

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA



PAPAVER BRACTEATUM

TESIS MONOGRAFICA

Que Para Obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P r e s e n t a

ROSALINDA ALBERTINA ACEVEDO VERA

México, D. F.

1978



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

TESIS 1978

LA
DE
ARDE
DE
A

M. I

MUTACIONES EN LA ACTIVIDAD



MONOGRAFÍA TESIS

del Departamento de Química
Química Inorgánica

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

1978

1978

PRESIDENTE: Ignacio Diez de Urdanivia M.
VOCAL: Etelvina Medrano de Jaimes
Jurado asignado originalmente según el tema SECRETARIO: Enrique Calderón García
1er.SUPLENTE: César Domínguez Camacho
2do.SUPLENTE: Ana María Méndez Chávez

Sitio donde se desarrolló el tema: Biblioteca de la Organización de las Naciones Unidas y diversas bibliotecas

Sustentante: Rosalinda Albertina Acevedo Vera _____

Asesor de Tema: Ignacio Diez de Urdanivia M. _____

A la memoria de mis
Padres
y de mi hermano
Ramiro

A mi esposo Enrique:
con amor y agradecimiento
por el apoyo que me brindó
para poder ver realizada
mi carrera.

A mis hijas:
Nivin y Vivian
con amor y cariño.

A mi hermano Víctor:
con cariño y gratitud
por la ayuda económica
con que realicé mis
estudios.

A mis hermanos
Alfonso, Norberto,
Clemente, Blanca y
Raúl:
con cariño

Hago patente mi agradecimiento
al Q.F.B. Ignacio Diez de Urdanivia
por su valiosa dirección en la rea-
lización de este trabajo.

A mis maestros, compañeros
y Escuela

I N D I C E

I N D I C E

INTRODUCCION

CAPITULO I GENERALIDADES

1. Generalidades de las Papaveráceas
2. Datos Históricos del Papaver Bracteatum
3. Papaver Bracteatum Lindl
4. Derivados del Papaver Bracteatum

CAPITULO II CARACTERISTICAS DEL PAPAVER BRACTEATUM

5. Generalidades del Papaver Bracteatum
6. Comparación de las características botánicas del Papaver Bracteatum y del Papaver Somniferum
7. Principales diferencias botánicas entre el Papaver Bracteatum y el Papaver Somniferum.

8. Características botánicas del Papaver Orientale
9. Características botánicas del Papaver Pseudo-Orientale
10. Características botánicas del Papaver Bracteatum en comparación con el Papaver Orientale
11. Identificación de Papaver Bracteatum y otras especies de Papaver por la impresión de la epidermis de la hoja

CAPITULO III CONVERSION DE TEBAINA EN CODEINA

12. Conversión de Tebaina en Codeina

CAPITULO IV EXPERIMENTO EN PAPAVER BRACTEATUM LINDL

13. Experimento de incorporación de sustancias activas como precursoras en la biosíntesis de alcaloides del Papaver Bracteatum Lindl
14. Modo de operar
15. Precursores marcados

16. Aplicación de los precursores marcados
17. Resultados y discusión

CAPITULO V P.B.L. FUENTE DE OPIACEOS

18. Papaver Bracteatum Lindl una nueva planta fuente de opiaceos (Inglaterra)
19. Material y métodos
20. Características químicas
21. Contenido de Tebaina en cápsulas, tallos, látex y raiz en varias etapas de desarrollo-muestreo
22. Análisis cuantitativo
23. Resultados
24. Discusión
25. Rendimiento por hectárea

CAPITULO VI DETERMINACION DE TEBAINA EN EL PAPAVER
BRACTEATUM

26. Prueba aceptable para el análisis de Tebaina
27. Prueba rápida semi-cuantitativa para la determinación de Tebaina y Diferenciación de Papaver Bracteatum, - Papaver Orientale y Papaver Pseudo Orientale.
28. Reporte de un subgrupo de trabajo sobre métodos para la determinación de Tebaina (Organizado por las Naciones Unidas).

CAPITULO VII ADORMIDERA SIN OPIO BAJO ESTUDIO COMO
FUENTE DE CODEINA (U.S.A.)

29. Adormidera sin Opio bajo estudio como fuente de Codeina

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFIA

I N T R O D U C C I O N

I N T R O D U C C I O N

Para el hombre ha sido desde un principio el reino vegetal - fuente inagotable de numerosísimos productos. En épocas remotas lo fue para proporcionarle su alimento, mas tarde, con la evolución misma del hombre, constituyó además de fuente alimenticia, la de productos activos que hacían a esa planta curativa.

Actualmente el hombre sigue en su afán de investigación y ayudado por las nuevas técnicas y descubrimientos, encuentra productos nuevos en dichos vegetales, los cuales se emplean en la industria, medicina, o bien para aumentar nuestro conocimiento sobre la naturaleza que nos rodea.

Nace así la Fitoquímica, que es el estudio de los componentes químicos de los vegetales, mas precisamente, la química de la unidad vital: la célula vegetal, centro de fenómenos que proceden al desarrollo de las plantas. Y es así como por medio

del análisis fitoquímico o sea la extracción y determinación de sustancias de una célula vegetal, nos lleva a establecer la estructura, propiedades, etc., de esas sustancias fisiológicamente activas.

El presente trabajo tiene como finalidad aumentar el conocimiento de una especie de la familia de las Papaveráceas denominada *Papaver Bracteatum* Lindl que elabora tebaína, la cual mediante un proceso químico puede transformarse en codeína, surgiendo de esta manera una nueva fuente para la producción de codeína, lo cual resulta interesante debido a que en los últimos años ha habido indicaciones de una posible escasez de materias primas para la producción de codeína, cuyo uso como bequico está muy difundido y se emplea también mucho como analgésico leve. En la actualidad la codeína se obtiene mediante el proceso de metilación de la morfina; pero con la disminución general de la producción de opio y el aumento de la asistencia médica se puede ocasionar una escasez de codeína que crearía un problema grave, por lo cual es conveniente disponer de otras fuentes de producción.

C A P I T U L O I

GENERALIDADES

GENERALIDADES DE LAS PAPAVERACEAS

La familia de las Papaveraceas se compone de unas 250 especies herbáceas anuales, bienales o perennes, muy abundantes y muy comunes en la zona templada septentrional. Un carácter notable de esta familia (que existe también en otras como el higo) es la producción de un jugo (látex) lechoso o incoloro. Por ejemplo el opio se obtiene del látex del fruto verde de la adormidera. Como características esenciales de esta familia de las Papaveráceas tenemos que los dos o tres sépalos caen al abrirse la flor y los pétalos, generalmente de cuatro a seis, están arrugados en el capullo, los estambres son por lo general numerosos, dispuestos en varios verticilos, los carpelos son pocos o muchos, fundidos generalmente en un ovario compuesto con placentación parietal, el fruto es generalmente una cápsula dehiscente por poros o por valvas. En las amapolas (Papaver) el estigma se ensancha en un disco plano y se forman placentas grandes como prolongaciones de los bordes fusionados de los carpelos adyacentes. Estas placentas se extienden como láminas hacia el centro del ovario y llevan numerosos óvulos. A esta familia pertenecen también muchas plantas ornamentales de gran aprecio.

Papaver Somniferum Linn

Un ejemplo que no podemos omitir dentro de esta familia es sin duda el Papaver Somniferum Linn. La droga fue conocida desde tiempos muy remotos, pues tanto los Griegos como los Romanos - estaban familiarizados con ella y con la forma de recolectarla, la obtenían de la cápsula inmadura de la adormidera, los médicos de la escuela Arabe fueron probablemente quienes la introdujeron en la India y Europa. En su origen esta planta fue usada como medicina y se podría afirmar que la práctica de ingerir opio surgió quizá en Persia.

Los lugares donde se recolecta el opio lícito principalmente - son: Macedonia, Yugoslavia, Bulgaria, Turquía, Persia (Irán) - y la India.

La adormidera planta que se prefiere para el cultivo, no es - una raza pura sino un híbrido entre el Papaver Somniferum Var, album y una forma gris-violeta, por lo que los pétalos tienen color lila grisáceo pálido. Las plantas se cultivan en campos pequeños, en lugares soleados en las llanuras y los valles, y por lo general se cultiva de manera rotativa a fin de no agotar

las tierras con maíz, tabaco y otras cosechas. El ciclo de -
siembra de la adormidera es el siguiente: se siembran las se-
millas en tandas sucesivas desde septiembre hasta abril, para
evitar la pérdida de toda la cosecha a causa de heladas, se--
quías u otros accidentes, las semillas se siembran mezcladas
con tres o cuatro partes de arena. Las plantas se siembran -
con claros entre una y otra con el fin de que queden distancia
das unos 25 cms. Cada planta se ramifica cerca del suelo y al
canza una altura de 50 cms. a 1.5mt. según la estación. Flo-
recen durante fines de mayo y principios de junio, y entre ju-
nio y julio las cápsulas, que son de cinco a ocho en cada plan-
ta, alcanzan todo su desarrollo.

Mientras las cápsulas están todavía verdes o empiezan a tomar
un tinte amarillo, se hacen incisiones en su pared, con cuida-
do de no penetrar en el lóculo, de lo que resultaría una pérdi-
da de opio y también impediría que maduraran completamente las
semillas. Debe tenerse mucho cuidado en la elección del momen-
to de practicar las incisiones, con el fin de eliminar la pro-
babilidad de que el viento, las lluvias o incluso el rocío, me-
noscaben la exudación, la incisión corta la pared a través de
los vasos lactíferos y como estos vasos se ramifican y anasto-

mosan por todos los tejidos del floema de la pared de la cápsula, el látex de una área grande de cápsula exuda en gotitas a lo largo de los bordes de las incisiones y se seca parcialmente en el aire. Las incisiones se hacen por lo general en las primeras horas de la tarde y el látex exudado se raspa con un cuchillo, o con un instrumento especial, al día siguiente por la mañana temprano. El opio obtenido así se conocía antiguamente como "opio blando"; ahora se elabora un ejemplo en la fábrica del gobierno en Belgrado, pasándolo por un molino y se moldea en tortas planas oblongas, de 1.5 a 2.5 cm. de grosor, 18 a 20 cm. de largo y 6 a 7.5 cm. de ancho. Algunas veces se secan las tortas tal como están o se enrollan primero en hojas de adormidera y luego se secan con lentitud, para lo cual se disponen en bandejas de tela metálica colocadas en bastidores de madera y se exponen a una atmósfera caliente durante largo tiempo. Una vez acabadas las tortas pesan de ordinario de 160 a 225 gr. cada una; se empacan las tortas en cajones de 80 kg. de capacidad.

Composición química del opio

El opio contiene unos veinticinco alcaloides diferentes, se en

cuentran en combinación con el ácido mecónico del cual hay - presente en el opio alrededor del 5% y con el ácido sulfúrico. Otros constituyentes son: pequeñas cantidades de mucílago, almidón, en indicios cera, caucho y sales de calcio y de magnesio. Es útil observar que el opio no contiene almidón (excepto en - indicios muy pequeños), ni tanino, ácidos oxálicos o grasas. - Los alcaloides mas importantes del opio son en promedio: morfi na, del 10 al 20%; codeina (metilmorfina) el 0.3 al 4.0%; nar- cotina, 2 a 8%; tebaina, 0.2 a 0.5%. Los alcaloides narceina, papaverina y los restantes, se encuentran en cantidades muy pe- queñas y juntos constituyen mucho menos del 1% de la droga.

Utilización del opio

El opio frecuentemente se administra para aliviar el dolor y - calmar la excitación. También se usa como astringente en la - diarrea y la disentería y como sedante en ciertas formas de - tos, disnea, etc. Su acción es sustancialmente la de la morfi na. Todos los alcaloides importantes del opio tienen acción - narcótica que disminuye en el siguiente orden: morfina, papave- rina, codeina, narcotina y tebaina.

Por el contrario el opio para fumar se prepara, por lo general,

del opio indio, por digestión del opio en agua, ebullición y - evaporación del extracto acuoso, que a continuación se bate y tuesta cuidadosamente; este producto vuelve a extraerse con - agua y el líquido se evapora hasta quedar una substancia negra melosa llamada "chandú" o también "extracto de opio para fumar"; contiene alrededor de 8% de morfina. Las cenizas del - chandú se llaman "heces del opio". Estas heces, mezcladas - con las cenizas del "extracto de hez de opio" se hierven en agua para preparar una substancia conocida como "extracto de heces de opio" que se fuma y contiene alrededor de 7% de morfina. 9 /

2. DATOS HISTORICOS DEL PAPAVER BRACTEATUM

Aunque Lindley (1821) obtuvo esta planta específica exuberante, después se formularon preguntas botánicas y asume que hay una continúa semejanza entre Papaver Orientale y Papaver Bracteatum.

En 1824 Candolle, la nombra en el tratado taxonómico de la familia de las Papaveráceas incluyendo descripciones de 26 especies de Papaver.

En 1839 el *Papaver Bracteatum* es nombrado por Elkan en un tratado monográfico del género *Papaver* incluyendo morfología, división del género y descripción de las especies.

En 1867 Boissier describió varias especies de *Papaver*, entre ellas el *Papaver Bracteatum*.

En 1900, Vilmorin menciona los híbridos tempranos de *Papaver Bracteatum* y *Papaver Somniferum*.

En 1907, el francés Vuillemin, relacionó el número de pétalos y la frecuencia de tres pétalos tipo en el *Papaver Bracteatum*. El dice que el número de pétalos es de 2 a 6 con cuatro generalmente.

En 1920, Blaringhen, hace énfasis en la metamorfosis de los es tambres y carpelos, en el género *Papaver* y el tardío lanzamiento de *Papaver Bracteatum* que produce pequeñas anomalías florales en que los estambres son convertidos en carpelos. En 1926 menciona una planta perenial, fértil híbrido de adormidera *Papaver Lateritio-Bracteatum*.

En 1927, el italiano Pirovano menciona resultados de hibridación entre *Papaver Somniferum* y *Papaver Bracteatum*. La diversidad de la progenie puede ser influenciada por la madurez del ovario al tiempo de polinización.

