

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Química Berzelius.

Influencia del metanol en la reacción de algunos C<sup>18</sup> C<sup>19</sup> C<sup>21</sup>  
esteroides y sus derivados, con ácido sulfúrico.

TESIS  
que para obtener el título de  
QUÍMICO  
presenta  
Francisco Bernat Serda.

103



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.

A MIS PADRES Y HERMANAS.

A LA FACULTAD DE QUÍMICA BERZELIUS.

A MIS COMPAÑEROS.

## CAPITULO PRIMERO

### I

#### USO DEL ACIDO SULFURICO EN LA MODERNA QUIMICA ANALITICA DE LOS ESTEROIDES.

En la química analítica de los esteroides, los pasos seguidos son los siguientes:

- I.- Preparación de la muestra.
- II.- Cromatografía en el papel o en columna.
- III.- Identificación y cuantéo espectroscópicos.

Veremos a continuación cada uno de los puntos citados.

#### I.- Preparación de la muestra:

La muestra, según el proceso de donde provenga o del lugar de su extracción, debe ser tratada en forma adecuada para lograr la mayor purificación posible, quitando los contaminantes no esteroides que puede traer. A continuación se toma una alícuota que se suponga tener la cantidad apropiada para el análisis cromatográfico que vaya a seguirse, y con ésto se procede al análisis.

#### II.- Análisis cromatográfico:

El principio del análisis cromatográfico se basa en la adsorción y consiste en lo siguiente: Si se tiene una fase estacionaria constituida por un producto con propiedades absorbentes y después de añadir la muestra se hacen pasar a contracorriente toda una serie de solventes y mezclas de solventes en orden de polaridad, las substancias mezcladas se preparan por los solventes también en orden de su polaridad.

a).- Cromatografía en columna; La columna consta de un cilindro

dro de vidrio, que en su parte inferior se estrecha y tiene una llave esmerilada para controlar el paso, y en su parte superior tiene un ensanchamiento en forma de bola el cual a su vez tiene un cuello para colocar un tapón y una entrada para aire a presión. Para montarla se coloca un algodón a unos centímetros arriba de la llave, acto seguido se coloca el gel que forma la fase estacionaria ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , etc.), y se coloca otro algodón encima. Una vez hecho lo anterior se añade la muestra, y a continuación los solventes usuales en orden de polaridad, tapando la columna y poniendo el aire a presión (si se necesita), y al mismo tiempo abriendo la llave y recogiendo las diferentes fracciones a las que luego se les hace una prueba rápida para su identificación. (En muchos casos con  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).

b).- Cromatografía en papel: Basado en el principio del anterior, la técnica seguida es la siguiente:

Se toma una tira de 37cm. aproximadamente de papel filtro (Whatman No. 1 generalmente), y se impregna con la fase estacionaria (Formamida, Propylene Glycol, etc.) en lo que se denomina la línea de aplicación colocada aproximadamente a unos 12 centímetros de la parte superior de la tira, se aplica la muestra que deberá ser aproximadamente de 1 mg. por cada centímetro de ancho de la tira. Una vez hecho esto, se coloca en la cámara de cromatografía de aproximadamente 50 centímetros de alto por unos 30 centímetros de diámetro y de forma cilíndrica; la cámara debe de estar forrada interiormente de papel filtro con una ventana de 10 centímetros a todo lo largo, y que tiene en su interior un soporte en el cual se pone una bandeja con el solvente lo mismo que en la parte inferior de

la cámara con objeto de tener un ambiente de total saturación.

El papel antes preparado, se coloca por la parte de arriba de la línea de aplicación en un vidrio, el cual a su vez se coloca diagonalmente en la bandeja, de manera que la parte del papel de la línea de aplicación quede para abajo colgando hacia afuera y por capilaridad el solvente la recorre, una vez que el solvente ha llegado a la parte inferior (o en su caso se ha dejado gotear), se saca de la cámara y se trata con aire caliente hasta la total evaporación del solvente y de la fase estacionaria.

Se cortan unas tiras muy angostas a lo largo del papel y se pasan por los reactivos apropiados (2,4 Dinitro Fenil Hidrazina, ácido sulfúrico, clorhidrato de trifenil tetrazolio básico, permanganato de potasio, etc.), teniendo en esta forma localizadas las bandas donde quedaron los diferentes esteroides componentes de la mezcla original, las bandas se recortan y se extraen con un solvente apropiado que luego se evapora y teniendo así separados los componentes de la muestra original.

### III.- Identificación y cuántos espectroscópicos:

Dado que el presente trabajo está más relacionado con ésta parte que con las dos anteriores, puesto que este trabajo consta de los espectros de absorción de los cromógenos que se obtienen de tratar algunos esteroides con ácido sulfúrico concentrado, y sus variaciones cuando además se añade metanol.

HISTORIA:- El descubridor del espectro fué Isaac Newton al colocar un prisma en la dirección de un rayo solar, y proyectarlo en un cuarto oscuro (año de 1666), ayudado con una lente logró obtener un espectro de 25 centímetros de largo.

Más tarde Wollaston (año de 1802) y J. Fraunhofer (año de --- 1814) también observaron líneas de espectro. El primer espec-

troscopio práctico se desarrolló hasta 1859 por J.R. Kirchoff y R. Bunsen, quienes además demostraron que el espectroscopio puede usarse como método de análisis químico y en esta forma encontraron la presencia en el sol de elementos conocidos y descubrieron varios elementos nuevos, entre ellos el Cesio y Rubidio.

ESPECTROSCOPIA EN QUIMICA:-- Cuando el espectroscopio se desarrolló en forma práctica en 1859, fué usado inmediatamente por los químicos, como un poderoso aparato para el análisis cualitativo.

Como resultado de ésto vino un descubrimiento de elementos -- químicos y fué una gran ayuda en la separación de las tierras raras.

Las estructuras de muchas moléculas de gran complejidad así como de átomos, han sido reveladas por su espectro. El químico ha logrado la determinación de la geometría de las moléculas cuyas fórmulas estructurales eran previamente conocidas así como el esclarecimiento de las fórmulas desconocidas. Las estructuras de tales moléculas como la penicilina y la -- vitamina K., fueron encontradas con la ayuda extensiva de la espectroscopía.

La región ultravioleta que comienza aproximadamente a los -- 4,000 A, fué descubierta por J.W. Ritter en 1801. En sus estudios de las relativas eficacias de rayos en diferentes porciones del espectro, al obscurecer el cloruro de plata encontró que, los rayos más activos se encuentran más allá del -- violeta.

Muchos minerales y materiales orgánicos fluorescen fuertemente en la luz ultravioleta, convirtiendo la radiación invisible

en luz visible. La luz ultravioleta también dá lugar a numerosas reacciones fotoquímicas, y en la región de ondas más cortas de 2,900 Å es marcadamente bactericida. Los efectos fotoeléctricos también están bastante pronunciados en la región ultravioleta lo que resulta de gran utilidad.

Espectro es el arreglo ordenado de radiación de acuerdo con la longitud de onda, las radiaciones electromagnéticas tienen longitudes de onda que varían desde miles de kilómetros hasta trillonésimas de milímetro.

El espectro electromagnético completo, comprende todas estas radiaciones arregladas en orden de longitudes de onda: De las más largas a las más cortas.

Ya que no existe ningún aparato que separe las radiaciones que contengan todas estas longitudes de onda en un espectro, el espectro electromagnético ha sido dividido en varias regiones de acuerdo con el tipo de instrumentos que son capaces de producir y captar las ondas de varias longitudes. Las ondas largas pueden ser separadas por medio de circuitos de radio ordinarios; las ondas más cortas se analizan por un equipo micro.

#### Unidades en el espectro

Las más usadas son las siguientes: centímetros inversos, milímetros inversos, micrón, milimicrón y unidades Angstrom.

Equivalencia:  $10,000 \text{ \AA} = 1,000 \text{ m}\mu = 10^4 \text{ m}\mu = 10 \text{ cm}^{-1} = 10^3 \text{ m}^{-1}$

#### Técnicas de la espectroscopía

Aquí se presenta el problema de estudiar las longitudes de onda e intensidades de radiación que son emitidas por los átomos y moléculas en diferentes condiciones físicas o bien las radiaciones absorbidas al pasar a través de la materia en varias

formas: por lo tanto, se deben hacer las distinciones convenientes entre espectroscopía de emisión y espectroscopía de absorción.

#### Espectroscopía de emisión

Son tres las clases de espectros de emisión:

a).- Espectro Lineal:- Es originado por los átomos o iones - que están separados de sus vecinos; y que en el intermedio de los choques pueden radiar por sí solos. Dan este espectro los gases incandescentes y vapores.

b).- Espectro de banda:- Este se origina por moléculas que están tan separadas de las vecinas que casi son independientes. Dan esta clase de espectro los gases incandescentes poliatómicos y los vapores suficientemente fríos para que no estén disociados.

c).- Espectro continuo:- Puede ser producido por sólidos y líquidos incandescentes y en algunos casos especiales por moléculas y átomos.

Cuando la luz de un arco eléctrico pasa a través de un espectroscopio se obtienen las tres clases de espectro, ya que la corriente del arco contiene átomos, moléculas y partículas -- grandes incandescentes.

#### Espectroscopía de absorción

Cuando la luz pasa a través de una pieza de vidrio coloreada, se absorben o lo que es lo mismo, se reducen en intensidad - algunas longitudes de onda. Si el vidrio es incoloro se observa este fenómeno también pero en las regiones ultravioleta e infrarroja. Los líquidos y sólidos en solución cuando están puros tienen también esta absorción.

El estudio de la espectroscopía de absorción comprende:

- 1.- Cuales son las longitudes de onda absorbidas.

2.- Qué cantidad de radiación es absorbida.

3.- La razón por la cual es absorbida.

El primer punto sirve como base al análisis cualitativo ya que determinadas longitudes de onda corresponden a ciertas constituciones moleculares. Generalmente para este espectro se usa el espectro infrarrojo.

El segundo punto nos relaciona la absorción obtenida con la cantidad de muestra que se está observando y así se obtiene el análisis cuantitativo de vitaminas, hormonas, aceites y otras sustancias orgánicas.

El tercer punto se usa para aclarar la molécula de ciertos compuestos orgánicos y está basado en relaciones ya conocidas.

El espectro de absorción se divide generalmente en las siguientes regiones:

Ondas Caloríficas:- Todas las ondas electromagnéticas que son absorbidas por la materia, producen calor. Las que son más cortas que unos milímetros y más largas que  $3 \times 10^{-3}$  milímetros, - pueden verse por medio de la producción de calor y por ello -- reciben este nombre, y están comprendidas en el infrarrojo.

