

59
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA
INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

*Modificación de Park y Mack
Para la Dosificación del
Pregnandiol en la Orina*

TESIS
que Presenta

Catalina García Sancho Villaseñor

Para obtener el Título de
QUIMICO - FARMACEUTICO - BIOLOGO



QUIMICA

Junio 26 y 27 de
1950



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 AUTONOMA DE GUADALAJARA
INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



*Modificación de Dark y Mack
Para la Dosificación del
Dregnandiol en la Orina*

TESIS
que Presenta

Catalina García Sancho Villaseñor

Para obtener el Título de
QUIMICO - FARMACEUTICO - BIOLOGO



Junio 26 y 27 de
1950

A la Santísima Virgen María.

A mis Padres.

S U M A R I O

- I.—HORMONAS.
- II.—PROGESTERONA Y SU FISILOGIA.
- III.—IMPORTANCIA DE LA DOSIFICACION DEL PREGNANDIOL.
- IV.—METODOS DE DOSIFICACION DEL PREGNANDIOL.
- V.—MODIFICACIONES DE PARK Y MACK PARA LA DOSIFICACION DEL PREGNANDIOL EN LA ORINA.
- VI.—OBSERVACIONES Y CONCLUSIONES.
- VII.—BIBLIOGRAFIA.

I.

H O R M O N A S

CONCEPTO DE HORMONAS.—En 1889 Brown-Sequard adivinó la Endocrinología Moderna al establecer, que ciertos tejidos tienen un valor secretorio para la sangre y que las diversas partes del organismo se hacen solidarias entre sí por un mecanismo diferente del Sistema Nervioso, un mecanismo humoral.

El año de 1901 Takamine y Aldrich lograron aislar de la substancia medular de las glándulas suprarrenales un producto cristalizado, la adrenalina, abriendo así el camino a los éxitos ulteriores de los endocrinoquímicos. Se pudo barruntar entonces que las glándulas de secreción interna fabrican especies químicas dotadas de propiedades biológicas especiales. A estos productos nacidos del organismo es a los que Starling dió en 1905 el nombre de **Hormonas**.

Entre 1889 y 1905 se elaboró pues en los espíritus la teoría hormonal cuya fecundidad es inmensa tanto desde el punto de vista de la ciencia pura, como de las aplicaciones terapéuticas.

Para entender bien la importancia biológica de las hormonas es necesario no perder de vista la noción de las regulaciones fisiológicas. Todo ser vivo responde continuamente a las excitaciones del medio en que está sumergido por modificaciones orgánicas que le permiten conservar un cierto equilibrio interior a despecho de las variaciones de las condiciones exterior-

res. Por otra parte, las manifestaciones de la vida llevan consigo ritmos que transcurren generalmente con regularidad en medio de las vicisitudes que rodean o afectan a todo organismo. Los reguladores son los medios que aseguran al organismo cierta duración y constancia de composiciones. Estos medios son siempre medios químicos o fisicoquímicos. Las regulaciones son los mecanismos de ejecución de los medios fisicoquímicos.

Hasta los últimos años del siglo pasado se conocían sobre todo las regulaciones nerviosas del tipo reflejo, es decir, las supuestas motrices automáticas de los músculos, de las glándulas, de los vasos a las excitaciones por el intermedio del sistema nervioso.

Basándose en estos conocimientos, Starling y Bayliss descubrieron que la armonización de los órganos del cuerpo no está asegurada solamente por el sistema nervioso, al cual se le reservan las regulaciones rápidas, lo está también por las sustancias químicas elaboradas en diversos puntos del organismo, las Hormonas que transportadas por el medio interior van a despertar más lejos pero con bastante lentitud, ciertas actividades sobre las cuales ejercen un control específico.

En definitiva, una Hormona es una sustancia química elaborada por un tejido glandular, vertida en la sangre la cual la lleva a ponerse en contacto con ciertos elementos u órganos reaccionales, sobre los cuales ejerce una acción específica.

Propiedades. -Actúan en el organismo en cantidades muy pequeñas cuya acción toca los límites de lo misterioso. Así por ejemplo en experiencias llevadas a cabo en ratas se hace ostensible la acción de 1-25,000 miligramos de Hormona sexual.

Tienen propiedades específicas, pues actúan en un órgano determinado después de pasar a la sangre y a los humores; no tienen un peso molecular elevado, pertenecen a grupos químicos bastante variados que no se comportan como antígenos.