En 1929, Kasaeva publica la hibridación experimental entre *Papaver Somniferum* y *Papaver Bracteatum*. El *Papaver Somniferum* polinizado por el *Papaver Bracteatum* dá 73% de éxito. En 1930 publica los híbridos obtenidos con *Papaver Bracteatum* como el polen donador pero no se obtienen con el *Papaver Somniferum* como polen donador.

En 1936, el italiano Negodi, estudió los pigmentos de flores - particularmente el tejido epidermal de varias papareváceas entre ellas el *Papaver Bracteatum* y en 1937 el número de cromosomas del género *Papaver*.

En 1948, Kiselev y Konovalova mencionan el aislamiento de cuatro bases fenólicas del *Papaver Bracteatum* (isotebaina, oripavina, bracteína y bractamina).

En 1963, Neubauer y Mothes mencionan un nuevo método para la -

obtención de morfina de una materia prima de la planta *Papaver Bracteatum*. La tebaína es el 98% del total de alcaloides del *Papaver Bracteatum* descapsulados de las plantas. 26/

En 1965 Cullen estableció que el *Papaver Bracteatum* y el *Papaver Orientale* "son extensamente cultivados en jardines botánicos ornamentales bajo el nombre de *Papaver Orientale*, cada -- transposición ocurre entre ellas". Este opio puede estar basado en reconocimiento genuino de *Papaver Bracteatum*. Gunter, en 1968 estableció que obtuvo varias muestras de jardines botánicos pero todos los casos de plantas fueron *Papaver Orientale*. En sólo cinco casos obtuvo *Papaver Bracteatum* genuino y es tuvo rotulado *Papaver Orientale*. El *Papaver Bracteatum* tiene características distintas que distinguen claramente el *Papaver Orientale* como confirman la mayoría de las reclamaciones, espe cialmente la diferencia en tricomas, calis, el color rojo púrpura de los pétalos, cuya estabilidad y funcionamiento de la - cromatografía son distintas a las de *Papaver Orientale*.

3. PAPEVER BRACTEATUM LINDL

El *Papaver Bracteatum* Lindl, es una planta perenial, especie -

de la familia de las papaveráceas, elabora tebaína, que se puede transformar en codeína mediante procesos químicos. En la actualidad la codeína se obtiene principalmente, mediante el proceso de metilación de la morfina derivada de la adormidera del opio y casi el 90% de la morfina, producida lícitamente se transforma en codeína.

Con la disminución general de la producción de opio en varios países y el aumento de la asistencia médica mundial podría producirse una escasez de codeína, por lo cual es conveniente disponer de otras fuentes para su producción. Es de esta manera como ha surgido el considerable interés que se expresa en el *Papaver Bracteatum* Lindl, como una posible fuente de tebaína, y así por conversión, de codeína (la codeína es el antitusivo reconocido mas ampliamente usado y es también extensamente usado como analgésico leve). Asimismo pueden obtenerse a partir de tebaina otras substancias útiles (naloxona, la hidrocodona y la oxicodona). 1/

Un proyecto de colaboración de investigación sobre la adormidera fue iniciado por el Laboratorio de Estupefacientes de las Naciones Unidas, en diciembre de 1972 se reunió en Ginebra con

apoyo financiero del fondo de las Naciones Unidas para la fiscalización del uso indebido de drogas, un grupo de trabajo com puesto por expertos en el Papaver Bracteatum. El grupo (Nº1) estudió los conocimientos existentes en esa esfera y elaboró - normas para investigaciones futuras con particular referencia a 1973 (segundo grupo de trabajo apoyado en Teheran).

El tercer grupo de trabajo fue convenido en Beltsville, Maryland, Estados Unidos de América, del 7 al 11 de octubre de - 1974 con el soporte financiero de las Naciones Unidas fundado para el control y abuso de drogas. El Departamento de Agricul tura de los Estados Unidos ofreció facilidades para el trabajo, continuado por cortesía de Mr. T.V. Edminster, Administrador - del Servicio de Agricultura de los Estados Unidos. Los trabajos del tercer grupo fueron abiertos por el Sr. L.N. Cavanaugh del Departamento de Estado de los Estados Unidos, quien dió la bienvenida al tercer grupo de trabajo señalando la importancia del esfuerzo de la investigación sobre el Papaver Bracteatum. El dijo "confiar al grupo es tan significativo especialmente, porque es una buena distribución del crédito por el presente - interés y promesa del Papaver Bracteatum, como una fuente alternante de materia prima para la codeína. Bajo el patrocinio

del Laboratorio de Narcóticos de las Naciones Unidas, al menos 15 países están cooperando en la investigación necesaria para evaluar esta planta y la utilidad de sus productos. Nosotros felicitamos al Laboratorio de Narcóticos de las Naciones Unidas por su papel como catalizador en este programa y deseamos expresar nuestra apreciación a cada uno de ustedes por su contribución al avance de la comunidad mundial por el conocimiento del *Papaver Bracteatum*".

El tercer grupo remuneró tributo a la memoria del profesor Celat Tariman de la Universidad de Ankara, quien murió en un accidente automovilístico en enero de 1974 y quien participó en los dos primeros grupos de trabajo sobre el *Papaver Bracteatum*.

En 1976 el abastecimiento mundial de codeína y su demanda, están balanceados aproximadamente, pero las existencias de reserva en algunos países son insuficientes para un año de mala cosecha. Mientras las necesidades médicas de codeína se incrementan año con año, es por esto que se ha reunido el cuarto grupo de trabajo de expertos llevado a cabo en Francia del 17 al 21 de mayo de 1976, con el soporte financiero del Fondo de las Naciones Unidas. Las facilidades para la reunión se han dado

en el "Station D'Amelioration des Plants" cerca de Rennes - con la cortesía del director, Dr. J. Morice. La reunión se abrió por el Sr. M. Rives, Jefe del Departamento de Mejoramiento de la planta del Instituto Nacional de Investigación Agrónoma de Francia quien dió la bienvenida al grupo y mencionó la importancia de la investigación llevada a cabo sobre el *Papaver Bracteatum*. El doctor J. Morice fue electo Presidente. El Dr. O.J. Braenden representó las Naciones Unidas y la señorita E.S. Lunsden fue la secretaria ejecutiva del grupo Núm. 4.

El *Papaver Bracteatum* se ha cultivado en varios países (Francia, Irán, Turquía, Estados Unidos) a fin de determinar las condiciones mas favorables para la producción de la planta con un alto rendimiento de tebaina debido a que se encontraba una variedad química que produce casi exclusivamente tebaina y otra que produce tebaina además de alpinigenina y en otros casos la oripavina estaba fundamentalmente asociada con la tebaina.

Se ha expresado considerable interés en la cosecha de la región de Mahabad, en el oeste de Irán. En esa región hay grandes zonas cubiertas por dicha adormidera cuyas cápsulas contienen un porcentaje extraordinariamente alto de tebaina. En vista de la

importancia de ese descubrimiento, se estimó que convendría - distinguir en la nomenclatura las muestras recogidas en las - montañas de Alborz de las procedentes de la región de Mahabad denominando a la primera "Arya I" y a la segunda "Arya II".

Plantas de esta especie de Papaver son fáciles de reproducir - vegetativamente, un corte de la raíz parece ser un buen método de propagación, ya que de una sólo planta se pueden obtener - aproximadamente 100 plantas mas.

Cultivos experimentales se hicieron en los Estados Unidos, en donde se cultiva bien la planta; asimismo investigaciones similares fueron hechas en Hungría, Noruega, siendo general el - acuerdo que las semillas de Irán produjeron los resultados mas prometedores.

Reproducciones por cortes de raíz se han llevado a cabo con - buenos resultados. En consideración del contenido de tebaina del Papaver Bracteatum, el rendimiento máximo se ha obtenido en plantas del Irán de algunos años de edad. La raíz contiene 1.7 - 2.1% de tebaina, considerando aquellas plantas cultiva- das por diez meses contienen 0.7%. Las cápsulas contienen -

0.85 a 1.1% y el tallo 0.2 a 0.3%. El látex contiene mas del 26% de tebaina y cerca del 2% de alpinigenina. El máximo contenido de tebaina producido de cápsulas en Francia fue 0.8% - representando 95 a 100% del total presente de alcaloides. En Estados Unidos de América, 1 a 3% fue obtenido en las cápsulas 0.6% en la raíz, 0.1% en las hojas y 0.2% en el tallo, hace poco en Noruega mas del 0.4% estuvo presente en la raíz y mas del 0.3% en las hojas. Se ha acordado generalmente que el contenido de tebaina en la raíz es similar al de las cápsulas.

| Parte de la planta | % de T e b a i n a | | | |
|--------------------|--------------------|---------|----------|---------|
| | O. N. U. | Francia | E. U. A. | Noruega |
| Raíz | 1.7 - 2.1 | - | 0.6 | 0.4 |
| Cápsulas | 0.85 - 1.1 | 0.8 | 1-3 | - |
| Tallo | 0.2 - 0.3 | - | 0.2 | - |
| Látex | 26 | - | - | - |
| Hojas | - | - | 0.1 | 0.3 |

Ciertas plantas de Papaver fueron encontradas en el norte de Irán conteniendo mezclas de tebaina con isotebaina o tebaina con algún otro alcaloide secundario. Estas plantas fueron consideradas como híbridos naturales de Papaver Bracteatum con Papaver Orientale y Papaver Pseudo-orientale.

Todavía se requiere investigación sobre la biosíntesis, traslocación y metabolismo de la tebaina, asimismo hay que estudiar la acción durante procesos biosintéticos y degradación. Aún es necesario hacer pruebas de alimentación en animales, - para determinar si el aceite de las semillas de *Papaver Bracteatum* es bueno para el hombre y/o animal.

Se ha reconocido la importancia de la evaluación de la planta en términos de tasa de tebaina por unidad de área y se ha dado consideración al espacio dentro y entre filas. Algunas localidades han reportado mejores resultados en términos de control de la maleza y rendimiento de cápsulas cuando la densidad de la planta es alta, pero se ha reconocido que el espacio óptimo puede variar de un sitio a otro dependiendo de unos factores tales como humedad, problemas de maleza, métodos de control de maleza y métodos de recolección (utilizados en la cosecha).

La siembra al voleo puede ser una simple aproximación a un establecimiento fijo, pero puede tener desventajas, particularmente en conexión con el control de maleza y el uso de herbicida y desventajas con el cultivo mecánico.

Algunos reportes indican que el Azulam (metil sulfanil carbamato) puede ser efectivo y usado propiamente. Los resultados de investigaciones sobre el uso del método de carbón activado en el que las filas semilladas son protegidas con una banda estrecha (5cm) de carbón activado después de aplicar el herbicida en forma general sobre la superficie entera del campo, el carbón desactiva al herbicida así que la planta joven aparece por el carbón activado no dañada, muestran claramente el potencial de este método para el establecimiento de semilleros de *Papaver Bracteatum* de sembrado directo. Este método se ha usado con otras especies pequeñas.

Hay algunos reportes sobre la aplicación de herbicida durante el período de descanso de la planta. Esto se puede hacer en el *Papaver Bracteatum*, efectivamente cuando no hay ningún período de crecimiento.

La naturaleza perenial del *Papaver Bracteatum* se ha discutido y varios reportes confirman que la vida productiva de esa planta es por lo menos de ocho años (este ha sido el período más largo de control de crecimiento del *Papaver Bracteatum*) En

efecto hay datos experimentales indicando que el rendimiento de tebaina por planta incrementa con la edad de la planta.

Se ha mencionado la posibilidad de usar semillas en listones de papel para facilitar la precisión en el escapamiento de la planta, y posiblemente mejorar el control de maleza y aplicación de fertilizante.

Respecto a las enfermedades de la planta ha habido reportes - sobre insectos que atacan varias partes de la planta de *Papaver Bracteatum*. Se ha reconocido a través de investigación - que algunos productos químicos pueden controlar algunas de estas molestias, pero el objetivo primario deber ser el desarrollo de variedades resistentes a la enfermedad e insectos - que al mismo tiempo puedan tener alto rendimiento de alcaloide.

La concentración de tebaina en cápsulas varía con el grado de madurez de la cápsula. Se ha aceptado que la concentración - máxima llega en dos a cuatro semanas después del florecimiento. Siguiendo este período de desarrollo, el porcentaje de tebaina disminuye hasta un poco antes de la madurez, cuando hay una -

acumulación adicional del alcaloide. Se ha reportado que una porción de tebaína en la cápsula está probablemente en forma atada en el período de post-floreCIMIENTO. Sin embargo, se ha mostrado, que la forma atada desaparece y se hace una parte - del total de la tebaína antes de la madurez de la cápsula. Se ha encontrado el ácido mecónico, pero probablemente no es la forma atada.

Se han presentado reportes sobre el progreso de la selección - de las poblaciones de Papaver Bracteatum con alto rendimiento de tebaína y otras características deseables. Los datos presentados muestran el rango de variabilidad genética dentro de las especies y las oportunidades de mejoramiento de la planta. Se ha reportado la identificación de las selecciones de plantas desde el Arya II con alto rendimiento de tebaína. En -- ciertas selecciones se han encontrado correlaciones positivas apreciables entre el tamaño de las cápsulas y el porcentaje - de tebaína. Una evidencia experimental indica que el contenido de tebaína tiene características que se pueden heredar. - También la magnitud de variación en el contenido de tebaína - de las cápsulas es mas grande entre las plantas que dentro de las plantas.

Se ha reportado que después de la décima generación, la tebaína tiene 0.1% de materia seca. Estas investigaciones incluyen el estudio de varios ritmos de cultivo de diferentes tipos de ambiente, el análisis de la actividad mitótica y de la relación dentro de la célula entre proliferación y biosíntesis.

Datos preliminares muestran que el C^{14} marcado, fenil alanina, tirosina, glicina y urea cuando se aplican en la cápsula, en la hoja y el tallo del *Papaver Bracteatum* se absorben y se usan parcialmente en la biosíntesis de alcaloides. Se ha encontrado la tebaína radioactiva primeramente en las cápsulas de las plantas tratadas cada una con los cuatro precursores. Hubo poca radioactividad presente en los extractos de raíz, del tallo, o de las hojas. No se han encontrado compuestos radioactivos en la raíz.