Región infrarroja:- Consta de las ondas que van de unos milímetros hasta  $2.5 \times 10^2$  milímetros de longitud.

Región infrarroja cercana:- En ésta están comprendidas las ondas desde  $2.5 \times 10^2$  milímetros hasta  $7.5 \times 10^2$  milímetros de longitud.

Región visible:- Comprende desde  $7.5 \times 10^2$  milímetros hasta el violeta de  $4 \times 10^4$  milímetros de longitud.

Región ultravioleta cercana:- En ésta están comprendidas las ondas desde  $4 \times 10^4$  hasta  $3 \times 10^4$  milímetros de longitud.

Región ultravioleta lejana:- Tenemos aquí las ondas desde - -

$3 \times 10^4$  hasta  $2 \times 10^4$  milímetros de longitud.

Región ultravioleta extrema o ultravioleta al vacío:- Comprende las ondas desde  $2 \times 10^4$  milímetros hasta  $2 \times 10^6$  milímetros de longitud, y recibe el nombre de vacío debido a que el aire en estas ondas demasiado cortas, es opaco.

Región de los Rayos X suaves:- Desde  $2 \times 10^6$  hasta  $10^7$  milímetros de longitud.

Región de los Rayos X:-

Región de los Rayos  $\gamma$ :-

Análisis de materiales por espectroscopía cualitativa:-

Cada tipo de átomo o molécula produce unas líneas espectrales o bandas características que sirven para indicar la presencia de ese átomo o molécula como centro radiante, bien sea un metal, en el laboratorio, o en una estrella.

El espectroscopio provee uno de los más altamente específicos de los métodos de análisis cualitativos, es además directo, rápido y simple.

Una pequeña pieza de material para ser analizada, se quema en un arco eléctrico y su espectro es obtenido en pocos segundos.

Una simple inspección del patrón del espectro de línea obtenido, sirve para identificar la presencia o ausencia de 70 elementos químicos.

El método de emisión no es directamente aplicable para la determinación de las moléculas, excepto en casos especiales, porque la mayoría de las moléculas están disociadas en el arco eléctrico, tampoco se identifican los radiales negativos.

Análisis espectroscópico cuantitativo.

A muy bajas concentraciones de un elemento en una muestra; la cantidad de luz emitida por ese elemento es directamente pro-

porcional al número de sus átomos presentes, si todos los demás factores son constantes.

Dado que el número de factores y la concentración que afectan la intensidad es grande, el método de análisis todavía no es muy satisfactorio.

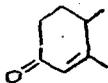
Una muestra puede ser analizada si es factible de duplicarla bastante bien con una mezcla de un contenido que emite líneas de intensidades relativas, parecidas cuando se queman en un arco.

El método espectrográfico puede ser aplicado cuantitativamente para la determinación de un elemento que puede ser visto cualitativamente.

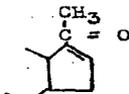
Aplicación al caso de las hormonas:

En el caso de las hormonas tenemos el análisis cualitativo por medio del espectro infrarrojo, y en algunos casos más rápido y económico por medio del conjunto UV-visible del cromógeno - obtenido como resultado de tratar dichas hormonas por ácido sulfúrico concentrado. El análisis cuantitativo se efectúa por medio del análisis UV en el caso de existir en la molécula un grupo capaz de absorber en el UV.

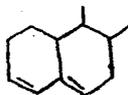
Los conocidos actualmente son:



$\lambda_{Max} = 240$



$\lambda_{Max} = 238$



$\lambda_{Max} = 235$



$\lambda_{Max} = 280$

Si la molécula objeto de estudio no tiene ninguno de estos grupos, entonces se obtiene un cromógeno con ácido sulfúrico con cierta cantidad, y se hace el espectro UV-visible para determi-

nar su  $\lambda_{max}$ . Una vez que se obtiene ésta, se pueden hacer lecturas en ese punto a diferentes concentraciones y trazando la recta concentraciones Vs. lecturas, es fácil posteriormente el cuantío de ese compuesto haciendo uso de los cromógenos-desarrollados con el ácido sulfúrico.

De aquí se puede ver la gran importancia del ácido sulfúrico en el análisis de las hormonas esteroideas y en este trabajo se tratará de las modificaciones que se presentan, cuando además se agrega metanol en varias proporciones.

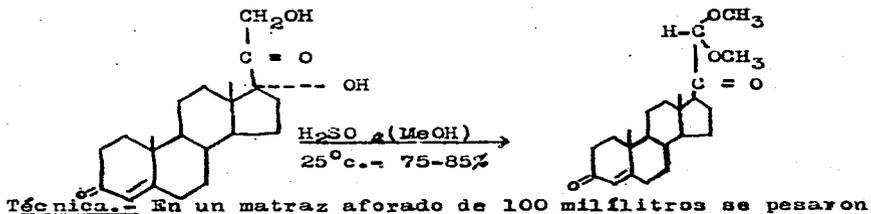
-o-o-o-O-O-o-o-o-

## CAPITULO SEGUNDO

### II

#### PARTE EXPERIMENTAL. ACCION DEL METANOL EN LA REACCION CON ACIDO SULFURICO.

Como hemos dicho anteriormente el análisis cualitativo rápido, se logra por medio de un espectro UV-visible del cromógeno obtenido con ácido sulfúrico. La constitución del producto formado no ha sido aclarada aún, pues las investigaciones a este respecto son escasas, sin embargo, el método resulta muy eficaz en la mayoría de los casos aún cuando en otros no existen unas diferencias muy marcadas. En los experimentos realizados para el presente trabajo además de ácido sulfúrico solo, en cuanto a sensibilidad de la reacción, diferenciación de colores y tiempo del análisis. En lo que concierne a la estructura de los compuestos formados no se han realizado tampoco trabajos tendientes a su determinación, pues solamente es conocido el caso de la 17-hidroxi-11 desoxi, corticosterona que por la acción del ácido sulfúrico y el metanol se transforma en el compuesto dimetoxilado en posición 21, - perdiendo el exhidrilo en posición 17.



50 miligramos del esteroide en cuestión, de esta solución se tomaron 10 mililitros y se llevaron a 50 mililitros en otro matraz aforado, de esta última solución se tomaron 2 mililitros para hacer el experimento y otros dos se llevaron a 10 mililitros en otro matraz aforado y con esta nueva solución se hizo el espectro ultravioleta para comprobar la exactitud de la pesada, en los casos en que se tenía algún compuesto - que diera absorción en el ultravioleta.

Aparato: se usó un espectrofotómetro Beckman que comprende una escala de 10,000 Å hasta 2,000 Å.

Este aparato emplea un prisma de cuarzo del tipo litow con - un espejo cóncavo de 50 centímetros de longitud focal. La abertura relativa del sistema es de  $\frac{f}{11}$ .

Se usan 2 iluminaciones: Una luz de  $\frac{11}{6}$  volts, de una lámpara con filamento de tungsteno para la región de 10,000 Å a 3200 Å (visible) y un tubo de hidrógeno de descarga para la región de 4,000 Å hasta 2,000 Å. (ultravioleta).

También se usan dos filtros para reducir la luz desviada en varias regiones espectrales.

Tiene dos fotoceldas cuya división de margen es a 6,000 Å. El circuito de la fotocelda consiste en un amplificador de dos casos acoplados directamente; en un medidor de la corriente que solo nos indica cuando el potencial desarrollado por la corriente de la fotocelda ha sido balanceado por el potencial opuesto de un potenciómetro que está en el circuito de entrada de la corriente. El potenciómetro se calibra en % de transmisión desde 0 a 100 y absorbencia de 0 a 2.

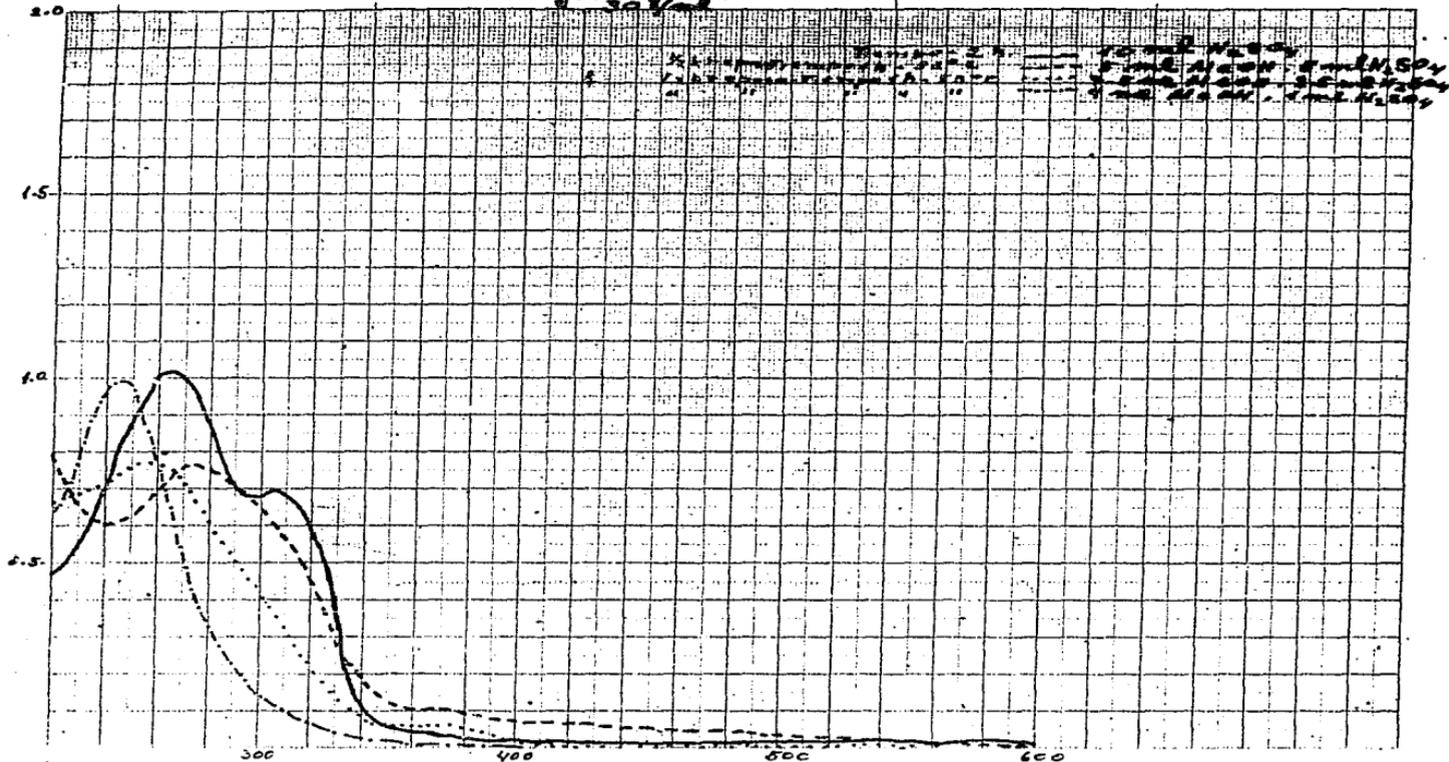
Resultados: Los resultados generalmente se dan en extinción ( $\epsilon$ ), logaritmo de la extinción ( $\log \epsilon$ ), o en extinción espe-

cífica (  $K^{1\%}$ ), y como tales se darán en el siguiente capítulo.

