



Universidad Autónoma de Yucatán

Facultad de Química

CARACTERIZACION DE LOS ALCALOIDES INDOLICOS
PRESENTES EN LINEAS CELULARES NORMALES
Y HABITUADAS DE

Catharanthus roseus

TESIS

PRESENTADA POR:

Lilia Leticia Fuente Moreno

EN SU EXAMEN PROFESIONAL
EN OPCION AL TITULO DE:

4064

BIBLIOTECA CICY

QUIMICO BIOLOGO BROMATOLOGO

MERIDA, YUCATAN, MEXICO.

1990

CONTENIDO

	Pág.
SINOPSIS	1
 CAPITULO I. ANTECEDENTES	 3
I.1. Objetivo	3
I.2. Descripción botánica	3
I.2.1. Taxonomía	4
I.2.2. Descripción geográfica	5
I.2.3. Utilidad de la especie	5
I.3. Cultivo de tejidos	6
I.3.1. Bases y definiciones del cultivo de tejidos	7
I.3.2. Ventajas del cultivo de tejidos	10
I.3.3. Desventajas	11
I.3.4. Requerimientos nutricionales del cultivo de tejidos <u>in vitro</u>	11
I.4. Reguladores del crecimiento en el cultivo de tejidos	12
I.4.1. Características de los reguladores del crecimiento	13
I.4.1.1. Auxinas	14
I.4.1.2. Citocininas	14
I.5. Alcaloides	15
I.5.1. Biosíntesis de los alcaloides	16
I.5.2. Biosíntesis de los alcaloides diméricos	18
I.5.3. Taxonomía de los alcaloides	20
 CAPITULO II. MATERIALES Y METODOS	 26
II.1. Objetivo	26
II.2. Diseño experimental	26
II.3. Justificación	26
II.4. Hipótesis	28
II.5. Materiales	29
II.5.1. Material biológico	29

II.5.2.	Material de vidrio	30
II.5.3.	Instrumentos	30
II.5.4.	Reactivos	30
II.5.5.	Preparación de los reactivos	31
II.6.	Métodos	31
II.6.1.	Evaluación del crecimiento	31
II.6.2.	Métodos de extracción de alcaloides	32
II.6.3.	Cromatografía en capa fina	32
II.6.4.	Cromatografía en columna	33
II.6.4.1.	Recromatografía	33
II.6.5.	Espectros de ultravioleta	34
II.6.6.	Espectrometría de masas	34
CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSION		38
III.1.	Caracterización de los alcaloides	38
III.1.1.	Efecto de la luz sobre el patrón de alcaloides en callos de <u>C. roseus</u>	38
III.1.2.	Efecto de la fuente nitrogenada sobre el patrón de los alcaloides en callos de <u>C. roseus</u>	46
III.1.3.	Efecto de la 6-BAP en el contenido de los alcaloides en callos de <u>C. roseus</u>	50
III.2.	Purificación de los alcaloides	58
III.2.1.	Corrida de los estándares	59
III.2.2.	Columna preliminar	60
III.2.3.	Columna final	62
III.2.3.1.	Purificación de ajmalicina	63
III.2.3.2.	Purificación de serpentina	64
III.2.3.3.	Identificación de la ajmalicina y de la serpentina	64
CONCLUSIONES		81
APENDICES		83
BIBLIOGRAFIA		85

SINOPSIS

La búsqueda de sustancias anticarcinogénicas ha sido una de las principales preocupaciones de la medicina, la farmacología y la bioquímica moderna. Entre las sustancias que presentan esta propiedad se encuentran algunos alcaloides naturales como la vincristina y la vinblastina, sintetizadas por la planta Catharanthus roseus. La obtención industrial de estos compuestos es muy costosa por lo que es deseable buscar y estudiar otras alternativas para su obtención.

En un primer trabajo, utilizando técnicas de la biotecnología, se reportó la presencia de vinblastina en cultivo de tejidos vegetales con un contenido de 0.00013 % (Hofmann et al., 1983). Estudios recientes en el Departamento de Bioquímica del CICY han mostrado la presencia de vinblastina y vincristina en cantidades significativamente mayores.

Los resultados muestran una marcada diferencia entre los callos verdes y los callos blancos, sugiriendo que la síntesis de los alcaloides requiere la presencia de tejido diferenciado

(callos verdes). Asimismo los callos blancos (Osc-82) presentan un mayor contenido de alcaloides que los callos blancos (luz-85).

Por otra parte se encontraron diferencias entre los callos crecidos en diferentes fuentes nitrogenadas, determinándose un mayor contenido, así como un patrón diferente de los alcaloides en callos que fueron crecidos en nitrato por 2 años.

En estudios hechos con líneas normales y con líneas habituadas de C. roseus inducidas en 1982 y en 1985 no se encontró diferencia, ni en el contenido total de alcaloides presentes, pero en el caso de las dos líneas habituadas de 82 y 85 si se encontraron diferencias.

Por medio de una columna de sílica gel fue posible la purificación de dos de los alcaloides más importantes en callos verdes de 1982 de C. roseus, la serpentina y la ajmalicina, estos compuestos fueron caracterizados en base a diferentes criterios, principalmente espectrometría de masas, resonancia magnética nuclear y espectrofotometría.