Se efectuó un estudio piloto con 3.1 toneladas de cápsulas de Arya II para determinar la posibilidad de extracción comercial de la Tebaína del *Papaver Bracteatum* y no se han encontrado dificultades. El aceite y el contenido de las semillas de un estudio piloto a gran escala (diez toneladas) se están evaluando para sus valores alimenticio e industrial.

El cuarto grupo de investigación de las Naciones Unidas (1976) marca como investigaciones deseables para el futuro las siguientes:

- Control de maleza, molestias y enfermedades
- Requerimiento de crecimiento de la planta (por ejemplo: nutrición, agua, foto-período, termo-período).
- Prácticas de cosecha (con referencia especial en gran escala)
- Estudios pilotos para determinar tecnologías necesarias para la producción comercial (un estudio preliminar ha indicado que esta tecnología puede ser compleja)
- Producción y selección
- Estudios morfológicos y anatómicos relacionados con la biosíntesis, traslocación y metabolismo de tebaína.

El grupo está de acuerdo que será deseable si el Laboratorio de Narcóticos de las Naciones Unidas continúa su papel de liderazgo en la coordinación de la investigación del *Papaver Bracteatum* y que tiene que determinar cómo esta coordinación puede ser mas efectivamente llevada en el futuro. 24 /

Los periódicos norteamericanos publicaron en octubre de 1977 la entrevista hecha al Director del Programa de Narcóticos del Servicio de Investigación de la Agricultura, mencionando que - actualmente se está trabajando sobre el *Papaver Bracteatum* que no producirá fácilmente materia prima para la heroína (puesto que no produce morfina), aunque su producción comercial está prohibida y que los productos de la adormidera pueden ser convertidos en heroína "sólamente con considerable dificultad"

4. DERIVADOS DEL PAPAVER BRACTEATUM

TEBAINA. La tebaina toma su nombre de la ciudad egipcia de - Tebas, donde se producía cierto tipo de opio. En dosis suficiente, origina convulsiones semejantes a las que produce la estricnina y debe clasificarse entre los estimulantes centrales. Es poco hipnoanalgésica y muy convulsivante (convulsiones tónicas de tipo estrícnico) y no se utiliza clínicamente.

12 /

CODEINA. La codeína es la metilmorfina, habiéndose reemplazado el hidrógeno del OH fenólico por un metilo. Puede considerarse como una morfina debilitada que no causa efecto -

narcótico proporcional al aumento de la dosis. En realidad dosis altas de codeína provocan excitación no depresión. La potencia analgésica de la codeína es menos de un sexto de la de la morfina. Si 60mg. de codeína no alivian el dolor, rara vez lo logran dosis mas altas, y es fácil que causen intranquilidad y excitación. La capacidad de la codeína de causar depresión subjetiva y respiratoria es sólo un cuarto de la de la morfina; no se han registrado casos de muerte ni de depresión respiratoria grave con dosis altas de alcaloide. Es difícil determinar la dosis mortal para el hombre. Las nauseas, los vómitos, el estreñimiento y la miosis que causa una dosis dada de codeína son menores que los producidos por la cuarta parte de morfina.

Los resultados de estudios con codeína radioactiva con C^{14} en el metoxilo han esclarecido considerablemente el destino metabólico y la eliminación de la substancia. En cierto grado, la codeína es desmetilada en vivo por el hígado, oxidándose el metoxilo marcado, que se transforma en $C^{14}O_2$, gas carbónico que se elimina por el pulmón; de esta manera parte de la codeína - se transforma en morfina. En el hombre, una parte de la codeína también se conjuga en el organismo, la orina contiene formas libres y conjugada de codeína, norcodeina y morfina. Algo

de codeína se excreta inalterada en el intestino y en la bilis se encuentra un metabolito inactivo de la substancia formado por el hígado.

A cada uno de los grupos oxhidrúlicos de la morfina y sus derivados se les ha llegado a asignar propiedades farmacológicas - definidas. Cuando se enmascara el OH fenólico, como sucede en la codeína, disminuyen las acciones analgésicas, depresora de la respiración y espasmódica intestinal, pero aumentan los - efectos estimulantes sobre el sistema nervioso central. Por - lo tanto, la codeína y la tebaina son mucho menos narcóticos que la morfina y en grandes dosis producen convulsiones sobre todo en ciertas especies animales, susceptibles al estímulo de la morfina y sus derivados.

La codeína crea tolerancia y vicio. Los síntomas de abstinencia pueden ser tan graves como con la morfina. Rara vez emplean codeína los toxicómanos porque no produce el grado de - euforia esperado. Las grandes dosis necesarias hacen difícil y caro el tráfico ilegal. Conviene insistir en que la codeína causa dependencia y la opinión de que el alcaloide es benigno en este aspecto carece de fundamento. 10/

C A P I T U L O I I

CARACTERISTICAS DEL PAPAVER BRACTEATUM

CARACTERISTICAS DEL PAPAVER BRACTEATUM

5. Generalidades del Papaver Bracteatum

El Papaver Bracteatum es originario del Irán, donde se cultiva en vastas áreas sobre las costas del mar Caspio, en las montañas rocosas de Alborz al norte de Irán, a altitudes entre 1500 y 2500 mt. sobre el nivel del mar. Son buenas plantas que producen casi exclusivamente tebaina en alto rendimiento (con grandes cápsulas), cuyas semillas se han utilizado para el cultivo. Las adormideras silvestres anuales tienen una altura de 82cm. a 1.15mt. en lugares asoleados y florecen en junio. Estas flores miden 12.5 a 17.5cm. de diámetro y son de color escarlata, el pigmento de los pétalos produce unas características patrones después de una apropiada cromatografía.

El aceite que contienen las semillas de Papaver Bracteatum es cualitativamente semejante al obtenido de las semillas de Papaver Somniferum y son consumidas por los habitantes de las regiones montañosas del Irán.

Las condiciones climatológicas mas adecuadas para el cultivo

del *Papaver Bracteatum* sugieren que la intensa luz del sol es importante y las condiciones de la tierra parecen tener marca da influencia en el contenido de tebaina.

La cosecha de las plantas cultivadas es ligera durante el primer año y en general, las cápsulas aparecen durante el segundo año.

El *Papaver Bracteatum* es relativamente uniforme en sus caracteres importantes taxonómicos y es identificado por su fuerte estado, usualmente algunas bracteas florales notables, pétalos manchados, rojos oscuros y antes del florecimiento por su recto botón oblongo, apesado, base ancha, cerdas en el cáliz el número de cromosomas =14. La longitud del estoma y el diámetro del polen son también característicos para el *Papaver Bracteatum*. El alcaloide principal es la tebaina, en algunas poblaciones la alpinigenina está presente en pequeñas cantidades.

La germinación máxima ocurre con temperaturas constantes de -10 a 25° centígrados, siendo el mejor rango de temperatura entre 15 y 25 grados. Temperaturas de -10 grados o menores (sin

cubrimientos de nieve) y desde +40 centígrados o mas, han destruido las plantas, pero las plantas jóvenes se pueden - proteger por cubrimientos especiales.

Las plantas jóvenes crecen bien en tierras de arcilla, arci lla-barro y de barro solamente, pero crecen mal en tierras arenosas o en tierras con altas cantidades de materia orgá- nica. Las plantas jóvenes emergen bien de profundidades de tierra de 0.5mt. o menos. El abono de las tierras (paja y - estiércol) es bueno para prevenir el daño de desecación.

La germinación dá buenos resultados en un pH de 5.1-10. El pH de las tierras no es muy importante, pero las sales que afectan el pH sí lo son, se ha notado que las sales de so- dio inhiben la germinación.

Las siembras directas en el campo son prósperas. La germinaci ón continúa en el campo durante la temporada de crecimien to. Las raíces de las plantas de siembra directa crecen a - una profundidad mayor de 60 cm. durante la primera tempora- da de crecimiento. También las plantas trasplantadas de cu a tro semanas son fácilmente logradas y un poco mas grandes -

que las plantas de siembra directa en el final de la temporada de crecimiento.

La información sobre la reproducción vegetativa del *Papaver Bracteatum* se ha sentido innecesaria en el crecimiento comercial de la planta, por lo fácil de la siembra directa, la trasplantación de la siembra en el campo y la uniformidad del alto rendimiento de tebaina.

Los requerimientos de irrigación del *Papaver Bracteatum* varían con el tipo de tierra, cantidad de viento y temperatura. Se ha notado que después que las plantas son establecidas, los requerimientos de agua son bajos comparados con otras plantas por la razón que el *Papaver Bracteatum* deriva humedad de unas capas de tierra mas profundas.

Los requerimientos de auto-polinización han sido prósperos en algunas áreas pero no hay todavía resultados satisfactorios.

El control de masivos ha sido un problema, particularmente - por la misma maleza. El *Azulam* puede ser un herbicida efectivo para el control de la maleza en el *Papaver Somniferum* y

algunos estudios han mostrado que también puede serlo para el *Papaver Bracteatum*, un herbicida prometiente, el glifosfato - se ha probado para el control de la maleza en el *Papaver Bracteatum*, pero es necesario aún evaluar un amplio rango de herbicidas bajo muchas condiciones diferentes. Los efectos de los herbicidas sobre el alcaloide del *Papaver Bracteatum* se tienen que determinar.

En cultivos experimentales, se ha encontrado que en algunas localidades, el *Papaver Bracteatum* es susceptible a las enfermedades de plantas y al daño por insectos, pero estos problemas requieren aún mas estudio.

Se requieren investigaciones para determinar el tiempo y métodos adecuados para la cosecha. Se ha visto que la cosecha en el tiempo de contenido máximo de tebaina en las cápsulas, no es el mas económico, puede ser mas económico cosechar después de la madurez completa de las semillas y así se eliminan los costos de secar y se reciben semillas de mas alta calidad; ya que se han realizado estudios de métodos de plantación ya sea por:

- a) Siembra directa o trasplantes de siembra, o

- b) Reproducción vegetativa por cortes (secciones longitudinales o secciones transversales de la raíz) y la importancia de la semilla de alta calidad con buena tasa de germinación es reconocida como un componente esencial del establecimiento de la planta.

El contenido de tebaina en varios órganos de las plantas de *Papaver Bracteatum* que crecieron de semillas iranianas u otras en varios países (1974 Australia, La República Democrática Alemana, Francia, Hungría, India, Irán, Irlanda, Israel, Japón Holanda, Noruega, Polonia, Suiza, Inglaterra, Estados Unidos de América y Yugoslavia) fueron determinados: raíces 0.17-0.69% tallo 0.3-1.0%, hojas 0.099-0.45%, pétalos 0.85-1.15% bracteas 2.12%, estigmas 0.55-0.75%, cápsulas 0.3-5.8%. También hubo una variación considerable de una planta a otra y entre clases se ha notado que el material Arya II dió valores mas altos del contenido de tebaina en varias partes de la planta.

En la paja del *Papaver Bracteatum*, el contenido de tebaina permanece constante en largos períodos de almacenamiento.

La estructura laticífera articulada o célula de látex en el -

Papaver Somniferum es similar a las que se han encontrado en el *Papaver Bracteatum*. La célula de látex contiene numerosas vesículas, organelos, ribosomas y núcleos singulares. Cuando estas células maduracen, se desarrollan unas áreas delgadas - en las paredes de las células contiguas. Estas áreas delgadas se perforan así que las células están interconectadas y - eventualmente cuando más y más células son conectadas forman un sistema de anastomosis de vasija de látex. Ellas se derivan desde el retículo endoplásmico y usualmente desarrollan un área delgada antes de la perforación de las células de látex. Las vesículas representan el componente principal del látex - exudado. No se sabe todavía si los alcaloides son sintetizados dentro de la vesícula, sobre la membrana vesicular, dentro del vaso o en otro lugar en la célula de látex.

6. Comparación de las características botánicas del Papaver -
Bracteatum y el Papaver Somniferum

| <u>Papaver Bracteatum</u> | <u>Papaver Somniferum</u> |
|---|--|
| a) Planta robusta de inclinación relativamente seca, se cultiva a altitudes de 1500 a 2500 mts. de altura. | a) Planta que se cultiva a una altitud de 2000 Mts. en las regiones tropicales. |
| b) Raíz principal y ramificada. | b) Raíz principal y ramificada. |
| c) Tallo de 60-120 cms. de altura, dicho apreado cerdoso. | c) Tallo poco cerdoso de 50 cms. a 1.50 Mts. de altura. |
| d) Hojas caulíferas en número de 5-7 en la cima, sobre la parte superior del tercio del tallo, de 45cm. de longitud, pinadas dentadas a bidentadas. | d) Hojas alternas de color verde intenso abrazadoras e irregularmente dentadas. |
| | e) Flores grandes y vistosas, - solitarias en número de 5 a 8, botones inclinados. |
| | f) Bracteadas, generalmente ausentes. |

Papaver Bracteatum

- e) Flores en número de 1-20 los botones no inclinados oblongos u ovoides, las orillas estrechamente paralelas, el ápice truncado; pedúnculo 3-4mm. de espesor.
- f) Bracteas 5-8, en su mayor parte semejantes al cáliz, 1-5cm. de longitud completamente dentadas lobuladas.
- g) Cáliz, sépalos peludos apresados, cónicos, algunos triangulados en la base, en número de 3.
- h) Pétalos generalmente 6, (pueden ser 5) de 10cms. de longitud.

Papaver Somniferum

- g) Cáliz. Sépalos grandes en número de 2.
- h) Pétalos. En número de 4 coloreados.
- i) Pétalos. En color variable desde el rosa pálido, blanco, hasta rosa, púrpura (4).
- j) Filamentos. Numerosos. Polen de 20 a 32 μ .
- k) Cápsulas. Miden generalmente de 3 a 4 cms. de diámetro aunque son de tamaño variable, de forma ovoide o globulares, achatadas del ápice; rayos de 7 a 15.