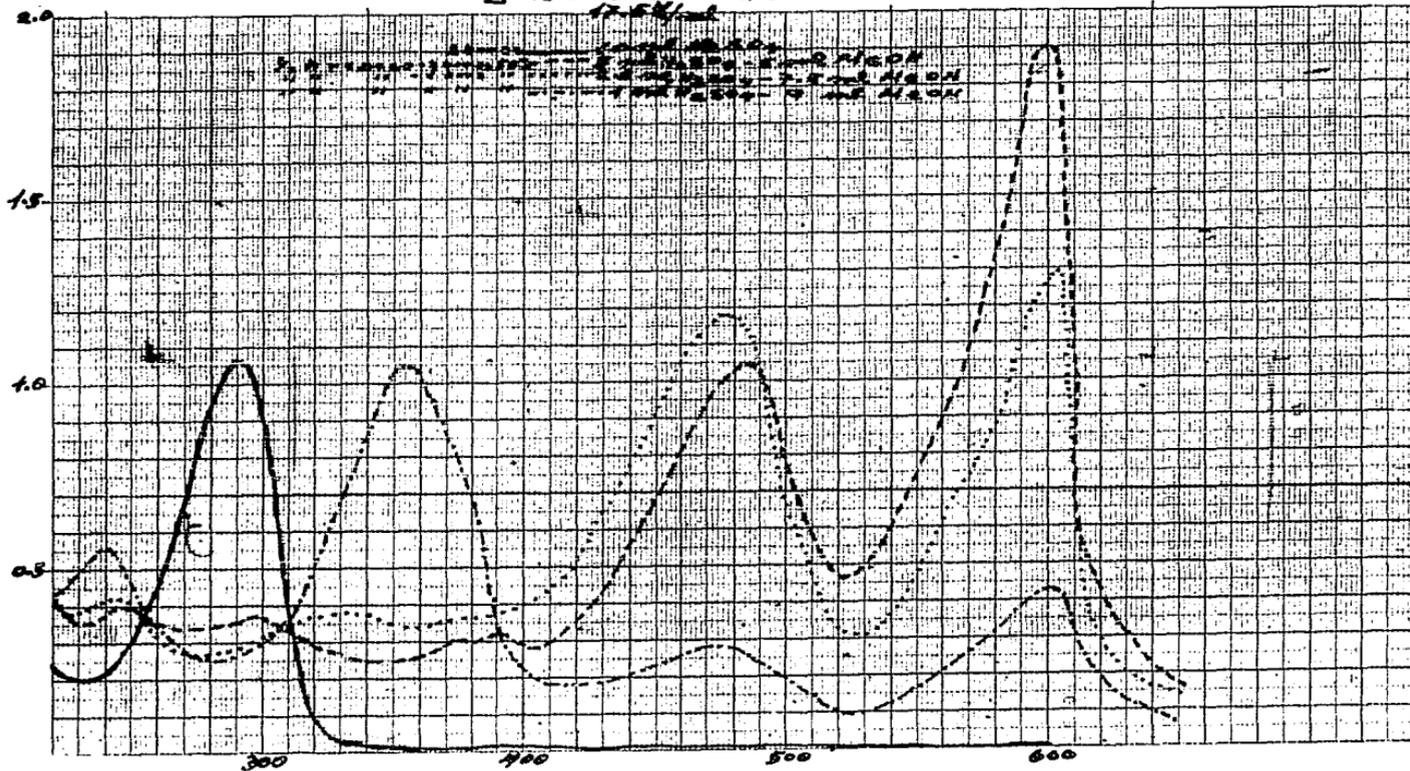
A continuación aparecen las gráficas obtenidas en los experimentos.