Son según dicen P. Saintón y H. Simonnet, catalizadores, receptores o donadores de oxígeno e hidrógeno y con toda seguridad sustancias relativamente simples, algunas de las cuales se asemejan por su naturaleza química y sus propiedades biológicas a los alcaloides. Se presentan bajo formas diversas y reconocen diverso origen así por ejemplo: la adrenalina se origina en la médula suprarrenal, la tiroxina en la glándula tiroides, la testosterona en el testículo, la progesterona en el ovario (cuerpo amarillo), la insulina en el pancreas, la secretina, en la mucosa duodenal, etc.

Extensión de la noción de Hormona.—Si bien hemos dicho que las hormonas son productos endócrinos, podemos asegurar también que no todos los productos endócrinos son hormonas: según Gley los productos endócrinos se pueden clasificar en cuatro categorías:

1o.—Las sustancias nutritivas que son utilizadas en el organismo para su consumo energético como la glucosa, o para la reparación sanguínea como el fibrinógeno.

2o.—Las sustancias morfológicas que actúan en el curso del crecimiento asegurando a los seres vivos un desarrollo armónico.

3o.—Las Hormonas propiamente dichas; excitantes funcionales específicos.

4o.—Las Parahormonas o productos de deshecho tales como la urea o el anhídrido carbónico, cuya función ya sea en la diuresis o en la función respiratoria, es conocida.

A esta clasificación de productos endócrinos corresponde una cierta lista de tejidos u órganos productores, comprende:

1o.—El grupo bien caracterizado de las glándulas endógenas: la epifisis, la hipófisis, la glándula tiroides, las glándulas paratiroides, las glándulas suprarrenales, y los paraganglios, el pancreas endócrino, las gonadas (ovario y testículo).

2o.—El grupo de los tejidos hormonógenos: mucosa estomacal, mucosa intestinal, placenta.

3o.—Un grupo de espera que comprende tejidos y órganos que fabrican tal vez Hormonas: timo, glándula mamaria, glándulas salivares, hígado, corazón, sistema nervioso vegetativo, bazo, sistema retículoendotelial, ganglios linfáticos, riñones, pulmón, neuróglia, piel.

4o.—Un grupo de tejidos y de órganos que fabrican sustancias nutritivas en cuya primera fila debe colocarse el hígado.

5o.—Un grupo muy extenso de células, de tejidos y de órganos ligados a la producción de sustancias de deshecho que desempeñan una función fisiológica (hígado, riñón, etc.).

Transmisión y Eliminación.—No hay seguridad todavía acerca de la forma química que revisten las Hormonas a su nacimiento en las células glandulares, ni lo estamos tampoco de la forma que afectan en el medio interior en el curso de su tránsito en el seno del organismo.

Nuestros conocimientos de química biológica se hayan lejos del fin perseguido. La cuestión se ha complicado más por el hecho de que en el medio interior es posible que ciertas Hormonas no existan bajo la forma química que sirve de referencia. En el estado actual de la Hormonología, los métodos biológicos son todavía los que permiten certificar con más seguridad, el tránsito de los principios Hormonales al medio interior. Bajo una forma pura o bajo una forma química indeterminada, pero que permiten sin embargo, la manifestación de alguna de sus actividades, las Hormonas están pues, o pueden estar presentes en un momento dado en el medio interior: sangre o linfa.

No son forzosamente utilizadas en el organismo y entonces quedan almacenadas en ciertos lugares en los que es posible denunciarlas por medio de reactivos biológicos o químicos.

Sin embargo, a pesar de lo dicho anteriormente es debido citar que existen graves razones para pensar que el sistema nervioso y sobre todo, el sistema nervioso vegetativo, constituye también un vehículo para ciertas Hormonas.

Después de haber atravesado el organismo, las Hormonas se eliminan por el tubo digestivo, riñones, glándulas salivares.....

Las orinas constituyen el vehículo más cómodo para el estudio de eliminación de sustancias hormonales, sin que la mayoría de las veces pueda afirmarse que los principios definidos o que puedan obtenerse de ellas, y que poseen las mismas propiedades farmacodinámicas que los extractos endócrinos, sean idénticos a las sustancias fabricadas por las glándulas

A pesar de estas incertidumbres, el estudio de las Hormonas en las orinas ha adquirido una importancia considerable desde el triple punto de vista científico, industrial y médico.