Papaver Bracteatum

- i) Pétalos escarlata, con manchas negras (1 ó 2) longitudinales cerca de la base, secos, rojo - obscuro, púrpura profundo.
- j) Filamentos de 1.5cm. de longitud, anteras lineales, púrpura, 2.8-5.5mm. de longitud, polen de 24-27 micras de diámetro.
- k) Cápsulas de 0.5-3.0 cms. de longitud, 1-4cm. de ancho, la coronilla convexa, plana u cóncava, - no cambia con la edad, - rayos 10-24, en presencia de agudos.

Papaver Somniferum

- l) Planta joven, hojas en roseta.
- m) Presenta principalmente: morfina, codeína, narcotina, tebaina.
- n) Composición de semillas:
- Acido graso:
- | | |
|-------------------|-------|
| - Acido palmítico | 4.8% |
| - Acido esteárico | 2.8% |
| - Acido oleico | 30.1% |
| - Acido linoleico | 62.2% |

Papaver Bracteatum

- l) Planta joven, hojas en roseta en su mayoría - divididas cerradas, peludas, en menor grado cubiertas de una pelusa blanca azulosa.
- m) Presenta tebaina, varios alcaloides secundarios - indiferentes; frecuente alpinigenina. 15/
- n) Composición de semillas
(en promedio)
- Contenido de aceite: 39.9%
- Acidos grasos:
- | | |
|----------------------------|-------|
| - Acido palmítico | 7.6% |
| - Acido palmito- oleico | 0.37% |
| - Acido esteárico | 2.5% |
| - Acido oleico | 11.0% |
| - Acido linoleico | 77.9% |
| - Acido araquídico | 0.6% |

Papaver Somniferum

7.- Principales Diferencias Botánicas entre el Papaver Bracteatum y el Papaver Somniferum.

| PAPAVER BRACTEATUM | PAPAVER SOMNIFERUM |
|--|---|
| a) Planta robusta | a) Planta inclinada |
| b) Tallo cerdoso | b) Tallo poco cerdoso |
| c) Hojas en la cima sobre la parte superior del tercio del tallo | c) Hojas alternas abrazadoras |
| d) Botones rectos | d) Botones inclinados |
| e) Bracteas 5-8 | e) Bracteas ausentes |
| f) Pétalos (5-6) | f) Pétalos (4) |
| g) Pétalos escarlata con manchas negras (1 ó 2) longitudinales cerca de la base. | g) Pétalos de color variable (rosa pálido, blanco, <u>pú</u> <u>ra</u>) |
| h) Presenta <u>tebaina</u> principalmente, <u>alpinigenina</u> . No presenta morfina. | h) Presenta morfina <u>principal</u> <u>mente</u> , codeína, narcotina, tebaina. |



Papaver Somniferum



8. Características Botánicas del Papaver Orientale

- a) Plantas delgadas: de inclinación húmeda o alpina - 188°3000mt.

- b) Tallo de 40-100cm. de altura, extendido cerdoso-belloso en la parte inferior; dicho apresado, hojas - de 35 cm. de longitud laceradas (despedazadas) superficialmente pinadas, dentadas.

- c) Hojas caulíferas 2-3, dichas raramente, entremetidas del tallo.

- d) Poros estomáticos 32-45 microns de longitud.
- e) Flores 1-4, botones inclinados planos de la parte superior, las orillas no paralelas, redondos, pedúnculos 2-3mm. de espesor.
- f) Bracteas ausentes generalmente, pedúnculos libres de hojas por alguna distancia.
- g) Sépalos peludos desarrollados, cilíndricos, redondos de la base.
- h) Pétalos generalmente 4 de 9cm. de longitud, sépalos 2.
- i) Pétalos naranja pálidos sin manchas, secos café rosado pálido.
- j) Filamentos de 1cm. de longitud, anteras oblongas, amarillas a violetas, 1.8-3mm. de longitud, polen 26-29 microns de diámetro.
- k) Cápsulas 0.5-2.0cm. de longitud, comenzando convexas,

haciéndose planas con la edad: rayos 8-15, en presencia de obtusos.

l) Plantas jóvenes, hojas en roseta menos divididas, cerradas y peludas en su mayoría cubiertas de pelusa blanca y azulosa.

m) Número de cromosomas 28.

n) La tebaina, si no es que siempre, está ausente, oripavina frecuentemente dominante, con isotebaina secundariamente.

9. Características Botánicas del Papaver Pseudo-Orientale

a) Plantas robustas a lo largo de la orilla de ríos, filtrados o áreas aluviales 1500 a 2000 Mt.

b) Tallo de 90 cm. de longitud, algunos con regular cantidad de pelos, hojas de 45 cm. de longitud pinadas dentadas.

c) Hojas caulíferas 5-6 en la cima, sobre la parte superior del tercio del tallo.

- d) Poros estomáticos 43-60 micras de longitud.
- e) Flores 1-10; el botón recto o inclinado, ovoide como el *Bracteatum*.
- f) Bracteas 0-4, completamente dentadas.
- g) Sépalos peludos delgados y desarrollados como en *Papaver Orientale*.
- h) Pétalos 4-6, sépalos 2-3.
- i) Pétalos naranja-escarlata, con manchas negras rectangulares (a veces inadvertidas), secos son purpurino a café rosado.
- j) Filamentos de 1.3cm. de longitud; anteras lineales, púrpura, 1.7 a 3.5mm. de longitud; polen 27-31 micras de diámetro.
- k) Cápsulas 0.5-2.5cm. de longitud, la coronilla plana, rayos 9-19.

- l) Planta joven hojas en roseta muy semejantes al Papaver - Bracteatum, peludas, pero no cubiertas por pelusa blanca azulosa.
 - m) Número de cromosomas 42.
 - n) Presenta isotebaina, trazas de tebaina y otros alcaloides.
10. Características Botánicas del Papaver Bracteatum, Comparación con el Papaver Orientale.

Las plantas fueron distinguidas de Papaver Orientale por las siguientes características.

- a) Forma del botón: Oval en contraste a la forma redonda - en Papaver Orientale.
- b) Bracteas: Los botones florales están siempre estrechamente envueltos por 5 a 8 bracteas sobrepuestas con bordes toscamente dentados: una por lo menos de las bracteas - persiste después que sépalos, pétalos y estambres han sido desprendidos. El botón de Papaver Orientale, en con-

traste es usualmente desnudo, siendo proporcionada la protección por el cáliz peludo.

c) Cáliz: cubierto con toscos y estrechamente apresados tricomas: en Papaver Orientale los pelos son escasos y mas - rectos.

d) Pétalos: Lindley (1821) reportó cinco pétalos libres: en este experimento se encontraron presente normalmente seis (ocasionalmente cinco); ellos son rojo intenso con una o dos prominentes manchas negras en la base. Se confirmó que el pigmento de los pétalos puede ser distinguido de aquél de Papaver Orientale por cromatografía y que es - sorprendentemente estable, en contraste al de los pétalos de Papaver Orientale que rápidamente se decolora.

11. Identificación de Papaver Bracteatum y Otras Especies de Papaver por la Impresión de la Epidermis de la Hoja.

Aunque el Papaver, el que es asignado Papaver Bracteatum, es el mismo, difiere en el género, la identificación de las especies es difícil. Con el incremento de la importancia del Papaver -

Bracteatum como una planta de potencial cosecha y sujeto experimental, la identificación del material de las plantas jóvenes es necesaria en prevención considerable de no malgastar el tiempo y esfuerzos en cultivar especies innecesarias.

Como un resultado de un estudio taxonómico hecho por el Servicio de Investigación de Agricultura de los Estados Unidos, el Departamento de Agricultura, ha incluido datos citológicos, la sistemática de la Sección es ahora mejor conocida. Los resultados de estos estudios (Goldblatt 1974) han indicado la existencia de tres especies distintas, cada una química y citológicamente, como también morfológicamente diferentes.

Las tres especies son: *Papaver Orientale* L. Número de cromosomas 28; *Papaver Bracteatum* Lindl, Núm. de cromosomas 14 y *Papaver Orientale* (Fedde), Núm. de cromosomas 42. De los tres sólo el *Papaver Bracteatum* contiene cantidades apreciables de tebaina, las otras dos tienen el alcaloide sólo o en combinación con cantidades pequeñas de alpinigenina.

La diferencia en el número de cromosomas uniformes entre las tres especies es lo que primeramente ha hecho posible su dis-

tinción desde la etapa de planta joven hacia adelante. Las plantas jóvenes son en efecto también morfológicamente diferentes, no obstante, no son fácilmente reconocidas excepto por un ojo muy adiestrado y la identificación sobre morfología externa de las plantas jóvenes no es práctica. Como quiera que sea las especies pueden ser determinadas no solamente por examen citológico directo, sino también por la medida de las células en las hojas. El rasgo más radical observado y medido es el estoma, el poro es encontrado en la epidermis de la planta y en las hojas de *Papaver Bracteatum* sobre la superficie inferior.

Método.

Al examinar la epidermis rápidamente una impresión en celofán es hecha de la hoja y examinada bajo un microscopio compuesto. Hay varios métodos para producir la impresión epidermal, pero el más conveniente para el *Papaver* ha sido el descrito por Payne (1970), que consiste en utilizar un corte de película de acetato de celulosa (0.0025-0.005 pulgadas de grosor), es usado, dividido en piezas de aproximadamente 2 pulgadas a lo largo y a lo ancho suficiente para cubrir una pequeña porción de hoja suelta. La porción de hoja es primero puesta por la superficie sospechosa principal sobre una superficie lisa de

vidrio (portaobjetos), empapado con acetona y entonces el acetato de celulosa cortado es puesto encima de la hoja y también humedecido con acetona. Una parte de la película es fijada con cinta scotch al portaobjetos.

Sólamente cuando la acetona se ha evaporado podemos quitar la hoja, y el otro extremo del corte fijado al portaobjetos, la formación de la impresión del resultado se apoya tan plano - como sea posible pero teniendo cuidado de no estirarla.

Resultados.

El examen de muchas plantas y numerosas colecciones silvestres de Irán y Turquía han mostrado que la célula epidermal y la medida del estoma están directamente relacionadas al número de cromosomas. Por lo que, el *Papaver Bracteatum* tiene la célula mas pequeña y el estoma por poco tiempo. El *Papaver Pseudo Oriental* tiene la célula mas grande. En vista de que el estoma es de una forma regular en contraste a las células epidermales envueltas que tienen muchos bordes sinuosos, el estoma es mas conveniente para medir y comparar, estas plantas, si medimos 25 estomas y las promediamos, el total tiene resultado invariable en la colocación de plantas jóvenes en sus especies correctas.

| Especie | Núm. de - cromosomas | Rango y longitud promedio del estoma | |
|------------------------------|-------------------------|---|----|
| Papaver Bracteatum | 14 | 20-32 | 26 |
| Papaver Orientale | 28 | 32-45 | 36 |
| Papaver Pseudo- Orientale | 42 | 43-60 | 50 |

Tabla I. Rango y longitud promedio del estoma en Papaver.

Conclusión.

Las plantas jóvenes de las tres especies reconocidas difieren en su número de cromosomas. Un gran número de plantas pueden acordadamente ser identificadas en todas las etapas de su desarrollo de plantas jóvenes o avanzadas por examen directo citológico y - determinación del número de cromosomas o por medición del tamaño de células epidermales particularmente del estoma.

Desde hace tiempo la determinación del número de cromosomas se ha hecho relativamente fácil en Papaver por medio de puntos mitóticos de las raíces, el método es tan rápido y puede fácilmente ser -

dado por una citológica práctica con un buen equipo citológico de laboratorio. Las células epidermales pueden fácilmente ser medidas con un pequeño equipo de portaobjetos, película de acetato de celulosa y un microscopio compuesto con un lente objetivo de 40X. 13/

C A P I T U L O I I I

CONVERSION DE TEBAINA EN CODEINA

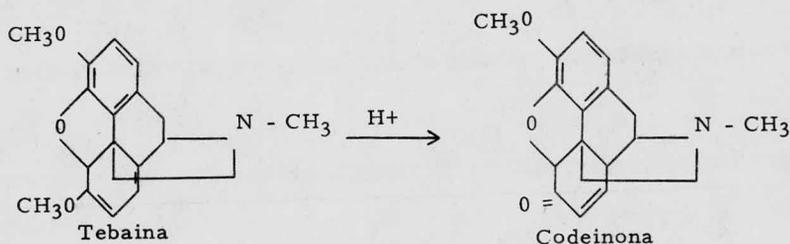
12. Conversión de Tebaina en Codeína

La necesidad de convertir la tebaina en codeína surgió por primera vez en la investigación para encontrar caminos de provecho al uso de la tebaina. El reciente descubrimiento de una adormidera de tebaina, el *Papaver Bracteatum*, ha enfocado más la necesidad para este tipo de proceso. Desde el principio fue lógico asumir que el producto involucra la codeinona como intermediario.

En el principio de este siglo, Knorr y Horlein observaron que la tebaina cuando es tratada con ácido sulfúrico diluido, produce una alta mezcla compleja, de la que es posible aislar la codeinona con un rendimiento muy bajo (figura I).

Figura I

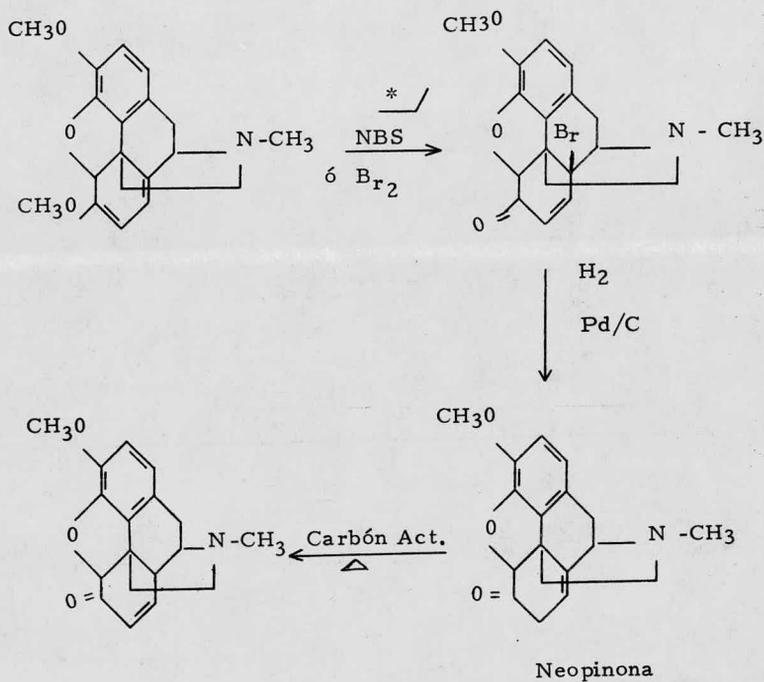
Este descubrimiento fue de gran importancia teórica porque - dió luz a las relaciones entre los alcaloides del opio; pero su valor práctico fue nulo por los bajos rendimientos y el - aislamiento difícil.