-o-o-oO-O-O-o-o-o-

A<sup>19</sup> Beaman's P. 20 dia. 30/10/28

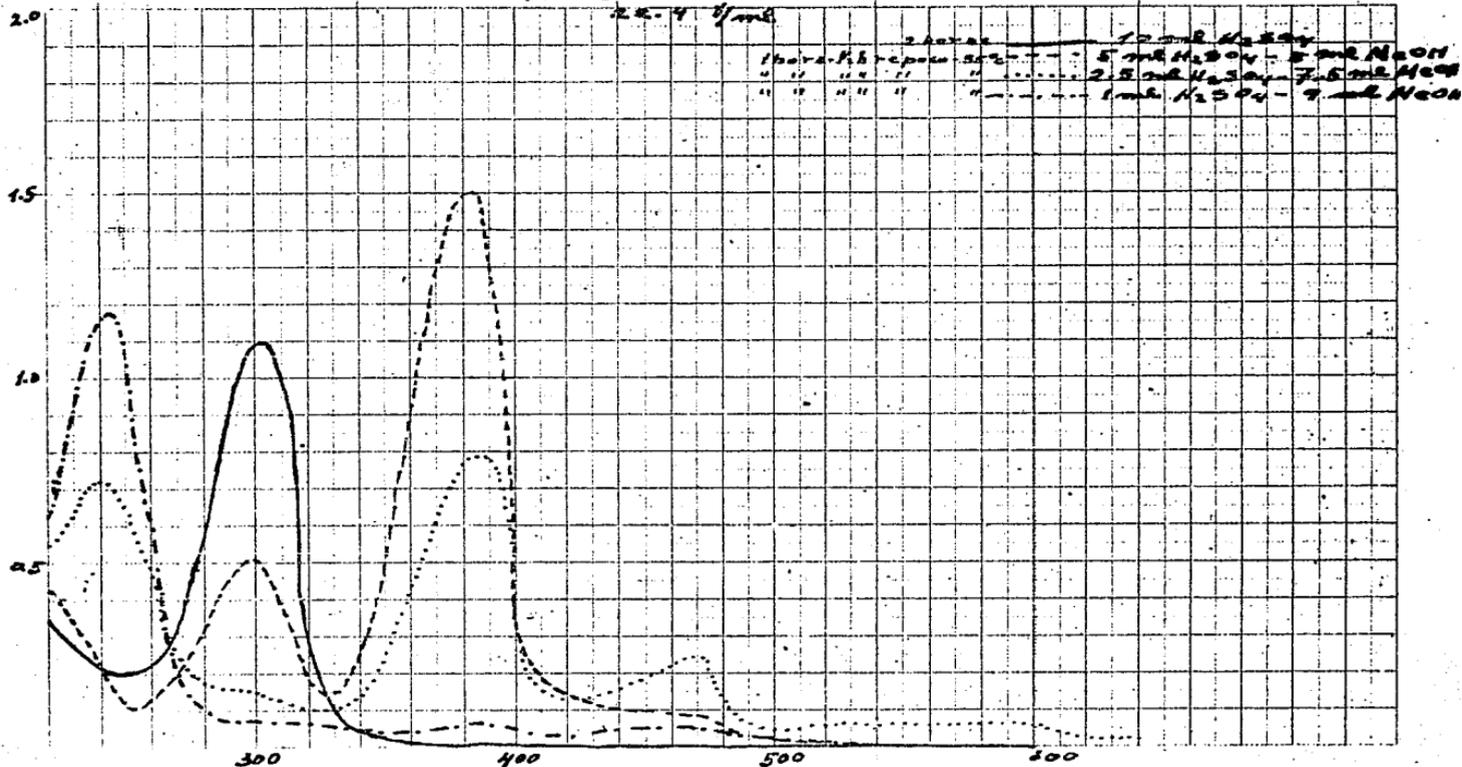


$\Delta^4$  Astragalus  
17.5.1948

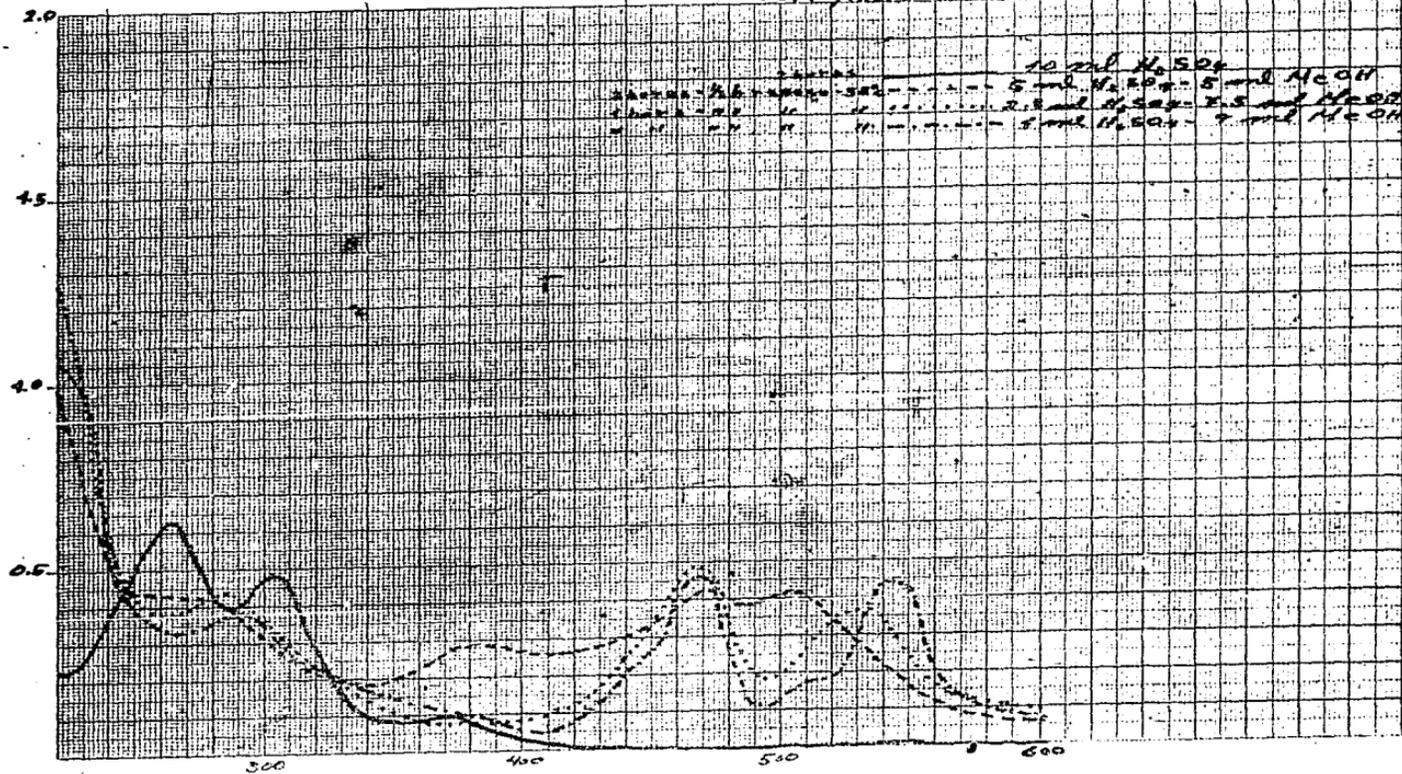


# Androstadiene

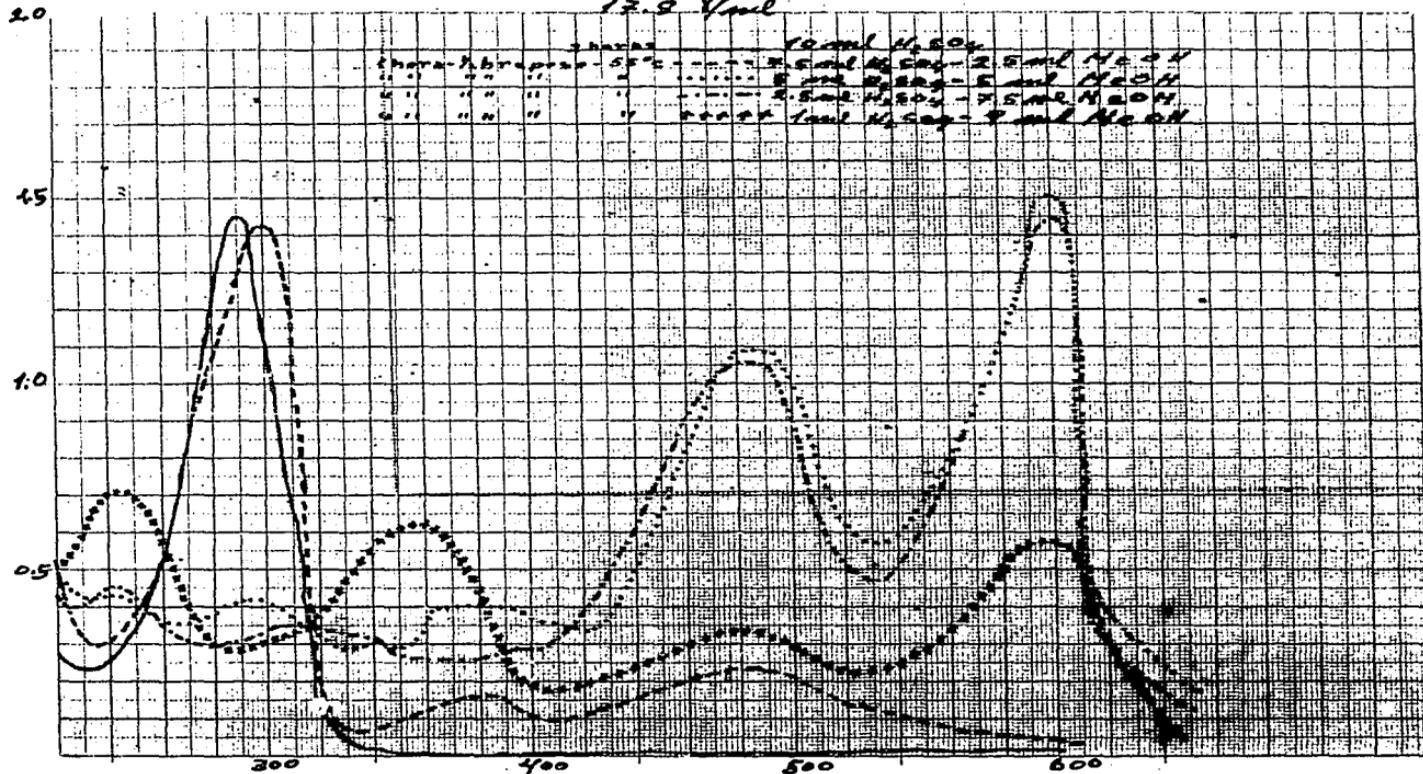
2.2-4 1/2 cm



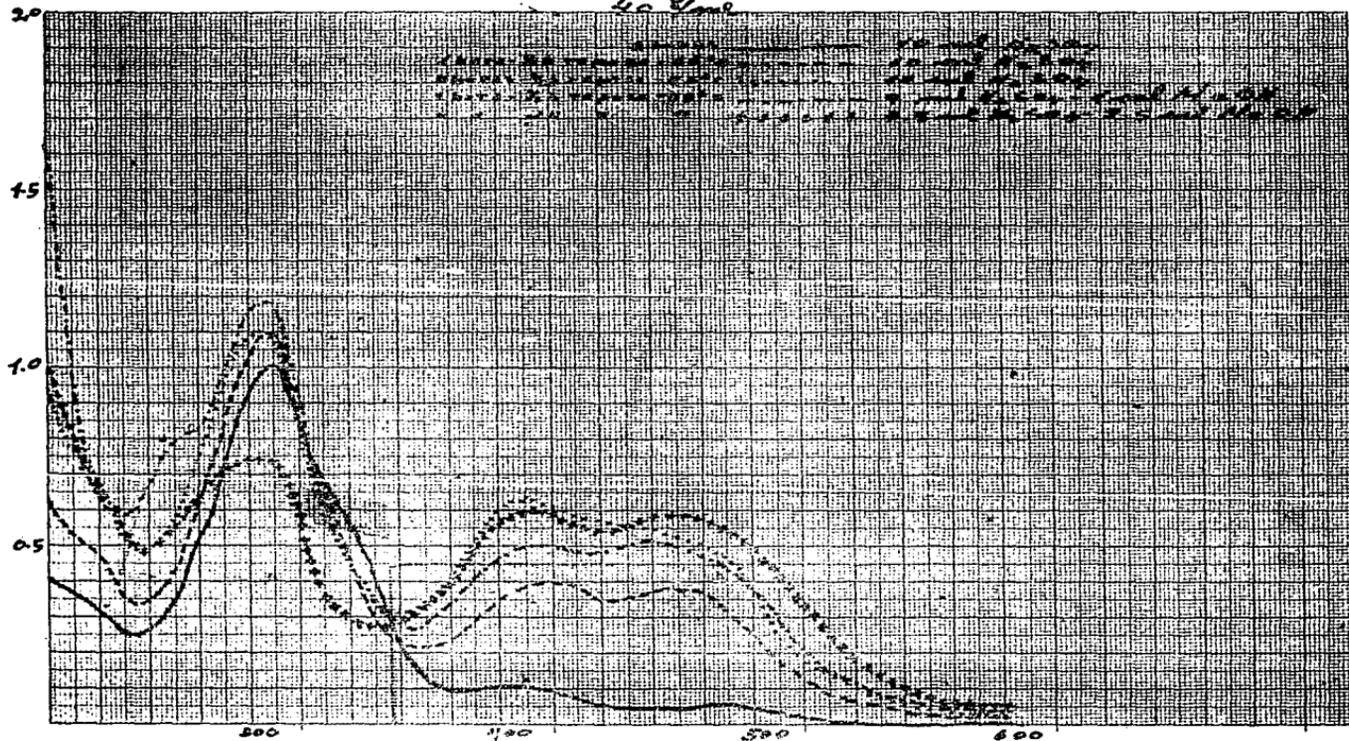
Diendiona 15.94ml



19 Nov  $\Delta^4$  Androsten 3,17  $\mu$ radiation  
 17.8  $\mu$ mol

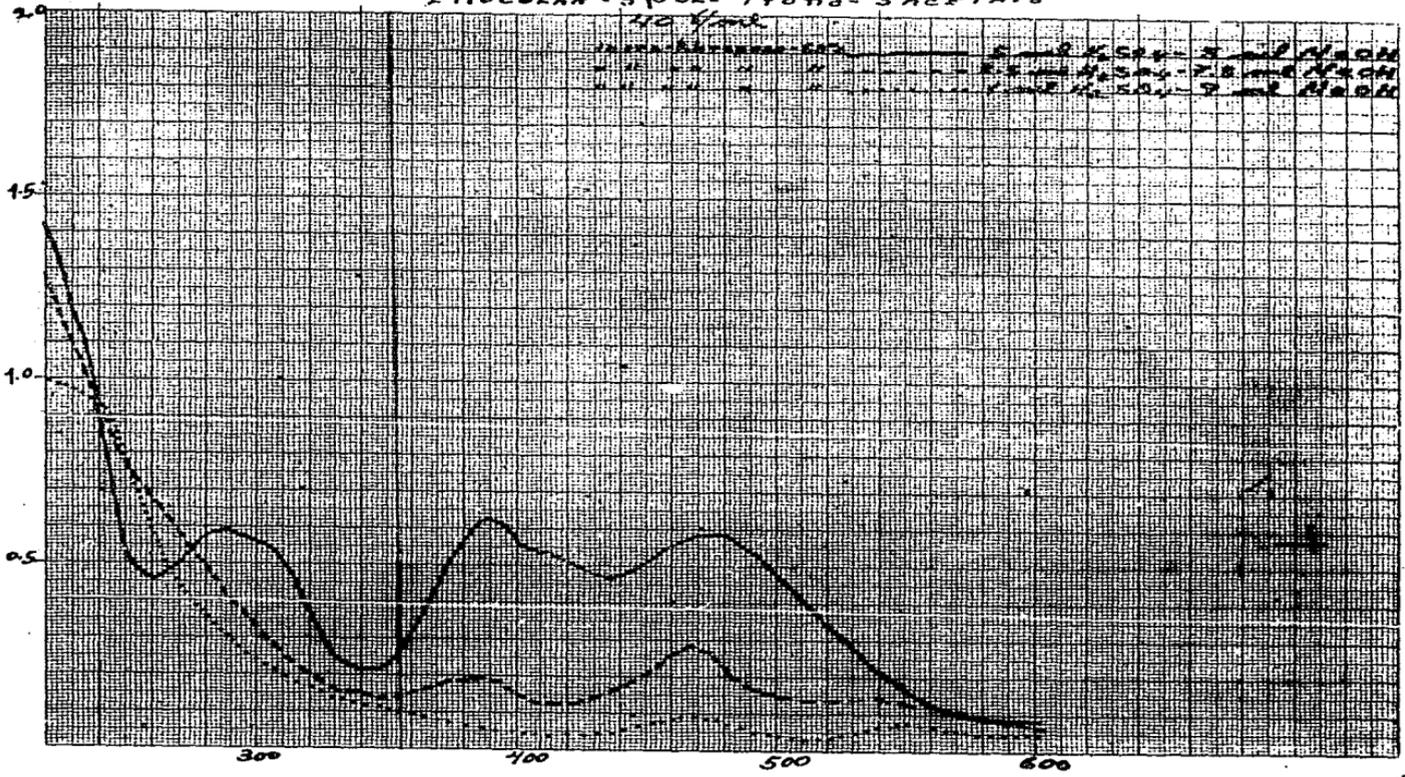


Etiocolan-3-Bal-170ns-3Acetate  
40 mg



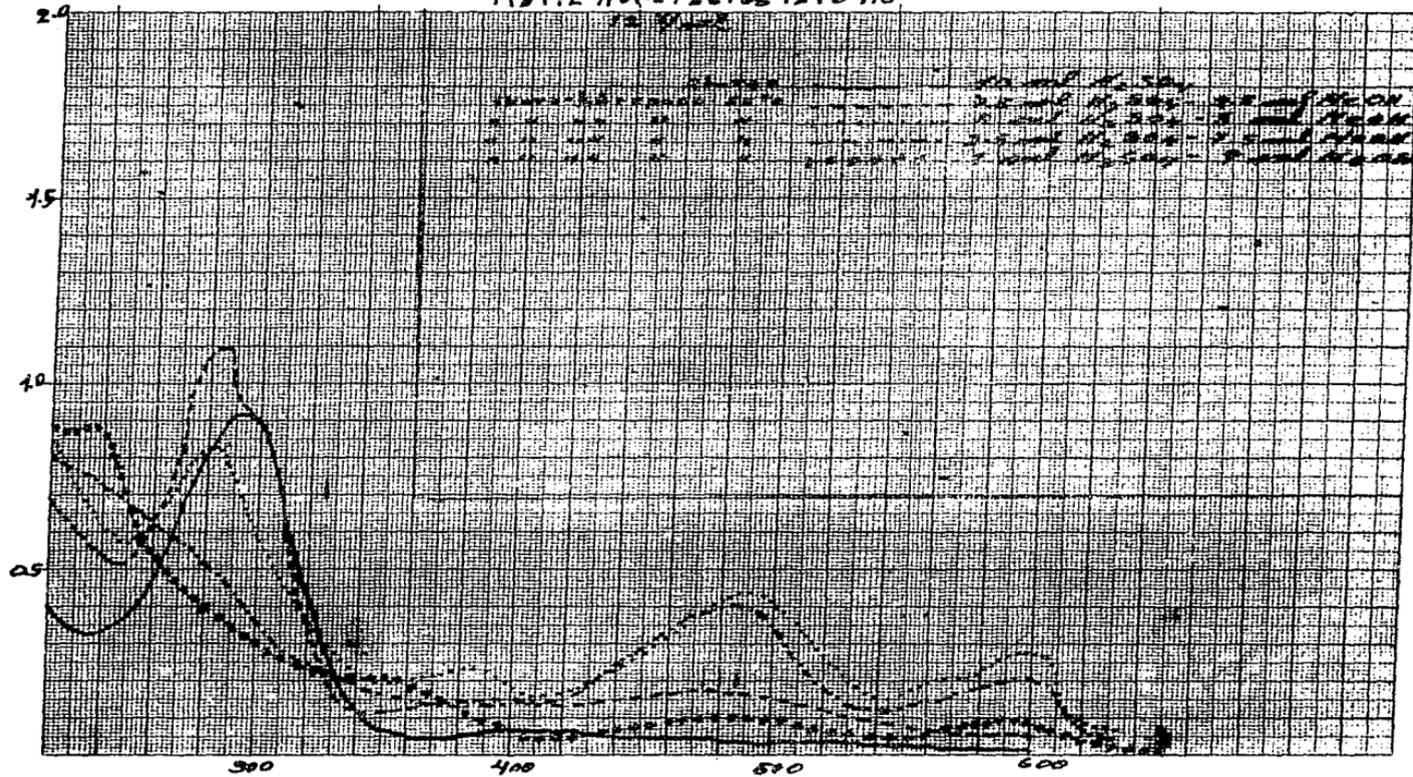
