cualitativo de los alcaloides	28
III.2. Purificación de los alcaloides	28
III.2.1. Partición por polaridad	28
III.2.2. Purificación de los alcaloides por cromatografía en columna y/o por cromatografía en placa preparativa	30
III.2.2.1. Purificación de la fracción CS-C (mediana alta polaridad)	31
III.2.2.2. Purificación de la fracción CS-D (alta polaridad)	32
III.2.2.3. Reunión de las fracciones similares de CS-C y CS-D	33
III.2.2.4. Purificación de la fracción CS-1CD	34
III.2.2.5. Purificación de la fracción CS-2CD	36
III.2.2.6. Purificación de la fracción CS-3CD	37
III.3. Identificación de los alcaloides	38
III.3.1. Identificación de la fracción CS-1 (yohimbina)	39
III.3.2. Identificación de la fracción CS-2 (serpentina)	45
III.3.3. Identificación de la fracción CS-3 (ajmalina)	49
 III.4. CONCLUSIONES	55
 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	56

RESUMEN

En este trabajo se reporta el aislamiento, la purificación e identificación de los alcaloides polares presentes en una línea celular de callos de *Catharanthus roseus*.

La extracción de los alcaloides totales se realizó de acuerdo a la modificación hecha al método reportado por Kutney (1980) obteniendo un contenido de 442.7 mg/g de peso seco. El extracto crudo se sometió a una partición con disolventes de diferente polaridad siendo éstos hexano, diclorometano, acetato de etilo y butanol (de polaridad ascendente respectivamente). Se tomaron las fracciones resultantes de la partición con acetato de etilo y butanol, y se purificaron las bandas mayoritarias por cromatografía en columna y placa preparativa teniendo como resultado tres fracciones finales puras (CS-1, CS-2, y CS-3). Finalmente, se analizaron estas tres fracciones con técnicas de identificación espectroscópicas como espectroscopía de infrarrojo, resonancia magnética nuclear, y espectrometría de masas. Las fracciones CS-1, CS-2 y CS-3 fueron identificadas como yohimbina, serpentina y ajmalina respectivamente.