También el primer método práctico para la reducción de la codeína a codeína fue elaborado hasta los años de 1950.

Un gran progreso en la conversión de tebaina a codeína fue lo grado en el trabajo de Conroy (figura 2)

Figura 2

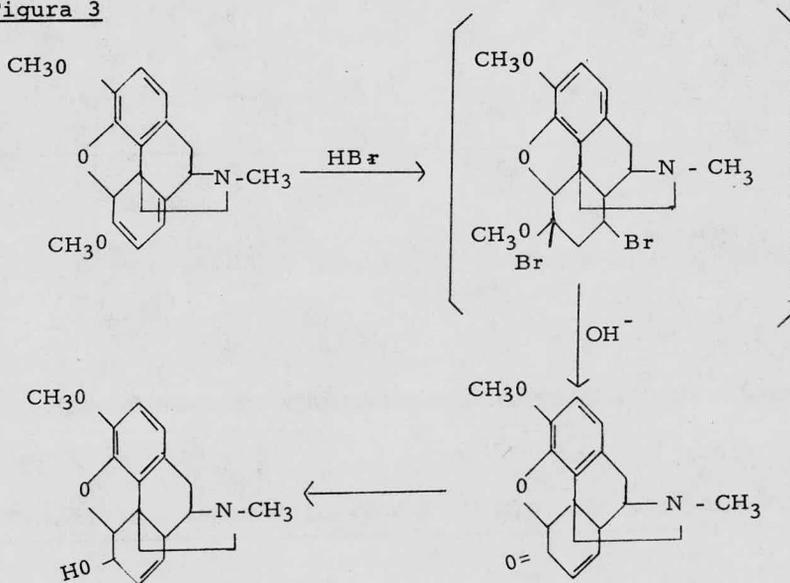


* N-Bromosuccinamida

Conroy ha descubierto un método limpio de convertir la tebaina en 14-bromocodeinona, esta sustancia cuando está sujeta a hidrogenación catalítica se convierte en neopinona, que es isomé rica por sí misma bajo varias condiciones en el conjugado ceto na, codeinona. El rendimiento total es de 37% aproximadamente. Sin embargo la extensión de este método para conseguir mas altos rendimientos fue frustrante.

Las reflexiones de Francois Krausz sobre el desarrollo de la química de la tebaina ha conducido, en los principios de los años sesentas (1960), a elaborar un método extraordinariamente simple para convertir la tebaina a codeinona (figura 3).

Figura 3



Cuando se trata con un ácido hidrobromico en un medio anhidro, la tebaina, después de la hidrólisis, produce codeinona en un solo paso (el producto intermediario, mostrado entre paréntesis no es aislado) con rendimientos muy satisfactorios y puros. Después que la codeinona ha sido reducida a codeína, el rendimiento total de la conversión de tebaina en codeína es del orden de 70%.

Recientemente se ha encontrado un método ingenioso para convertir la tebaina en codeína, sin embargo, en vista de la complejidad relativa de las operaciones y el costo de algunas materias primas se cree que la conversión por el proceso esbozado anteriormente es el mas adecuado y económico. 23 /

C A P I T U L O I V

EXPERIMENTO EN PAPAVER BRACTEATUM LINDL

13. Experimento de Incorporación de Substancias Activas como Precursoras en la Biosíntesis de Alcaloides del Papaver Bracteatum Lindl

El estudio que se narra a continuación forma parte del programa Internacional de Investigación organizada por el Laboratorio de Estupefacientes de la Organización de las Naciones Unidas pedido por la Comisión de Estupefacientes. Este programa está destinado a incrementar el rendimiento de alcaloides fenantrénicos por unidad de superficie cultivada, a fin de facilitar el control y asegurar un aprovechamiento suficiente en codeína para las necesidades médicas.

Uno sabe desde hace varios años qué especies o variedades de hongos Penicillium pueden fijar los precursores y que el rendimiento en penicilina aumenta ya que los precursores apropiados son adicionados al medio de crecimiento. En consecuencia, ha sido demostrado que los herbicidas del tipo hormonal pueden penetrar en las partes aéreas de plantas ya que están pulverizados en soluciones en los campos. Estas observaciones han llevado a investigar si el mismo principio podría ser aplicado a la introducción, en las plantas productoras de alcaloides

de compuestos nitrosos, tales como los aminoácidos disueltos - en un agente de superficie. Se supone que si tal caso ocurriera, los compuestos deberían participar en el metabolismo de - las plantas y actuar como precursoras en la biosíntesis de al- caloides.

Los precursores escogidos para el estudio serían la fenilalanina, la tirosina, la glicina y la urea y todos serían uniformemente marcados con C¹⁴. Los experimentos han sido efectuados sobre el *Papaver Bracteatum* Lindl. (Arya II). La superficie de las plantas ha sido expuesta durante un cierto tiempo a - los precursores. En seguida, después de haber sumergido las plantas a una extracción con la ayuda de una solución etanólica de amoniaco, se separó por cromatografía sobre placa delgada y localizó por radiografía los compuestos radioactivos de bajo peso molecular. La radioactividad de los precursores no convertidos, los metabolitos radioactivos y la tebaina radioactiva han sido medidos con la ayuda de un detector de cente- llación líquida y los resultados han sido presentados en un - diagrama (Tabla I).

14. Modo de Operar

Material. Se ha utilizado para el experimento el Papaver Bracteatum Lindl. (Arya II) cultivado en el Jardín Botánico de la Universidad de Oslo, Tyen, a partir de semillas donadas por M.O.J. Braenden, Jefe del Laboratorio de Estupefacientes de la Organización de las Naciones Unidas, Ginebra. Al principio de los experimentos, las plantas habían perdido sus pétalos, pero sus cápsulas estaban todavía frescas y verdes. (Figura 1 y 2).

15. Precursores Marcados

Se utilizaron como precursores, uniformemente marcados con C^{14} , los clorhidratos de L-fenilalanina, L-tirosina, L-glicina y la urea, donados por New Englan Nuclear. Antes de ser utilizadas las soluciones de aminoácidos fueron neutralizadas con bicarbonato de sodio, liofilizadas y disueltas en 1.5ml. de una solución al 1% del agente de superficie (MON 0011, Monsanto Company St. Louis, Miss., Estados Unidos de América), amablemente donados por M. Kare Lund-Hye, Universidad agrícola de Noruega, As. La urea fue desprovista del etanol por evaporación, enseguida disuelta en 1ml. de la misma solución de agente de superficie - que se describió.

16. Aplicación de los Precursores Marcados

Cada uno de los precursores marcados fue aplicado a distintas plantas. Las soluciones de fenilalanina, tirosina y urea, fueron aplicadas sobre la parte superior del tallo y sobre las cuatro hojas superiores. En cuanto a la glicina fue aplicada sobre la cápsula. Después la aplicación de precursores y para impedir que éstos sean llevados por el agua de la lluvia, las plantas fueron cubiertas por bolsas de plástico cortadas de las esquinas con el fin de evitar que el agua se condense en el interior (Figura 2). Se dejó efectuar la fotosíntesis del 8 de agosto al 3 de septiembre de 1975. Durante este período el tiempo fue cálido y asoleado en la región de Oslo e hizo falta entonces rociar cuidadosamente las plantas en varias ocasiones, después de la recolecta, la radioactividad de las plantas fue detectada con la ayuda de un contador Geiger-Muller "Nardeux". La presencia de las sustancias radioactivas fue observada en todas las partes de la planta, salvo en las raíces. Se procedió al análisis de la retención en sustancias radioactivas de las partes siguientes: cápsula, tallo, hojas y partes intermedias entre las raíces y el tallo.

Extracción. La cápsula entera, las partes del tallo, las hojas y la parte intermedia entre las raíces y el tallo de cuatro plantas tratadas fueron sometidas separadamente a una extracción, hecha a cerca de 70°C. con la ayuda de una solución etanólica de amoniaco (5%). Después de filtrarla y concentrarla, se procedió a la cromatografía en placa delgada de los extractos con los solventes 1 y 2.

Placas de cromatografía Polygram Sil G/UV 254 de Macherey-Nagel & Company (20 x 20 cm). Los compuestos fueron observados a la luz ultravioleta.

La cromatografía sobre placas delgadas fue hecha con los siguientes solventes recientemente preparados:

1. Tolueno: acetona, etanol, amoniaco al 25% (45:45:7:3; - vol/vol).
2. Acetato de etilo: metanol, amoniaco al 25% (85:10:5; - vol/vol).

Autoradiografía. Una película Kodak RPX-omat RP54 utilizada en medicina para la radiografía fue expuesta durante 2 sem. a las placas de cromatografía antes de ser revelada. Ello permitió

localizar sobre estas placas los compuestos radioactivos (Fig. 3 y 4). Las zonas apropiadas fueron recortadas y examinadas - con el detector de centellación líquida.

El detector de centellación líquida utilizado fue un aparato - Mark II (Nuclear-Chicago)

17. Resultados y Discusión

Los experimentos mostraron que la fenilalanina, la tirosina, la glicina y la urea, pueden penetrar en el *Papaver Bracteatum* ya que son disueltas en una solución acuosa al 1% de un agente de superficie. La tabla I permite constatar que un porcentaje relativamente alto de precursores marcados son convertidos en metabolitos radioactivos que pueden ser extraídos con la ayuda de una solución etanólica de amoníaco.

Como se había previsto, se encontró la tebaína radioactiva en - las plantas tratadas con la fenilalanina y la tirosina, también se constató que la glicina y la urea dan lugar a la formación - de tebaína radioactiva (Fig. 3 a-d y tabla I). Las figuras permiten constatar que varios metabolitos radioactivos fueron for-

mados y que la radioactividad presente en la parte intermedia entre las raíces y el tallo y en las hojas de 4 plantas hubo tres débiles. Ningún compuesto radioactivo fue detectado en las raíces. Los aminoácidos y la urea no metabolizados quedan en el mismo punto de aplicación sobre las placas de cromatografía, ya que no son arrastrados por el solvente utilizado.

Para evitar maltratar las plantas antes que hayan alcanzado un cierto grado de madurez, los precursores marcados han sido aplicados en una fase avanzada de su desarrollo. Si se prefiriere esta fase, es también porque se estima que la biosíntesis de alcaloides sería la más activa durante el período de desarrollo o la producción de látex de la planta está en su punto culminante.

T A B L A I

(Ver Fig. 3 a-d y Fig. 4)

| | Fenilalanina | | Tirosina | | Glicina | | Urea | |
|---|--------------|------|----------|-----|---------|-----|------|-----|
| | a) | b) | a) | b) | a) | b) | a) | b) |
| Cápsula | 57.4 | 13.6 | 25.8 | 1.2 | 50.2 | 3.7 | 56.3 | 2.4 |
| Hojas | 43.8 | 3.8 | 41.4 | 1.1 | 12.6 | 0.3 | 72.8 | 3.0 |
| Tallo | 8.0 | 1.2 | 28.6 | 0.9 | 13.7 | 0.8 | 34.5 | 0.8 |
| Parte inter- media entre - las raíces y el tallo | 54.0 | 3.4 | 36.8 | 5.6 | 24.6 | 0.9 | 32.5 | 1.6 |

Donde: a) indica el % de metabolitos radioactivos

b) indica el % de tebaina radioactiva encontrada en los extractos.

Aunque sean los primeros estudios que hayan sido hechos en la materia, los resultados aquí muestran claramente que los aminoácidos y ésto que es todavía mas importante, la urea aplicada a la superficie de las hojas y de los tallos de *Papaver - Bracteatum* son absorbidas por la planta y utilizadas en parte en la biosíntesis de alcaloides. 25/



FIG. 1.- *Papaver Bracteatum*.

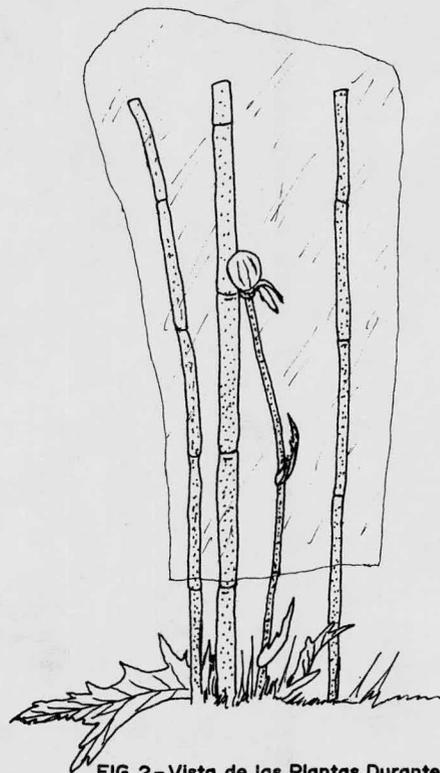


FIG. 2.- Vista de las Plantas Durante el Experimento.