ETIOCOLAN-3βOL-17ONS-3 ACETATE

40 mg



Methyl-Nor-Testosterone

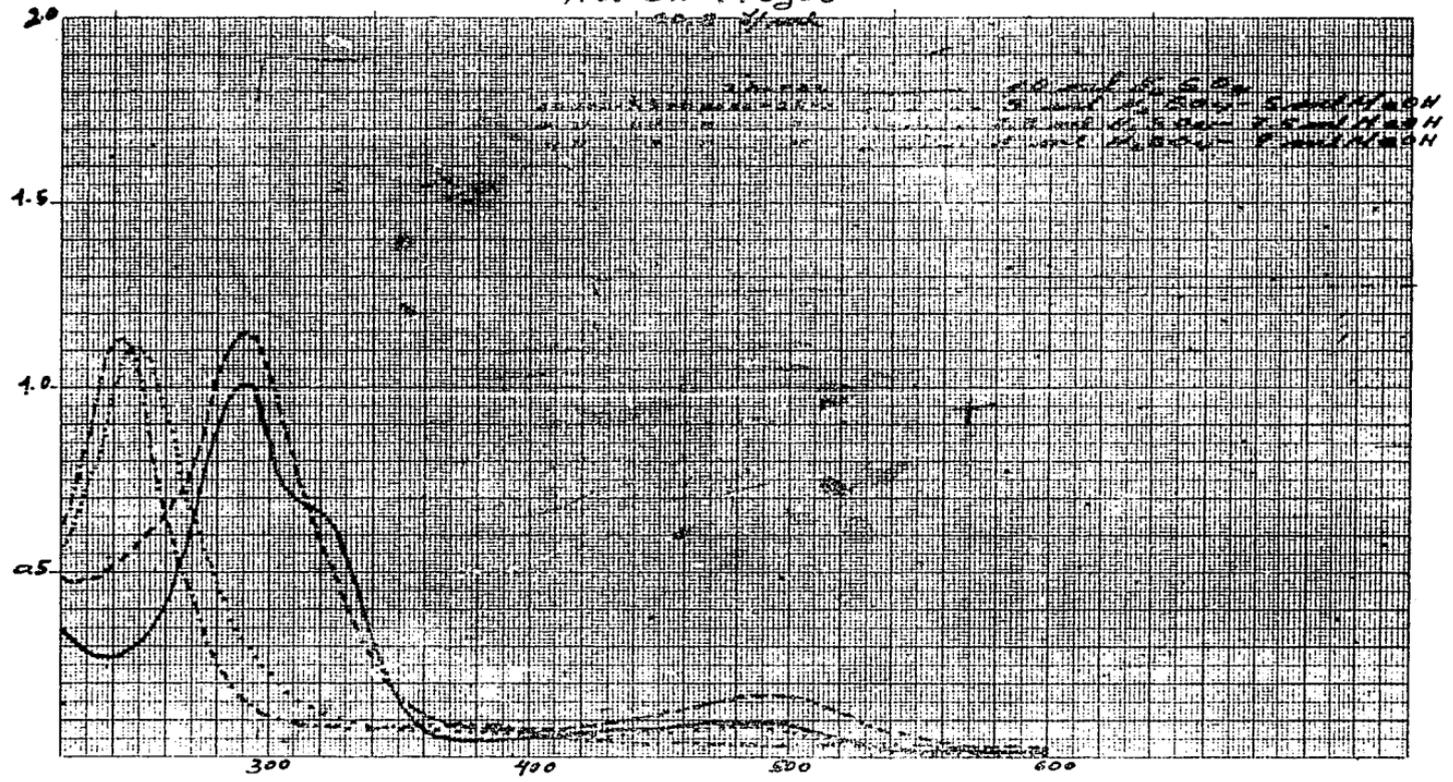
12/1/52





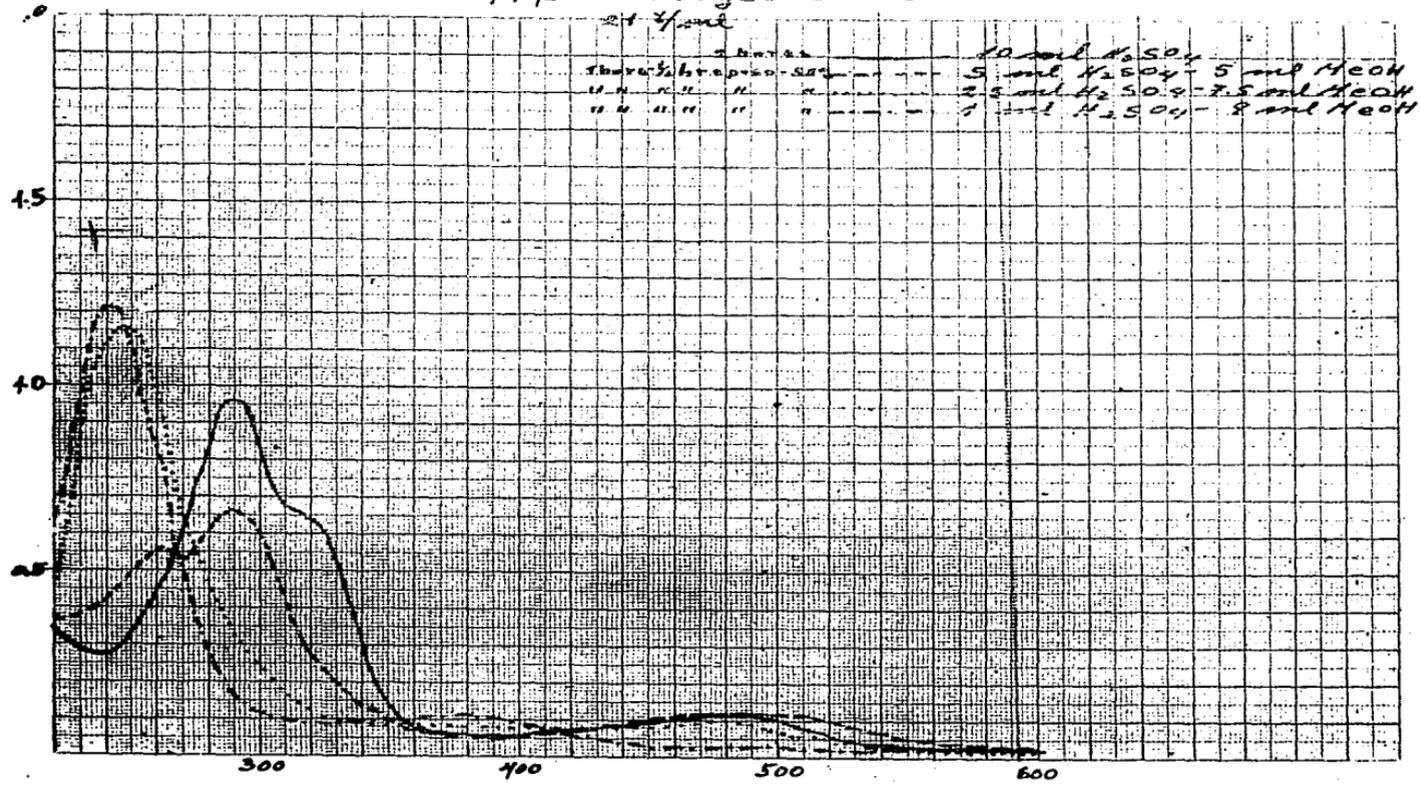
11 $\beta$ -OH-Progesterone

20.8  $\mu$ m



11 $\beta$ -OH-Progesteroona

21 4/2 ml



10 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - 5 ml MeOH  
 5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - 5 ml MeOH  
 2.5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - 7.5 ml MeOH  
 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - 8 ml MeOH