En esta tesis nos limitaremos a estudiar a la Hormona del cuerpo amarillo, la progesterona, que es eliminada en la orina bajo la forma de Pregnandiol

II.

PROGESTERONA Y SU FISILOGIA

La Progesterona.—(Corporina, Lutehormona, Luteína, Progestina).—Los experimentos ya clásicos de Ancel y Bouin han mostrado, sin posible réplica, que es exactamente el cuerpo amarillo, glándula endócrina, la responsable de la aparición de las estructuras pregravidicas del tractus genital.

El cuerpo amarillo ejerce su acción característica sobre el tractus genital por medio de una Hormona: **la progestina.**

Propiedades Físico-Químicas.—La progestina se ha obtenido en estado cristalizado. Es una dicetona no saturada de fórmula $C_{21}H_{30}O_2$ que posee intacto el esqueleto tetracíclico de la colesteroína de donde se deriva.

Es muy afín a la testosterona del testículo.

Se le extráe del cuerpo amarillo, especialmente del cuerpo amarillo de la cerda, pero se ha podido realizar su síntesis partiendo de una substancia fisiológicamente inactiva; el pregnandiol que se encuentra en la orina de las mujeres embarazadas y de un esteroles vegetal, el estigmasterol de la simiente de soja.

Se conocen dos formas, alfa y beta de progesterona, que difieren en sus puntos de fusión + 128 y 121°.



La Hormona del cuerpo amarillo se elimina por las orinas bajo la forma del pregnandiol combinado con ácido glicurónico.

PROPIEDADES SEXUALES DE LA PROGESTERONA

- 1).--Posee ante todo la propiedad de terminar el desarrollo de la estructura pre-trávidica del endometrio, a condición de que el útero haya sido previamente sensibilizado por la foliculina
- 2).--Inhibe las contracciones uterinas espontáneas en el conejo hembra. En la mujer, fuera de la gestación, el útero no es sensible a la pituitrina durante la segunda parte del ciclo menstrual, período durante el cual el tractus genital está colocado bajo la influencia del cuerpo amarillo.
- 3).--Estimula el crecimiento de las glándulas mamarias hasta un grado mayor del que lo era la estrina
- 4).--Ayuda a conservar la proporción de estrina al estimular la secreción de dicha sustancia
- 5).--Administrada, puede evitar la inhibición estrogénica del flujo sanguíneo

Valoración:-- La progesterona se valora en la mucosa uterina del conejo según el test de **Comer Allen Clanberger**.

Como unidad conejo se considera, la cantidad que inyectada en cinco días consecutivos provoca en tres animales una transformación de la mucosa uterina hacia el período segundo.

Una unidad internacional corresponde a un miligramo de progesterona.

METABOLISMO DE LA PROGESTERONA

FUENTES DE PRODUCCION

A) —**Cuerpo Amarillo.**—En 1903, Fraenkel demostró, que el cuerpo amarillo, era esencial para sostener el embarazo.

En 1928, Corner preparó extractos de cuerpo amarillo, capaces de substituir funcionalmente este órgano.

En 1934, el aislamiento de la progesterona del cuerpo amarillo, fué anunciado simultáneamente por Butenand, Slotta, Allen y Hartmann

B) —**Placenta.**—La actividad progestínica de los extractos de Placenta, fue demostrada en 1932 por Goldstein, en general se asegura, que la placenta es un sitio importante en la elaboración de la progesterona.

C).—**Cápsulas Suprarrenales.**—Por mucho tiempo se creyó que la producción de la progesterona estaba reservada a la mujer, sin embargo evidencias indirectas nos mostraron más tarde, una nueva fuente de producción. En 1938 Beall aisló la hormona de extracto de cápsulas suprarrenales.

Aislamiento de Productos que se originan de la Progesterona.—En 1929 o sea, cuatro años antes del aislamiento de la progesterona, Marian obtuvo pregnandiol, de orina de mujeres embarazadas. Este producto de reducción de la progesterona se encontró inactivo como progestínico, lo mismo sucede con todos los demás esteroides aislados.

La orina de mujer embarazada y de algunos mamíferos es una buena fuente de esteroides.

Como ya hemos dicho, en la orina humana el pregnandiol se encuentra en conjugación con el ácido glicurónico y este complejo no se encuentra en otros mamíferos.