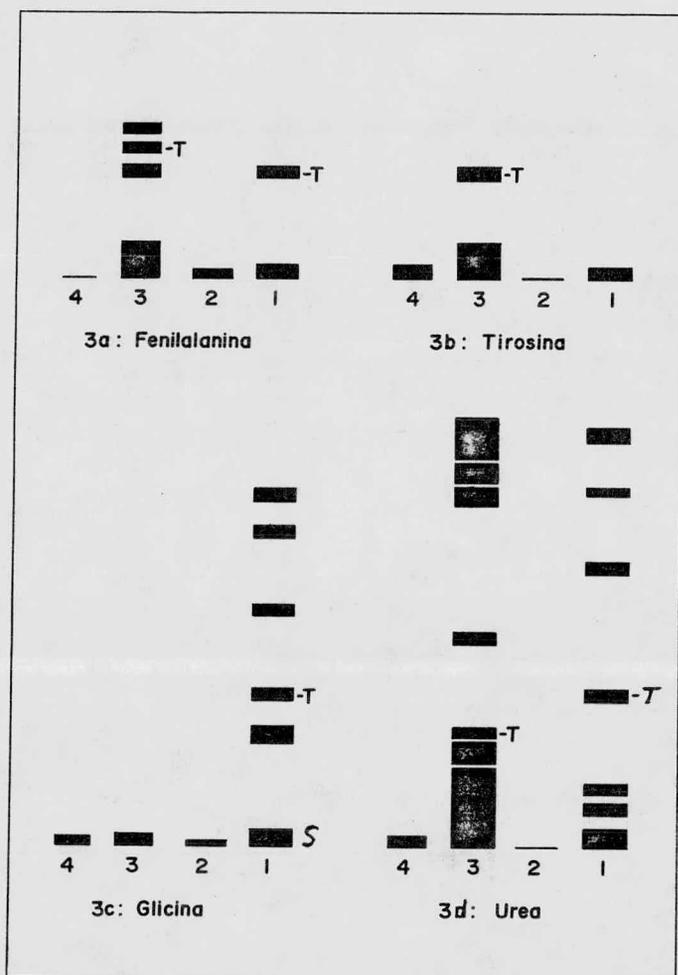


Figura 3. Incorporación de diferentes precursores al *Papaver Bracteatum*. Las cifras 1, 2, 3 y 4 designan los -radioautogramas de placas de cromatografía en placa delgada de extractos de cápsulas, de hojas, de tallos y de partes intermedias entre las raíces y el tallo de las plantas. "S" indica la línea de -partida y "T" la posición de la tebaina sobre los cromatogramas.

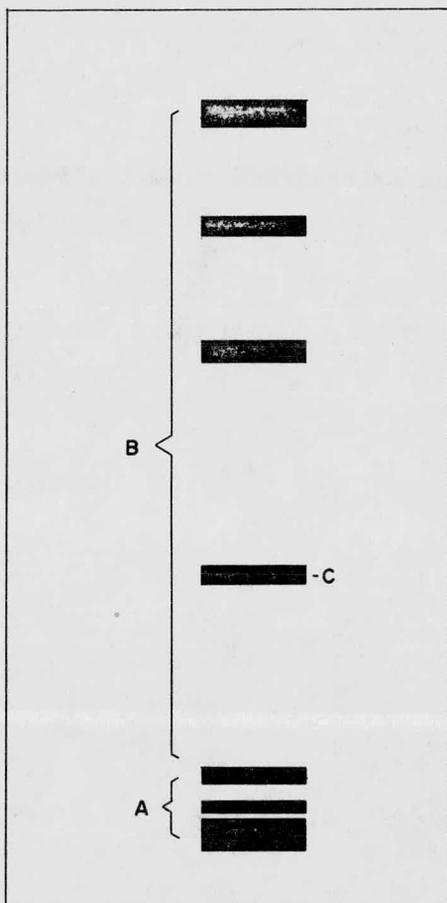


Figura 4. Radioautograma de extracto de *Papaver Bracteatum* (ver figura 3d y tabla I)

- A: Precursor no convertido permanecido sobre la línea de partida.
- B: Metabolitos radioactivos derivados del precursor.
- C: Localización de la tebaina

C A P I T U L O V

PAPAVER BRACTEATUM LINDL, FUENTE DE OPIACEOS

18. Papaver Bracteatum Lindl, una nueva Planta Fuente de -
Opiáceos. (Inglaterra)

El Papaver Bracteatum Lindl contiene en la raíz cantidades -
apreciables de tebaina, que puede ser usada para la produc-
ción de codeína y otros narcóticos. Resultados de plantas -
cultivadas cerca de Londres procedentes de semillas iranianas
por cuatro a cinco años de edad la presentan. Las caracterís-
ticas botánicas y químicas corresponden estrechamente a ésa -
de la clase activa (variedad química de Papaver Bracteatum de
signada así) "Halle III" por Neubaver, Mothes y Bohm y esta -
planta es capaz de ser claramente distinguida de la estrecha-
mente relacionada Papaver Orientale L. El contenido de tebai-
na de las raíces fue de 0.25% que es mucho mas bajo que el va-
lor de 0.7 a 1.3% reportado en las raíces de Halle III. La -
corona de los frutos fue investigada y encontraron cantidades
apreciables de tebaina, en terrenos cultivados en estas condi-
ciones: si la coronilla era cosechada en el verano y las raíz-
ces en el otoño, mas o menos 15Kg. de tebaina por hectárea se
rían producidos del experimento en las condiciones descritas.

Aunque sabemos que las especies de papaveráceas producen alca

loides muy pocos producen morfina, sólo en pequeñas cantidades se encuentra en el *Papaver Septiferum*, la morfina misma sólo se encuentra en cantidades considerables en *Papaver Somniferum* L. y ésta ha sido la única planta fuente de producción de morfina, codeína y otros opiáceos. A causa del incremento en el tráfico ilícito de opiáceos la producción de opio ha sido disminuida tendiendo a descontinuarse en algunos países, si ésto fuera aplicado se pasaría a otras graves dificultades topándose con la demanda de opiáceos por el uso de la medicina. Por consiguiente informo los resultados de un experimento particular hecho en Inglaterra realizado con *Papaver Bracteatum* Lindl que contiene grandes cantidades de tebaina que son de considerable interés ya que la tebaina puede ser relativamente fácil de convertir en codeína. Además la tebaina es usada para la manufactura de analgésicos potencialmente importantes y de naloxona un narcótico antagonista y es por lo tanto una materia prima para algunos medicamentos potencialmente útiles.

El *Papaver Bracteatum* Lindl está íntimamente relacionado al *Papaver Orientale* y produce cantidades pequeñas de isotebaina, tebaina protopina, salutaridina y otros alcaloides secundarios.

En 1963 Neubauer y Mothes reportaron en una variedad química, que ellos designaron "Halle III" y que produce en las raíces de 0.7 a 1.3% de alcaloides de los cuales 98% fue tebaina. Trabajos posteriores demostraron que otros alcaloides están presentes en las partes aéreas de la planta joven pero desaparecen al madurar; de cualquier modo, dos subvariedades fueron detectadas, una conteniendo tebaina solamente al madurar y otra "tipo E" conteniendo tebaina mas alcaloide E (posteriormente identificado como alpinigenina). En 1967 Shargui describió una variedad de cultivo silvestre en las montañas de Irán, en el látex él encontró 26% de tebaina (basado en el peso seco).

En este experimento se reporta acerca de los alcaloides de una variedad de *Papaver Bracteatum* de Irán que se cultivó en Inglaterra por cuatro a cinco años.

19. Material y Métodos

Material. Unas pocas semillas fueron obtenidas de Irán en 1967 plantadas en el invernadero y la planta recién germinada trasplantada a la intemperie en la primavera de 1968. Dos de las

plantas florecieron y el examen de las cápsulas, tallo, látex, demostró que la tebaina fue el alcaloide principal; 12.4% estuvo presente en el látex fresco, correspondiendo aproximadamente a 25% del látex seco, de tal manera se indica que fue un experimento activo. El número de plantas fue por lo tanto incrementado por división de raíces de una de las plantas, en años subsecuentes, semillas de esta planta original fueron colectadas; sembradas en noviembre de 1970 y trasplantadas a la intemperie en abril de 1971, no se obtuvieron flores este verano, pero gran número en 1972, al segundo año de su plantación. Los caracteres botánicos y químicos de plantas originales y las producidas fueron examinadas en detalle en orden de caracterizar el experimento satisfactoriamente y relacionar los resultados con esos de otros trabajos.

Las plantas del experimento, aunque todas ultimadamente derivadas de una semilla, demuestran los dos tipos de estructura de la raíz, una produciendo unas pocas raíces principales y - otras numerosas delgadas que se traban entre sí.

También se examinaron especímenes de herbarios claves y se encontró que todos los 16 especímenes resultados de Papaver Bracteatum fueron distinguidos por sus características morfológicas antes descritas para la planta del experimento. Mas ampliamente, los pétalos de las plantas de Papaver Orientale son decorados, pero hubo una diferencia interesante entre aquellos especímenes de las plantas de Papaver Bracteatum del Caucaso e Irán que conservaron un color púrpura profundo, tanto que, los pétalos de Papaver Orientale de Turquía tienden a palidecer.

20. Características Químicas

La tebaína parece ser el alcaloide principal en todas las etapas de desarrollo de la planta y fue identificada con material auténtico usando co-cromatografía, reacciones de color y espectro ultravioleta. Alpinigenina también fue encontrada como alcaloide importante y fue identificada similarmente por comparación con material auténtico, además de comparar punto de fusión, espectro de masas y espectro de resonancia magnética. La alpinigenina se encuentra en las partes aéreas de la planta y en todas las etapas incluyendo la planta madura y el látex, la planta experimentada tiene que haber sido del "tipo E". También se

encontraron en el estado joven de desarrollo alcaloides secundarios.

El análisis cuantitativo demostró que en el látex de la cápsula de la planta original 18.9% y en esa de la segunda generación - de plantas jóvenes 18.2% de el total de alcaloides fue alpinigina.

21. Contenido de Tebaina en Cápsulas, Tallos, Látex y Raiz en varias etapas de desarrollo

Muestreo. Muestras de látex fueron colectadas de un número de cápsulas de edad fisiológicamente equivalente; el día en que los pétalos fueron completamente abiertos fue tomada como semana 0. A intervalos apropiados un número representativo de las cápsulas (de 16 a 35) fueron cortadas por fuera y el látex fluvente de ellas y de algunos pedicelos, colectado separadamente dentro de ácido cítrico conteniendo metabisulfito de potasio, - las cápsulas fueron también colectadas, los óvulos removidos y el pericarpio mezclado con metanol. En otro experimento 161 coronillas cada una derivada de una cápsula más 25-40cm. de pedicelos fijos fueron cortadas de 8 plantas de cuatro años de edad. El mayor número de las cápsulas fueron de dos a cuatro semanas.

Las coronillas fueron expuestas al sol por 3hs., después de que fueron cortadas y secadas en un horno a 50°centígrados por dos días y hechas polvo. Finalmente, raíces fueron colectadas en el otoño cuando las partes aéreas han secado: ellas secadas a 40-50°centígrados y pulverizadas. Todas las muestras fueron almacenadas a 4°centígrados en una gaveta requerida para el análisis con el propósito de conservar su cantidad de alcaloides original.

22. Análisis Cuauntitativo

Para muestras de látex los extractos de ácido cítrico fueron llevados a pH de 7.4 a 8.0 y extraídos con cantidades sucesivas de triclorometano al agotamiento. La combinación de extractos de triclorometano fueron lavados con agua, evaporados a sequedad y el residuo disuelto en triclorometano en un volumen conocido. Una apropiada alícuota fue cromatografiada en sílica gel GF 254: benceno-metanol (80:20). El frente del solvente fue encontrado en un rango de 16-17cm; la placa fue secada y revelada en el mismo solvente para la misma distancia. La banda de tebaina fue removida por succión a microvacío y determinado el porcentaje de tabaina. El método fue verificado usando cantidades conocidas de una solución de tebaina y pro-

cediendo de la misma manera. La alpinigenina fue determinada de una manera similar.

El extracto de metanol del pericarpio, fue filtrado, la marca extraída agotada con metanol y la combinación de extractos reducidos a pequeño volumen. El pH fue llevado a 2 con ácido cítrico y la materia coloreada removida por agitación con éter: después alzando el pH a 8-9 los alcaloides fueron extraídos en cloroformo que fueron lavados y procedidos como las muestras de látex dichas. Para las raíces y coronillas un conocido peso de polvo fue agotado con metanol-amonía (98-2) por agitación a temperatura ambiente por una hora. Este extracto fue tratado como el extracto de metanol dicho.

23. Resultados

Los resultados por análisis cuantitativo del látex y cápsulas a varias etapas de desarrollo son obtenidas en la Tabla # 1 y para coronillas secas y raíces en la Tabla # 2.

Densidad de plantas y cápsulas. En la primer camada de plantas midieron de 33 a 60 cm. cada planta, produciendo 22 cápsu

las promedio. En la segunda camada de plantas midieron de 34 a 43 cm. produciendo 17 cápsulas por planta.

Segunda generación de plantas jóvenes. Plantas cultivadas de semillas de plantas originales demostraron identidad botánica y caracteres químicos cualitativos a esos de los padres: el látex colectado de la cápsula a una semana se encontró con un contenido de 7.19% de tebaina que es similar al valor de las plantas padres obtenido en la Tabla I.

24. Discusión

Comparación con otros extractos. Los caracteres botánicos y químicos cualitativos de las plantas fueron muy similares a éstos del experimento Halle III, pero el contenido de tebaina fue menos significativo. Esas diferencias pudieron ser: a). Diferentes condiciones de cultivo; b). El factor del experimento Halle III que la muestra parece proceder de Armenia o del Caucaso, considerando la muestra del experimento que procede de Irán; c). Diferentes métodos de ensayo: se encontró que el método usado por Bohm obtuvo resultados variables uniformes con pura tebaina. Como quiera que sea el factor mas

importante puede ser la proporción considerable de alpinigenina (cerca del 20% del total de alcaloides del látex) en las plantas del experimento, que pueden asociarse con decrecimiento de producción de tebaina.