1.5

1.0

0.5

300

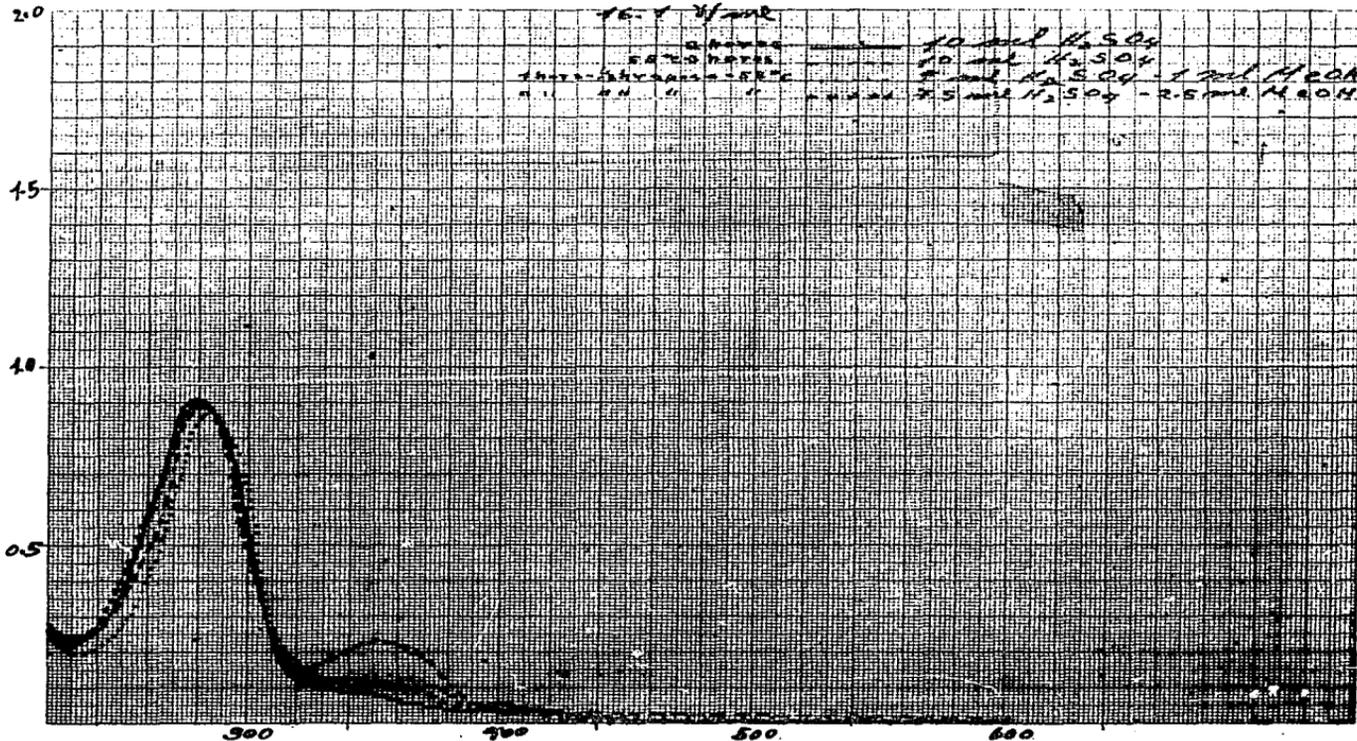
400

500

600

Adrenosterone

16.1  $\mu$ mol



Adrenosterona

16/1/54

2.0

1.5

1.0

0.5

300

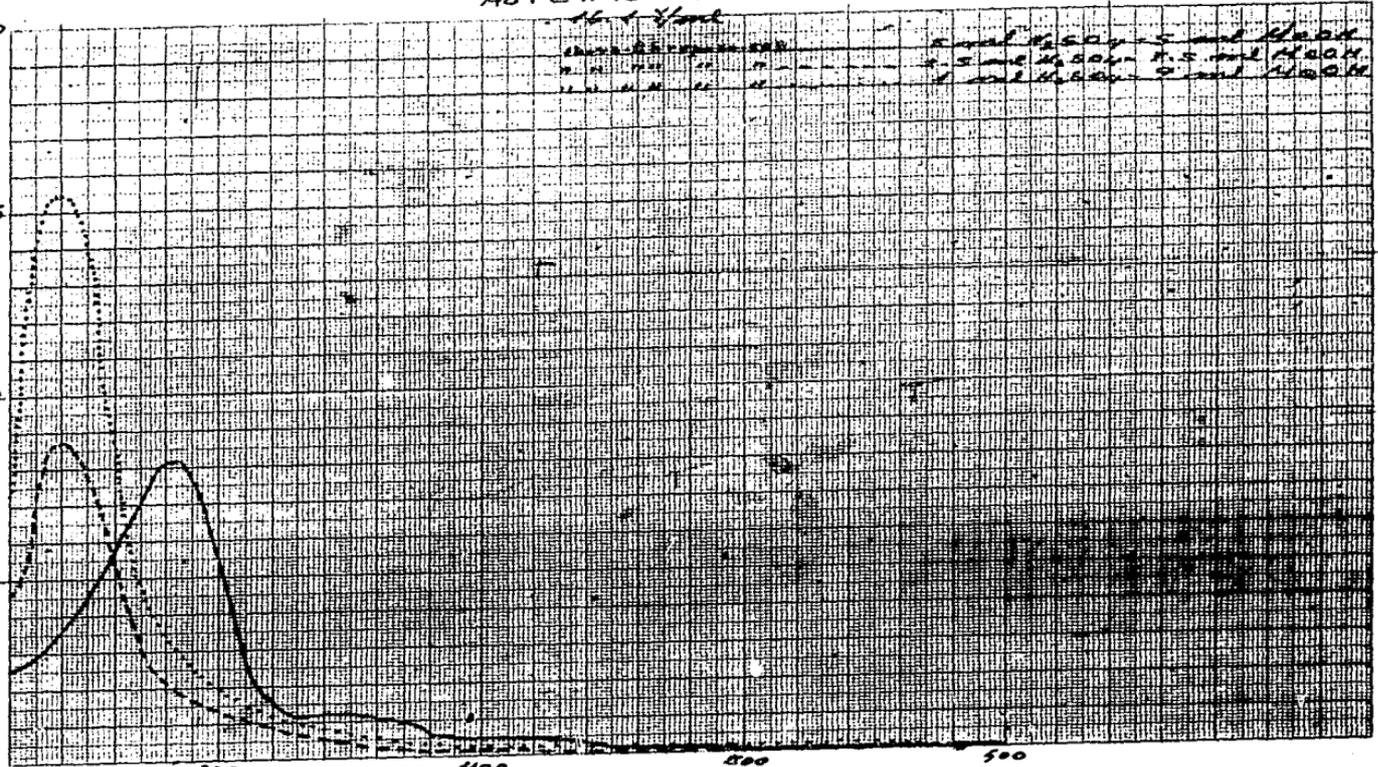
400

500

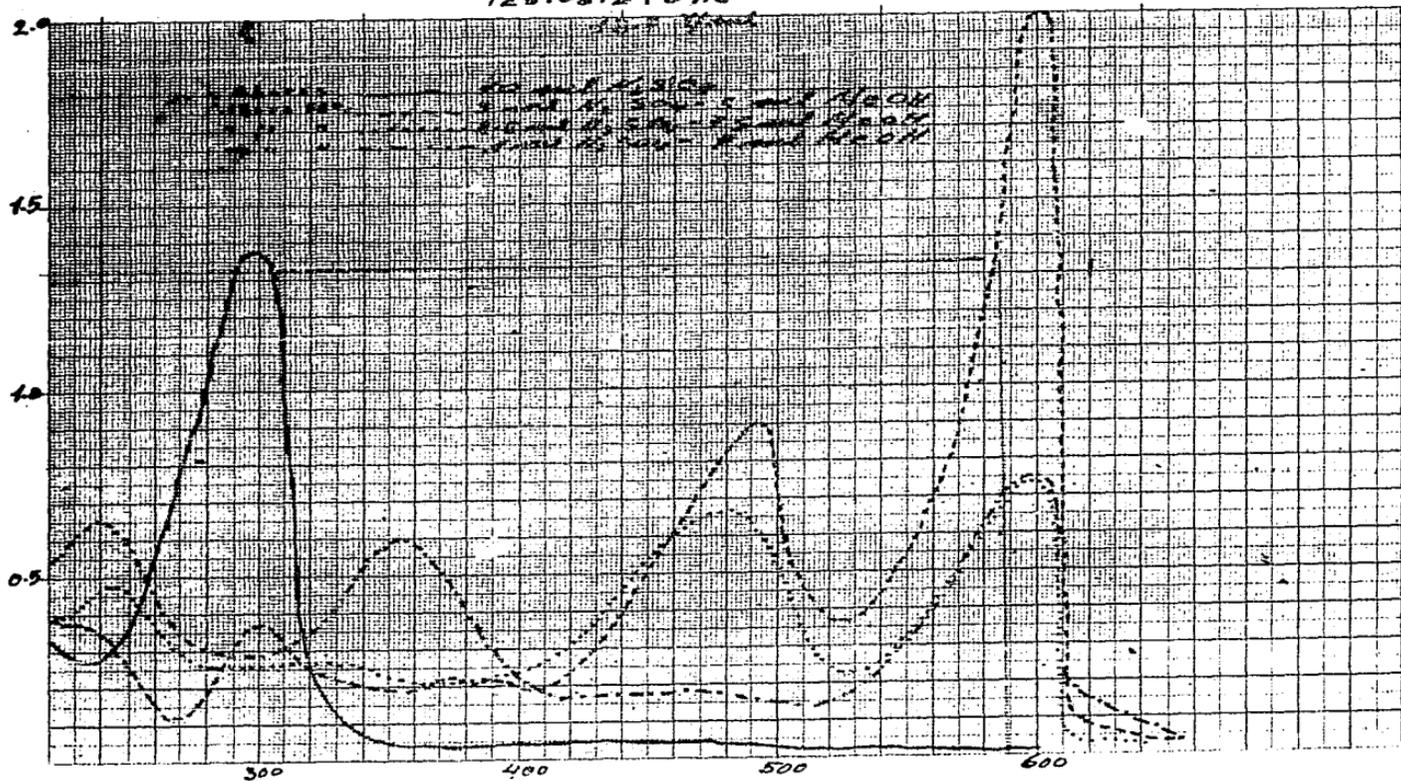
500

1000 1500 2000 2500  
1000 1500 2000 2500  
1000 1500 2000 2500

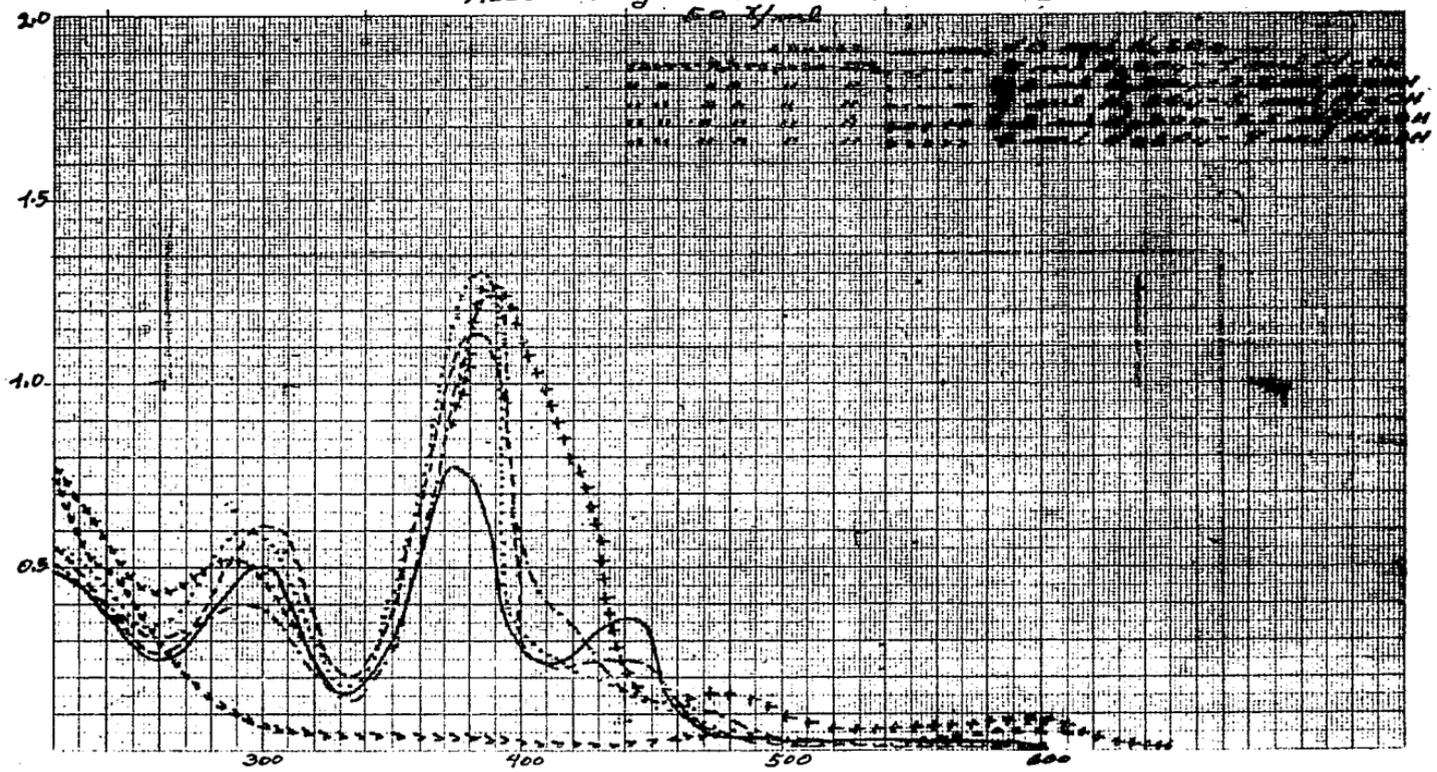
1000 1500 2000 2500  
1000 1500 2000 2500  
1000 1500 2000 2500



# TESTOSTERONE



Allo-Pregnan-21ol-3,20 diene  
50 mg/ml



## CAPITULO TERCERO

### III

#### CALCULO DE EXTINCCIONES E IDENTIFICACION ESPECTROSCOPICA

Para la diferenciación de los productos con que se trabajó, es necesario determinar:

- a).- Las longitudes de onda en las cuales la absorción es máxima.
- b).- Las extinciones a estas longitudes de onda.

Con los datos anteriores tendremos la posibilidad de diferenciarlos por lo mencionado en el punto (a), y en caso de que tuviéramos las mismas longitudes de onda de absorción máxima en dos diferentes esteroides, existe la posibilidad de diferenciarlos por medio de sus extinciones.

A continuación aparecen en una tabla las diferentes clases de extinciones que se obtienen para los diferentes compuestos que se usaron en este trabajo.

C A L C U L O S

COMPOSICION	TIEMPO	$\lambda$ MAX	D.O.	LOG $\xi$	$\xi$	E 1% 1 cm.
$\Delta^{1,4}$ PREGNADIEN 3.20 DIONA						
10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 h	264	1.01	4.021	10.505	338
		304	0.69	3.856	7.176	239
5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55°c.					
5 ml. MeOH	1/2 h reposo	274	0.77	3.903	8.008	256.5
2.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55°c.					
7.5 ml. MeOH	1/2 h reposo	259	0.77	3.904	8.008	256.5
1 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55°c.					
9 ml. MeOH	1/2 h reposo	246	0.99	4.013	10.295	330
$\Delta^4$ ANDROSTEN DIONA						
10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 h	292	1.06	4.239	17.325	606
5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 h 55°c.					
5 ml. MeOH	1/2 h reposo	246	0.4	3.805	6.388	229
		298	0.37	3.782	6.047	211.5
		374	0.3	3.690	4.903	171.5
		391	0.32	3.718	5.230	183
		485	1.04	4.230	16.993	594
		600	1.9	4.492	31.050	1085
2.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55°c.					
7.5 ml. MeOH	1/2 h reposo	245	0.42	3.887	6.864	240
		330	0.38	3.793	6.210	217
		476	1.18	4.285	19.285	617
		604	1.3	4.327	21.245	743