La cantidad de progesterona elaborada en el organismo en un período dado, podría ser estimado, por el efecto biológico.

co producido por la Hormona, es decir por la extensión de la proliferación del endometrio. Vennig y Browne estudiaron la excreción del pregnandiol en el cuerpo del ciclo menstrual y nos muestran que está relacionado con la formación y regresión del cuerpo amarillo. Durante la fase de secreción del ciclo menstrual fueron secretadas diariamente de uno a ocho miligramos de pregnandiol.

El máximo de excreción fué en la última mitad del ciclo menstrual y la excreción de pregnandiol cesó rápidamente antes de la menstruación. Podría suponerse que el cuerpo amarillo es el principal órgano elaborador de progesterona en la mujer no embarazada. La excreción del pregnandiol en la mujer embarazada es marcadamente acentuada después de los dos meses de la gestación, aumenta progresivamente y cae precipitadamente en el parto.

La cantidad de pregnandiol excretado durante el embarazo es aproximadamente de 10 a 100 miligramos diarios.

La placenta sobrepasa al cuerpo amarillo en la producción de progesterona después del segundo mes del embarazo y puede llegar a ser independiente de este segundo órgano. Jones y Weil han obtenido el complejo del pregnandiol de la orina de una mujer embarazada y ovariectomizada.

La desoxicorticosterona puede ser también convertida en pregnandiol. Engel encuentra aproximadamente 0.06 miligramos de pregnandiol por litro de orina en el hombre y en la mujer ovariectomizada 0.1 miligramos por litro o sea menos que la cantidad reportada para la mujer normal.

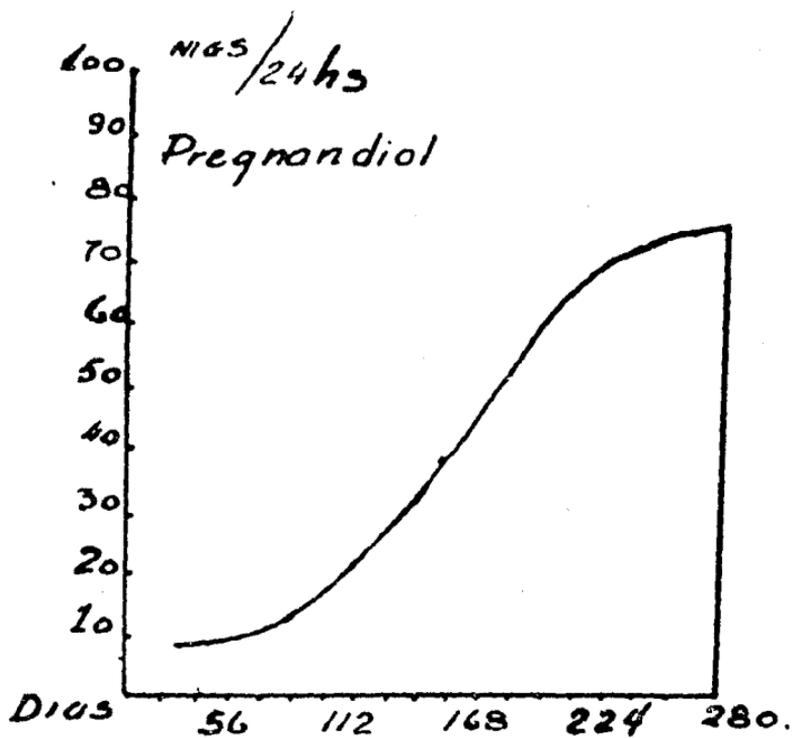


FIG. No. 1.—La Excreción urinaria del Pregnanediol en el embarazo normal (ocho casos) (Venning) (1938) (del Journal Químico-Biológico).