T A B L A I

Contenido de tebaina en látex y cápsulas durante el desarrollo de flores a frutos en plantas de 4 años. Se indica el porcentaje de tebaina.

| Tiempo de colección | Rendimiento de látex | | Peso fresco de - pericarpio agotado | Cant. Absoluta de Tebaina/coronilla |
|---------------------|----------------------|---------------|--|--|
| | a) Cápsula | b) Tallo | | |
| WO + | 35mg (11.8%) | 17mg (13.4%) | 2.3g. (0.074%) | 8.11mg. |
| WI | 58mg (6.8%) | 18mg (8.2%) | n.d | - |
| W2 | 62mg (4.9%) | 7.5mg (16.6%) | 6.1g (0.030%) | 6.11mg |
| W3 | 95mg (6.9%) | 38mg (6.2%) | 9.2g (0.046%) | 12.74mg |
| W4 | 81mg (6.9%) | 24mg (6.2%) | 8.0g (0.084%) | 13.79mg |

Explicación:

WO + Etapa en la que la corola está completamente abierta

WI Primera semana contando a partir de WO +

W2 Segunda semana contando a partir de WO +

n.d. No denota

TABLA 2

| Detalles de la colección | Peso seco (g) | % de Tebaina |
|--|---------------|--------------|
| <u>Raíces:</u> | | |
| 1. Colectadas 25.6.71:3 años de edad | 52 | 0.25 |
| 2. Colectadas 6.8.71:3 años de edad | 57 | 0.24 |
| <u>Coronillas:</u> | | |
| 3. Colectadas 29.6.72:4 años de edad (161 coronillas) | 561 | 0.15 |

25. Rendimiento por Hectárea

Raíces. Neubauer obtuvo una figura de 34kg de tebaina por hectárea. Esto asume una densidad de 625 plantas por 100m². (separadas 40cm) un promedio en peso seco de raíz por planta de 70g. con un contenido de tebaina inferior de cerca de 0.8% El peso alto de raíz por planta puede sólomente ser obtenido usando plantas "podadas". La variedad de plantas no podadas produce por planta 55g. de raíz conteniendo 0.24% de tebaina a una densidad de 625 plantas por 100 m² el rendimiento por hectárea sería 8.25kg. de tebaina.

Importancia de las partes aéreas. Bohm rechaza el uso de cápsulas en parte porque es necesario podarlas en orden de incre

mentar el crecimiento de raíz en el otoño. Ya que la podación puede ser una labor de operación expansiva y por lo tanto se ha estudiado el contenido de tebaina en el desarrollo de pedicelos y cápsulas en la Tabla I sería visto que el contenido absoluto de tebaina por coronilla incrementa durante las primeras tres semanas de cultivo, si las coronillas fueron colectadas de la semana dos a la cuatro, el rendimiento promedio sería de cerca de 11mg. , con cerca de 20 coronillas por planta (ver los resultados) la tebaina sería 0.22g. por planta correspondiendo a 13.7kg. por hectarea. Cápsulas colectadas en nuestras condiciones mas realistas como quiera que sea sólomente contuvieron 0.15% de tebaina, Tabla 2 correspondiendo a 5.2mg. por coronilla; sobre estas bases el rendimiento sería 6.5kg. por hectarea. Esta figura está cerca de la mitad esperada de los resultados basados en recolecciones recientes de látex y en parte una variación de temporada en parte debida a la descomposición de tebaina en las 161 coronillas durante su deliberada exposición al sol. También se encontraron dificultades durante el proceso de ensayo, librar los extractos de pigmentos de interferencia y el procedimiento puede tener primacía sobre un resultado bajo artificialmente.

El resultado, de cualquier modo, demuestra que un rendimiento apreciable de tebaina puede ser obtenido de las coronillas ma duras; éstas podrían cosecharse mecánicamente fuera de excesi vo perjuicio del follaje, ya que el desarrollo de la raíz no sería posterior. En efecto, la operación sería una forma de podación y puede incrementar rendimiento en la raíz en el - otoño.

Asumiendo el bajo rendimiento de las coronillas en condiciones del campo, la combinación de resultados (raíz y coronilla) se obtiene un total de cerca de 15 kg. de tebaina por hectarea.

Obviamente ésto sería mucho mas grande si un experimento mas activo, semejante al Halle III fuera usado. 3/

C A P I T U L O V I

DETERMINACION DE TEBAINA EN EL PAPAVER BRACTEATUM

26. Prueba Aceptable para el Análisis de Tebaina

El siguiente método para la detección de tebaina en material de planta fresca podría ser muy útil en la investigación de *Papaver Bracteatum*, en orden de obtener una rápida y real indicación de la presencia de tebaina.

Mínima Cantidad del Material de Planta Fresca

| | | |
|----------|------|---|
| Hoja: | 2g | (dos hojas de 15 cm. de longitud) |
| Tallo: | 1g | (una pieza de tallo de 5 cm. de longitud) |
| Raíz: | 1g | (una pieza de raíz con diámetro promedio de 0.5 cm.) |
| Cápsula: | 0.5g | (1/3-1/2 de la parte de una cápsula fresca, longitud 3-4 cm.) |

Material y Equipo

- 1) SiO₂ Merk "Fertigplatten" 15 x 1.5 cm.
- 2) Matraz conteniendo 250 ml. de una solución saturada de amoniaco (densidad específica 0.910) en dietil éter.
- 3) Tubo de ensayo (15 x 2cm.), conteniendo 1g. de cristales de iodo.
- 4) Tubo de ensayo (de 15 x 2cm) conteniendo un papel filtro y 2ml. de "solvente sistema 1" tolueno; acetona; metanol; amoniaco 6N (40: 40: 30: 2) Vol/Vol. Fig. A

- 5) Tubo de ensayo (15 x 2cm), conteniendo un papel filtro y 2ml de "solvente sistema II" acetato de etilo; metanol; amoniaco 13N (17: 2: 1) Vol/vol. Fig. B

- 6) Pipetas Pasteur, vidrios de reloj (10cm. de diámetro), - mortero, tubo de ensayo de 12 x 1.5cm., conteniendo una solución de 50mg. de tebaina en 10ml. de dietileter.

Procedimiento



- 1) El material de plantas cortado en pequeñas piezas.

- 2) Macerado con 25ml. de dietileter/amoniaco por tres minutos.

- 3) Pipeteada de extracto étereo en un vidrio de reloj y cuidadoso agitación, dejar que el solvente se evapore a un volumen pequeño.

- 4) Aplicar dos gotas del extracto concentrado sobre una capa delgada como se muestra en la figura Núm. 1, en línea con dos puntos de referencia de tebaina.

- 5) Poner una de las placas en el solvente, Sistema I, dejar

que la mezcla de solventes fluya hasta el frente del solvente dado por la línea punteada (Fig.I). En seguida quitar la placa del tubo del sistema I y secar al aire por cinco minutos.

- 6) Repetir este procedimiento después cambiando la placa y usando el solvente Sistema II.
- 7) Visualizar los puntos en el tubo conteniendo los cristales de iodo (límite de detección aproximadamente 1-2 microgramos de tebaina, tiempo de visualización al cabo de tres minutos).
- 8) Cuando los puntos de los extractos de la planta corresponden con los puntos de tebaina referencia (Rf 0.15 en el sistema I y Rf 0.50 en el sistema II) la prueba es considerada positiva.
- 9) La concentración de la tebaina referencia, muestra ser aproximadamente igual a esa de la "muestra de tebaina" Es necesario repetir el procedimiento con una "concentración de referencia ajustada").

El método mencionado fue aplicado a hojas jóvenes de *Papaver - Bracteatum* "Arya I", cultivadas en los países bajos y se obtuvieron resultados reproducibles. 22/

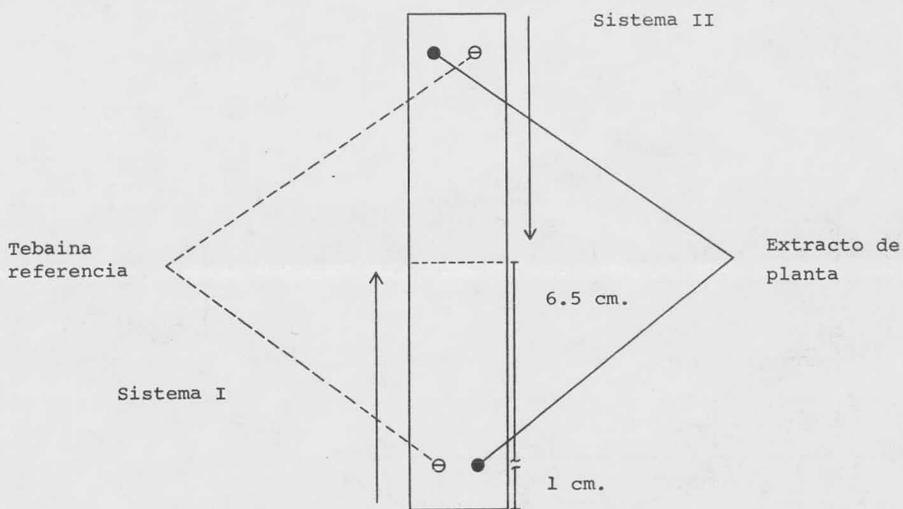


Figura Núm. 1

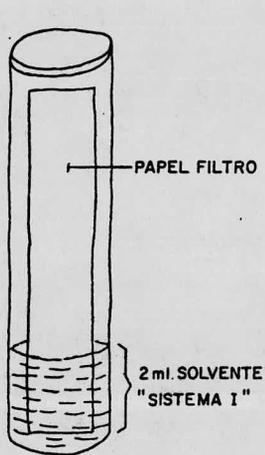


FIG. A

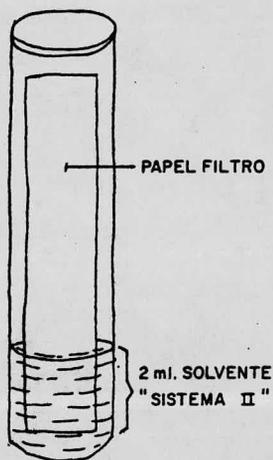


FIG. B

27. Prueba rápida semi-cuantitativa para la determinación de Tebaina y Diferenciación de Papaver Bracteatum, Papaver Orientale y Papaver Pseudo-Orientale

Los géneros de Papaver consisten de tres especies que se presentan en Turquía y son: Papaver Bracteatum, Papaver Orientale y Papaver Pseudo-Orientale. La diferencia entre las especies ha sido limitada a observar la planta en el tiempo de florecimiento, analizar tejido de plantas por el contenido de alcaloides, determinando el número de cromosomas y frecuentes combinaciones de éstos. En cada caso se limita aplicar la diferenciación de especies, por ejemplo, el florecimiento ocurre entre un tiempo determinado, la determinación de alcaloides requiere algún equipo sofisticado y la determinación del número de cromosomas requiere expertos especiales y son laboriosas.

El método descrito aquí explota el hecho de que el alcaloide principal encontrado en Papaver Bracteatum es la tebaina que da un color bastante específico en la reacción con molibdato en ácido sulfúrico concentrado.

En 1866, Frohde introdujo este reactivo como un ensayo para morfina. El reactivo es hecho por dilución de 0.5g. de molibdato de amonio o de sodio en 100ml. de ácido sulfúrico concentrado. Este reactivo muestra no ser confundido con el "reactivo de Buckingham" que contiene 10-15g. de molibdato por 100ml. El reactivo de Frohde es sensible a aproximadamente un microgramo de alcaloide. El alcaloide encontrado en el género *Papaver* tiene algunas reacciones específicas de color en la presencia de pocas gotas de reactivo de Frohde. Por ejemplo: morfina + reactivo produce inicialmente un muy profundo color rojo púrpura, seguido por oliva oscuro, que decolora en el medio a café rojizo y finalmente a verde fuerte. La codeína mas reactivo dá un color amarillo pálido seguido por un verde oliva oscuro. La papaverina en la presencia del reactivo dá un color verde amarillo brillante.

El reactivo de Frohde mas isotebaina inicialmente produce un azul oscuro, que inmediatamente sería café verdoso oscuro, el color inicial de oripavina con el reactivo fue oliva claro, que cambió a oliva. Narcotina + reactivo fue verde grisáceo al principio, así cambió a verde oscuro. Orientalidina + reactivo fue gris y alpinigenina fue gris violeta. Narceina

+ reactivo fue azul gris. Tebaina + reactivo dió naranja profundo. Las reacciones de color no son específicas para alcaloides. Otras sustancias semejantes como aminas aromáticas, fenoles y éteres de fenoles obtienen diferentes colores.

No obstante los colores y secuencia de cambio del color parecen ser, en general, específicos para cada sustancia.

Método. Placas de porcelana de 9 x 12cm. teniendo 12 cavidades fueron empleadas. El reactivo de Frohde fue preparado disolviendo 0.5g. de molibdato de amonio en 100ml. de ácido sulfúrico concentrado. Alícuotas conteniendo 1 a 120 microgramos de tebaina fueron pipeteadas dentro de las cavidades. Aproximadamente 10 gotas de reactivo de Frohde fueron adicionadas a cada cavidad. El color de la reacción de la concentración conocida de tebaina fue comparado al color del problema y una estimación semi-cuantitativa visual de tebaina de *Papaver Bracteatum* puede ser hecha de esa manera. Tiene que tomarse atención para evitar la introducción de mezcla en el reactivo durante los ensayos en estas condiciones de humedad. Evitar mezclar las reacciones de color y en la mayoría de los casos es indispensable debido a los cambios de color.

Este procedimiento podría ser usado antes de analizar por métodos más sofisticados semejantes a la cromatografía de gas o alta realización de cromatografía líquida con extractos seleccionados con su contenido de tebaina.