1 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55°c.					
9 ml. MeOH	1/2 h reposo	240	0.56	3.962	9.152	320
		354	1.50	4.389	24.515	858
		476	0.28	3.660	4.576	160
		600	0.44	3.857	7.191	251.5
ANDROSTANDIONA						
10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 h	303	1.19	4.185	15.300	530
5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55°c.					
5 ml. MeOH	1/2 h reposo	299	0.56	3.827	6.720	230
		383	1.51	4.288	19.415	675
2.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55 c.					
7.5 ml. MeOH	1/2 h reposo	240	0.72	3.966	9.257	322
		295	0.76	3.313	2.057	372

COMPOSICION	TIEMPO	$\lambda_{MAX}$	D.O.	LOG S	S	E 1 % 1 cm.
		386 472	0.78 0.24	4.001 3.489	10.030 3.086	348 107
1 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 9 ml. MeOH	1 h 55 c. 1/2 h reposo	244	1.18	4.181	15.175	528
DIENDIONA						
10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 h	245 305 372	0.62 0.48 0.1	4.044 3.933 3.252	11.070 8.575 1.786	390 302 63
5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5 ml. MeOH	2 h 55°c. 1/2 h reposo	380 470 502	0.29 0.43 0.42	3.714 3.885 3.875	5.180 7.680 7.500	182 270 264
2.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 7.5 ml. MeOH	1 h 55°c. 1/2 h reposo	287 459 534	0.43 0.49 0.37	3.885 3.942 3.820	7.680 8.750 6.610	270 308 233
1 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 9 ml. MeOH	1 h 55 c. 1/2 h reposo	291 468 544	0.38 0.46 0.45	3.832 3.925 3.905	6.790 8.217 8.017	239 289 286

## 19 NOR Δ 4 ANDROSTEN 3.17 DIONA

10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 h	290	1.46	4.349	22.300	820
7.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2.5 MeOH	1 h 55°c. 1/2 h reposo	300 386 482	1.43 0.17 0.23	4.339 3.415 3.546	21.900 2.600 3.510	804 95.5 129
5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5 ml. MeOH	1 h 55 c. 1/2 h reposo	243 296 340 364 485 600	0.43 0.42 0.3 0.4 1.09 1.51	3.818 3.807 3.661 3.786 4.222 4.363	6.570 6.420 4.580 6.110 16.650 23.100	241.5 236 168.5 225 613 849
2.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 7.5 ml. MeOH	1 h 55°c. 1/2 h reposo	244 305 394 484 600	0.46 0.35 0.29 1.06 1.44	3.847 3.728 3.647 4.209 4.343	7.030 5.350 4.430 16.200 22.000	258.5 197 163. 596 810
1 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 9 ml. MeOH	1 h 55°c 1/2 h reposo	244 358 480 596	0.71 0.62 0.34 0.57	4.035 3.977 3.716 3.940	10.820 9.475 5.195 8.710	398 348 192 320

COMPOSICION	TIEMPO	$\lambda$ MAX	D.O.	LOG $\epsilon$	$\epsilon$	E 1 % 1 cm.
ETIOCOLAN 3 $\beta$ CL 17 ONA 3 AGITATO						
10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 h	310	1	3.917	8.275	250
10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55 <sup>o</sup> c.	308	1.09	3.955	9.020	273
	1/2 h reposo	418	0.39	3.509	3.230	97.5
		470	0.37	3.476	2.993	92.5
10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3 h	304	1.1	3.859	7.230	275
	1/2 h reposo	406	0.63	3.717	5.212	159.5
9 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55 <sup>o</sup> c.	307	1.18	3.990	9.765	295
1 c.c. MeOH	1/2 h reposo	415	0.5	3.617	4.140	125
		459	0.56	3.666	4.635	140
7.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55 <sup>o</sup> c.	302	0.75	3.793	6.205	187.5
2.5 ml. MeOH		412	0.6	3.696	4.965	150
		470	0.59	3.689	4.882	147
5 cc. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55 <sup>o</sup> c.	286	0.6	3.695	4.965	150
5 cc. MeOH	1/2 h reposo	389	0.63	3.717	5.212	159.5
		476	0.59	3.689	4.882	147
2.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55 <sup>o</sup> c.	386	0.19	3.197	1.562	47.5
7.5 ml. MeOH	1/2 h reposo	486	0.28	3.365	2.317	70

## METIL NOR TESTOSTERONA

10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2h	294	0.91	4.339	2.184	75.8
7.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55 c.	285	1.9	4.659	45.600	1580
2.5 ml. MeOH	1/2 h reposo					
5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55 <sup>o</sup> c.	282	0.83	4.299	19.920	692
5 ml. MeOH	1/2 h reposo	384	0.23	3.742	5.520	192
		490	0.44	4.024	10.560	367
		598	0.28	3.827	6.720	234
2.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55 <sup>o</sup> c.	485	0.4	3.982	9.600	334
7.5 ml. MeOH	1/2 h reposo	596	0.2	3.681	4.800	167
1 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 h 55 <sup>o</sup> c.	236	0.89	4.33	21.360	741
9 MeOH	1/2 h reposo	480	0.1	3.38	2.400	83.5
		594	0.1	3.38	2.400	83.5

COMPOSICION	TIEMPO	$\lambda$ MAX	D.O.	LOG $\epsilon$	$\epsilon$	$E \frac{1\%}{1 \text{ cm.}}$
-------------	--------	---------------	------	----------------	------------	-------------------------------

## NOR TESTOSTERONA

10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 h	298 404	1.25 0.12	4.33 3.313	21.410 2.055	780 75
9 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1 ml. MeOH <sup>4</sup>	1 h 55°c. 1/2 h reposo	241 354 480 594	0.60 0.51 0.29 0.41	4.012 3.241 3.696 3.846	10.260 8.733 4.966 7.021	374 318 181 256
7.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2.5 ml. MeOH <sup>4</sup>	1 h 55°c. 1/2 h reposo	300 386 480	1.39 0.24 0.3	4.377 3.614 3.711	23.850 4.110 5.138	870 150 188
5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5 ml. MeOH <sup>4</sup>	1 h 55°c. 1/2 h reposo	278 488 600	0.55 0.8 1.7	3.974 4.137 4.464	9.419 13.700 2.910	344 502 1060
2.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 7.5 ml. MeOH	1 h 55°c. 1/2 h reposo	260 316 485 600	0.58 0.46 1.56 0.81	3.997 3.896 4.427 4.142	9.932 7.877 26.715 13.850	362 288 975 506
1 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 9 ml. MeOH	1 h 55 c. 1/2 reposo	300 388 460	1.47 0.13 0.14	3.401 3.348 3.38	2.518 2.226 2.397	920 81 87.5

11  $\alpha$  OH PROGESTERONA

10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 h	293 486	1.01 0.1	4.205 3.200	16.023 1.587	486 48
5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5 ml. MeOH <sup>4</sup>	1 h 55°c. 1/2 h reposo	291 492	1.14 0.17	4.257 3.431	18.090 2.697	550 82
2.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 7.5 ml. MeOH <sup>4</sup>	1 h 55°c. 1/2 h reposo	250	1.11	4.245	17.610	534
1 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 9 ml. MeOH	1 h 55°c. 1/2 h reposo	243	1.12	4.250	17.770	538

11  $\beta$  OH PROGESTERONA

10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 h	291 484	0.95 0.11	4.174 3.238	14.800 1.729	453 52.5
---------------------------------------	-----	------------	--------------	----------------	-----------------	-------------

COMPOSICION	TIEMPO	$\lambda$ MAX	D.O.	LOG S	S	E 1 % 1 cm
5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5 ml. MeOH	1 h 55°c. 1/2 h reposo	262 290 496	0.56 0.66 0.12	3.944 3.995 3.875	8.800 9.882 1.886	267 315 57.3
2.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 7.5 ml. MeOH	1 h 55°c. 1/2 h reposo	249 480	1.16 0.1	4.261 4.196	16.230 17.060	554 47.7
1 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 9 ml. MeOH	1 h 55 c. 1/2 h reposo	242 380	1.21 0.11	4.339 3.238	21.830 1.729	576 52.5

## ADRENOSTERONA

10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 h	280	0.91	3.229	1.696	566
10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3 h 55°c.	282 352	0.89 0.23	4.22 3.632	16.586 4.286	553 143
9 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1 ml. MeOH	1 h 55°c. 1/2 h reposo	284 358	0.87 0.13	4.210 3.384	16.210 2.412	540 80.5
7.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2.5 ml. MeOH	1 h 55°c. 1/2 h reposo	280	0.9	4.225	16.770	559
5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5 ml. MeOH	1 h 55 c. 1/2 h reposo	284	0.81	4.179	15.095	503
2.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 7.5 ml. MeOH	1 h 55°c. 1/2 h reposo	240	0.87	4.210	16.210	540
1 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 9 ml. MeOH	1 h 55°c. 1/2 h reposo	240	1.54	4.458	28.700	955

## TESTOSTERONA

10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 h	298	1.37	4.460	28.800	1000
5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5 ml. MeOH	1 h 55°c.	300 375 392 494 600	0.37 0.23 0.22 0.9 2.0	3.891 3.684 3.665 4.277 4.624	7.778 4.835 4.625 18.920 42.050	270 168 161 657 1460
2.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 7.5 ml. MeOH	1 h 55 c.	244 477 596	0.48 0.67 0.74	4.004 4.149 4.192	10.080 14.085 15.560	350 490 540

Cálculos - 6 -

COMPOSICION	TIEMPO	$\lambda$ MAX	D.O.	LOG $\xi$	$\xi$	E 1 % 1 cm.
1 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 9 ml. MeOH <sup>4</sup>	1 h 55°c.	240	0.65	4.136	13.665	474
		356	0.59	4.094	12.400	431
		599	0.75	4.198	15.770	548

ALLO PREGNAN 21 OL 3.20 DIOMA

10 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 h	298	0.5	3.521	3.320	100
		374	0.77	3.709	5.113	154
		440	0.36	4.372	23.905	72
9 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1 ml. MeOH <sup>4</sup>	1 h 55°c. 1/2 h reposo	300	0.62	3.615	4.117	124
		382	1.14	3.879	7.570	228
		438	0.25	3.220	1.660	50
7.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 2.5 ml. MeOH <sup>4</sup>	1 h 55°c. 1/2 h reposo	294	0.59	3.593	3.918	118
		384	1.2	3.901	7.968	240
5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5 ml. MeOH <sup>4</sup>	1 h 55°c. 1/2 h reposo	290	0.4	3.424	2.656	80
		386	1.23	3.912	8.186	246
2.5 ml. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 7.5 ml. MeOH	1 h 55°c. 1/2 h reposo	286	0.57	3.578	3.785	114
		388	1.27	3.926	8.433	254
		475	0.16	3.026	1.062	32

-o-o-o- 0-0-o-o-o-

## CAPITULO CUARTO

### IV

#### RESUMEN Y CONCLUSIONES.

- 1).- Se vieron en este trabajo los diferentes sistemas de cromatografía que existen y su aplicación al caso de las hormonas.
- 2).- Visto lo anterior fué posible hacer notar la gran importancia del ácido sulfúrico en la química analítica de estos - compuestos.
- 3).- Se hicieron experimentos con  $C_{18}$ ,  $C_{19}$  y  $C_{21}$  esteroides en los cuales además del ácido sulfúrico se les añadió metanol. De esta manera se logró tener espectros de absorción más diferenciados en muchos casos y además con una mayor sensibilidad.
- 4).- Se hicieron los cálculos correspondientes a cada uno de los casos los valores en las unidades usuales. Con este cuadro resulta fácil identificar una hormona, si se sigue el mismo proceso de experimentación que el usado en este trabajo.
- 5).- De todo lo anterior se puede concluir que la utilidad del metanol en dicha reacción es lo suficientemente grande como - para profundizar más en cada caso, sus efectos y ventajas.

BIBLIOGRAFIA

Fieser L y Fieser M - NATURAL PRODUCTS RELATED TO PHENANTRENE -  
Reinhold - Publishing Co - Nueva York 1949.

Gilman H - ORGANIC CHEMISTRY- Chemical Publishing Co -  
Nueva York 1945.

Taylor - Glasstone - ATOMISTICS AND THERMODINAMICS -  
Vol.I in Physical Chemistry - D Van Nostrand Co -  
Nueva York 1949.

Lord - PRACTICAL SPECTROSCOPY - Academic Press Inc -  
Nueva York 1949.



BIBLIOTECA  
CENTRAL

**SUMARIO.**

**Cap I.- El uso del ácido sulfúrico en la moderna Química Analítica de los esteroides.**

**Cap II.- Parte experimental. Acción del metanol en la reacción con ácido sulfúrico.**

**Cap III.- Cálculos de extinciones e identificación espectroscópica.**

**Cap IV.- Conclusiones.**

**Bibliografía.**