El reactivo de Frodhe puede ser adicionado también directamente sobre el látex de especies de Papaver. Puede ser látex derivado de cortar hojas, raíces, cápsulas. Para análisis cualitativo, de látex de Papaver Somniferum, Papaver Bracteatum, Papaver Orientale, Papaver Pseudo-Orientale y Papaver Alpinum, tejido de hojas cortadas fue depositado en las cavidades de la placa y seguido de secamiento. 10 gotas de reactivo fueron adicionadas a cada cavidad, la placa cuidadosamente agitada y el color notado desarrollado. El color inicial de las reacciones fue para el látex de Papaver Somniferum un rojo púrpura - profundo seguido de café rojizo (descrito antes) y finalmente un verde oliva oscuro (descrito antes). El látex de Papaver Orientale con el reactivo da un color inicial verde amarillo oscuro, seguido de café negrozco, Papaver Pseudo-Orientale con reactivo da un color inicial rojo oscuro, seguido por un rojo oscuro café. El látex de Papaver Alpinum con el reactivo da colores similares a los descritos para el Papaver -

Pseudo-Oriente. El látex de Papaver Bracteatum con el reactivo fue inicialmente rojo muy intenso, seguido por rojo claro brillante. Placas Sport fueron preparadas por el Dr. J. Duke, Laboratorio Taxonómico de plantas, USDA, ARS, Beltsville, Noruega 20705 como un ensayo "ciego" para la discriminación entre - las especies de Papaver como tejidos de otras plantas.

Las plantas escogidas fueron Papaver Bracteatum, Papaver Oriente, Papaver Pseudo-Oriente, "May Curtis", Eschscholzia, Californica (adormidera californica), Papaver Lateritum, Asclepsias, syriaca (leche mala), Lactuca sativa (lechuga) y Euphorbia s.p. (planta manchada). Los resultados de la reacción del - látex de estas plantas (o savia) con el reactivo de Frohde son mostradas en la Tabla I. En todos los casos se distinguió el látex del Papaver Bracteatum de otros fluidos expresados con - la excepción posible del Papaver Fugax. La diferenciación de especies es probablemente debida al hecho que 95-98% de los alcaloides en el látex de Papaver Bracteatum es tebaina, considerando las otras especies de Papaver conteniendo diferentes alcaloides o tebaina en combinación con otros alcaloides. El - efecto de la presencia de otros alcaloides es apagar la luz del color rojo brillante típicamente producido en las muestras de Pa

paver Bracteatum. En adición a los alcaloides, otras sustancias fenólicas o aminas aromáticas son indudablemente reactivas con el reactivo y producen colores específicos .

Una estimación semicuantitativa del contenido de tebaina del látex puede ser hecha de la siguiente manera. Una pipeta capilar (1-5 microlitros) es usada para coleccionar el látex. El látex -- puede ser directamente transferido a la cavidad de la placa. Algunas pérdidas ocurren debido a la adhesión del material a la - pipeta. Durante las determinaciones cuantitativas la pipeta -- además del látex pueden ser goteadas en un tubo con tapa de tornillo conteniendo un conocido volumen de metanol. El tubo problema conteniendo el metanol junto con la pipeta y el látex es entonces agitado durante varios minutos. Una alícuota de la solución resultante, usualmente 100 microlitros de un volumen total de 1ml. es puesta en la cavidad y secada. Las ventajas del método del metanol son su rápida deshidratación del látex, quitando la mayoría de las sustancias que puedan interferir con - la reacción de color, y una reacción mas cuantitativa especialmente si el metanol es hecho ligeramente ácido antes de extraer con ácido orgánico volátil. Será notado que el volumen del látex en la planta cambiará durante todo el día como una función

de mezcla pérdidas o ganancias. Tejido de hojas sujeto a la aplicación directa de reactivo de Frohde dá reacción de color variable y no es recomendado para la determinación de tebaina. Por lo tanto un simple comparativo, portátil y barato ensayo para la determinación de tebaina es el mencionado. El ensayo también permite usar la distinción de *Papaver Bracteatum*, *Papaver Orientale* y *Papaver Pseudo-Orientale* por explotación del factor del alcaloide principal que en *Papaver Bracteatum* es la tebaina. 20/

T A B L A I

Reacciones de color del látex de diferentes plantas con el reactivo de Frohde

| P l a n t a | Color Final |
|---|------------------------------|
| Látex de <i>Papaver Bracteatum</i> | Rojo claro brillante |
| Látex <i>Papaver Pseudo-Orientale</i> | Rojo café obscuro |
| <i>Papaver Pseudo-orientale</i> c.v. "May Curtis" | Rojo café obscuro |
| Látex <i>Papaver Fugax</i> | Verde oliva obscuro |
| Látex <i>Papaver Lateritium</i> | Verde oliva grizaceo obscuro |
| <i>Eschscholzia californica</i> (adormidera californica) | Verde oliva grizaceo obscuro |
| <i>Asclepias syriaca</i> | Verde oliva grizaceo |
| <i>Lactuca sativa</i> (lechuga) | Café naranja |
| <i>Euphorbia</i> sp (planta manchada) | Café naranja |

28. REPORTE DE UN SUBGRUPO DE TRABAJO SOBRE METODOS PARA LA DE
TERMINACION DE TEBAINA (Organizado por las Naciones Unidas)

Los objetivos del subgrupo fueron dar una guía para el análisis del tejido de *Papaver Bracteatum* que se compare con las facilidades del laboratorio. El método debería ser simple, correcto y - que abarcara un amplio rango de material de planta y cantidades de tebaina.

a) Secamiento del tejido de la planta

Se recomienda secar el tejido a 60 grados centígrados a peso constante lo mas pronto posible después de la colección. Unos miembros se opusieron a este procedimiento notando que la tebaina se puede perder usando este protocolo y posible secamiento por congelamiento sea mejor. Se sugiere que el tejido se corte para facilitar el secamiento, especialmente el tejido de raíces.

b) Tamaño de la partícula

Se recomienda que las muestras se pulvericen y que toda - ella pase por un tamiz de 0.5mm. y mezclarla antes del análisis. Hay que hacer una corrección de peso debido a la -

absorción de agua hidroscópica por el calentamiento de una pequeña cantidad a 105 grados centígrados y pesando de nuevo en el tiempo del análisis.

c) Tamaño de la muestra para el análisis

Es recomendable de 0.1 a 0.5 gramos de muestra para el análisis.

d) Solvente de extracción

Se sugiere el ácido acético (5%) como el solvente de extracción, pero está sujeto a una completa evaluación.

e) Procedimiento

1) Hay que agitar las muestras por 30min. en 25ml. de ácido acético (5%). El subgrupo recomienda evaluar tiempos mas cortos y mas largos de agitación para la eficiencia de la técnica de extracción.

2) Filtrar por embudo de vidrio y repetir la extracción otras dos veces. Combinar los filtrados.

3) Adicionar 25ml. de cloroformo y ajustar el pH de la

fase acuosa a 9.5-10 con hidróxido de amonio concentrado agitando, separar las fases de cloroformo.

- 4) Repetir la extracción de la fase acuosa con una porción de 25ml. de cloroformo seguidas con dos porciones de - 15ml. del mismo solvente.
- 5) Combinar las fases de cloroformo y evaporar hasta se--car, preferiblemente al vacío a 40 grados centígrados.
- 6) Al frasco que contiene el residuo, adicionar un volú--men conocido de etanol conteniendo cantidad apropiada de estándar interno (tetrahidrotebaina, acetato de co--lesterol, antipirina y laudanosina).

f) Cromatografía líquido-gas

El subgrupo recomienda usar columnas de vidrio desactivadas o acero con vidrio para evitar la descomposición de - la tebaina. Las temperaturas sugeridas de operación tienen que estar en un rango de 260-280 grados centígrados - con nitrógeno o helio.

g) Resultados

Los resultados se calculan en base del contenido libre de humedad del tejido de la planta después de secar a 105 grados centígrados.

Los resultados del procedimiento anterior tienen que evaluarse usando material de planta designado UNB-17 y otras muestras de referencia y datos por las Naciones Unidas. 24 /

C A P I T U L O V I I

ADORMIDERA SIN OPIO BAJO ESTUDIO COMO FUENTE DE CODEINA

29. Adormidera sin Opio bajo Estudio como Fuente de Codeína.
U.S.A.

El Papaver Bracteatum no contiene opio, sin embargo contiene - la apreciable tebaina, por la cuál las Naciones Unidas se han interesado en el Bracteatum como un sustituto potencial para el cultivo lícito de la adormidera del opio. (Papaver Somniferum). La morfina, base para la heroína, no puede ser obtenida de la tebaina a menos que se realicen series de complicados e ineficientes procesos químicos, por ésto se piensa que la substancia sea inmune al abuso de los traficantes de drogas.

La cuestión del abuso y desviación potenciales de la tebaina ha sido debatida largamente y la fuerza de trabajo ha decidido que ésto no plantea peligro. (6)

C O N C L U S I O N E S

- 1) El Papaver Bracteatum Lindl es una fuente valiosa de tebaina, que puede ayudar a solucionar en parte la creciente carencia de codeína dentro del campo de la medicina.

- 2) El Papaver Bracteatum, tiene el potencial de contribuir sustancialmente a la comunidad, mejorando el camino para proporcionar la materia prima de la producción de codeína estabilizando o posiblemente reduciendo la rapidez ascendente del precio de la codeína y proporcionando una fuente de materia prima que está libre de la presencia de morfina reduciendo así el potencial al abuso de drogas.

- 3) Una decisión importante sería la de extender la producción de Papaver Bracteatum por ser una planta fuente de opioceos que por su alto contenido de tebaina puede ser utilizada para la producción de codeína y otros narcóticos de gran utilidad en la medicina, la importancia de tomarse esta decisión se asentúa debido a que la producción de opio ha sido disminuida y tiende a descontinuar

se en algunos países, ésto debido al incremento en el tráfico ilícito de opiáceos.

- 4) La producción de *Papaver Bracteatum* tendería a substituir en parte la producción lícita de *Papaver Somniferum*, ya que el 90% de la producción de morfina es convertida en codeína, reduciendo así el tráfico ilícito de las drogas.
- 5) El *Papaver Bracteatum* por ser una adormidera perennial que se puede producir bajo control puede satisfacer ampliamente las necesidades de la medicina.

BIBLIOGRAFIA

B I B L I O G R A F I A

- 1) Naciones Unidas. Carta de Información Núm. 2.
División de Estupefacientes, Febrero 1974.
Publicación subvencionada por el Fondo de las Naciones -
Unidas para la Fiscalización del uso indebido de drogas.

- 2) Unites Nations Secretariat
División The Narcotics Drugs
Scientific Research on Papaver Bracteatum Núm. 1.
Geneva, December 1972

- 3) Fairbairn, J.W. and F. Hakim. Papaver Bracteatum Lindl
A new plant source of opiates
J. Pharmacy and Pharmacology
25(5): 353-358 (1973)

- 4) Sharghi, N. and Lalezari, I.
Papaver Bracteatum Lindl, a Highly Rich source of
Thebaine. Nature Scientifical Science
213(5082): 1244 Illus 1967

- 5) Periódico Norteamericano
Washington Oct. 7 de 1977
Científicos Trabajando sobre una Adormidera que no Produce Morfina
Dr. Quentin Jones

- 6) Science 190:1274 Dec. 1975
Discussed The Political Argument of Cultivating Papaver Bracteatum in the U.S.A. as a source of Codeine.

- 7) A. Guggisberg M. Hesse, H. Schmid, H. Bohn,
H. Ronsch and K. Mothes
Uber Papaver Bracteatum Lindl, Helvetica
C Himica Acta, 50(2) 621-624 Illus 1967

- 8) Rennes, Report of the Pourth Working Groups on Papaver Bracteatum, Unites Nations Secretariat Núm. 23 Mayo 1976

- 9) T. E. Wallis
Manual de Farmacognosia
Compañía Editorial Continental, S. A.
México (1966)

- 10) Goodman y Gilman
Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Segunda Edición
Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana
México (1962)
- 11) Litter
Farmacología
El Ateneo
México (1962)
- 12) Wilson y Loomis
Botánica
UTEHA
México (1968)
- 13) Goldblatt, P. (1974) Biosystematic Studies in Papaver
Section Oxytona. Ann Missouri Bot. Gard 61, 264 - 296
- 14) Payne, W.W. (1970) Helicoeytic and Allelocytic Stomata:
Unrecognized patterns in the dicotiledoneac. Amer.
Jour. Bot., 57, 140-147

- 15) Goldblatt, Peter. 1974. Biosystematic Studies in Papaver Section Oxytona.
Annals of the Missouri Botanical Garden, 61 (2): 264-296
- 16) Kelly, Kenneth L. 1965. A Universal Colour Language.
Colour Engineering, 3 (2): 2-7
- 17) Ping Cheng and Norman J. Doorenbos, Quantitative,
Analysis of Papaver Bracteatum, Unites Nations
Secretariat, 5 (1973)
- 18) Peter Goldblatt, Identification of Papaver Bracteatum
and other species of Papaver Section Oxytona from leaf
Epidermis Impressions, Unites Nations Secretariat
19 (1975)
- 19) J. M. Pelt and M. Lorrain, Determination of Thebaine -
content of Papaver Bracteatum, Unites Nations Secretariat
12 (1974)
- 20) P.G. Vincent, C.E. Bare and W.A. Gentner,
Rapid simi-quantitative Sport Test for Determination of

Thebaine and differentiation of Papaver Bracteatum from P.Orientalis and P.Seudo-orientalis, United Nations Secretariat 21 (1975)

- 21) R.Salkin, Determination of Thebaine in Papaver Bracteatum, United Nations Secretariat II (1974)
- 22) F.J.E.M. Koppers and Phillip G. Vicent, Field Test for Thebaine Analysis, United Nations Secretariat. 20 (1975)
- 23) Scientific Research on Papaver Bracteatum United Nations Secretariat 23 (1976)
- 24) Scientific Research on Papaver Bracteatum, United Nations Secretariat 15 (1974)
- 25) Recherches Scientifiques Sur le Papaver Bracteatum United Nations Secretariat 22 (1976)
- 26) A. Duke James
Annotates Bibliography on Opium and Oriental Poppies

and Related Species.

Agricultural Research Service U.S.

Department of Agriculture

Plant Genetics and Germplasm Institute

December 1973

TESIS HERRERA
TESIS POR COMPUTADORA
UNICO SISTEMA EN EL PAIS
PASEO DE LAS FACULTADES
No. 23-C
546-52-23 546-52-17
CIUDAD UNIVERSITARIA