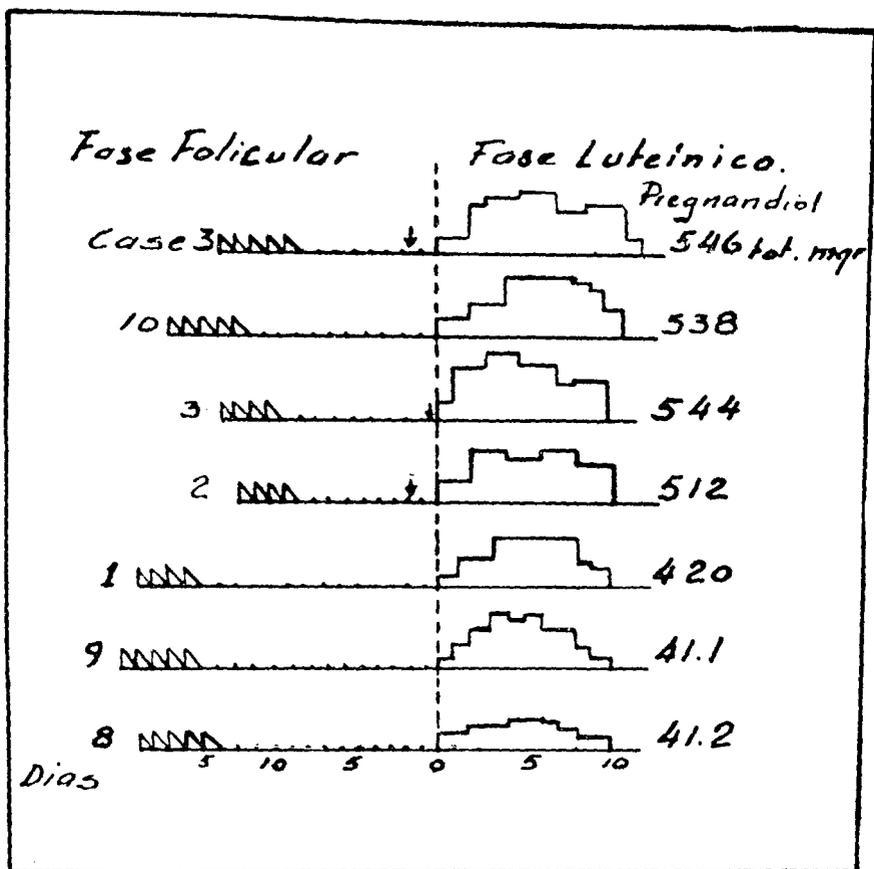


FIG. No. 2.—La excreción del pregnandiol durante los ciclos menstruales (Venning & Browne) (1937) (218). Las líneas horizontales representan, la duración de dichos ciclos; las líneas oblicuas al principio del ciclo representan los días de la hemorragia mensual. La parte sombreada es la excreción del pregnandiol en mg. por día. La hemorragia intermenstrual o el dolor intermenstrual se denota por una flecha arriba de la línea horizontal.

III.

IMPORTANCIA DE LA DOSIFICACION DEL PREGNANDIOL

La Progesterona a fin de que pueda llenar sus funciones es necesario que se produzca y se encuentre circulante en el torrente sanguíneo en cantidades apropiadas para guardar el equilibrio necesario con las demás hormonas para que pueda actuar sobre los órganos sensibles.

Los estados patológicos de una mujer embarazada, así como de una ginecopatía pueden ser originados por la producción desequilibrada de las distintas hormonas sexuales y desde luego vemos que la progesterona es una hormona de las que tienen mayor influencia en la función fisiológica de la mujer normal y de la mujer embarazada.

Estos desequilibrios hormonales sin importarnos desde nuestro punto de vista de etiología, ya que sólo necesitamos conocer cuantitativamente la producción, solamente los conoceremos dosificando la hormona o sus productos de transformación, en nuestro caso particular el pregnandiol ya que con bastante frecuencia ni siquiera los datos clínicos recogidos por el médico especialista son suficientes para llegar a un diagnóstico certero; desde luego, los datos clínicos nos hacen sospechar alguna deficiencia en la producción de tal o cual hormona pe-

ro solamente tenemos la seguridad de ello comprobándolo mediante la dosificación de ellas. ¡cuantas veces un médico sospecha de una deficiencia de progesterona! en una amenaza de aborto, dismenorreas, oligomenorreas, etc y sin embargo a pesar de administración de la Hormona los síntomas no se modifican y al verificar una cuantificación de progesterona se encuentra en cantidades normales

IV.

MÉTODOS DE DOSIFICACION DEL PREGNANDIOL

**Una técnica simplificada para la determinación cuantitativa
colorimétrica del pregnandiól en la orina.**

Henry S. Guterman and Madeline S. Schroeder.
J Lab Clin Med 33-356-66 (1948)

100 c.c. de orina se vierten en un frasco con fondo redondo, se añaden 50 c.c. tolueno, 10 c.c. HCl conc. y dos perlas de vidrio.

Se hierven fuertemente bajo un condensador de reflujo por 15 minutos, se enfría, se separa y se tira la capa acuosa.

El tolueno se lava dos veces con 15 c.c. de Na OH N/10 y dos veces con la misma cantidad de agua.

Se hierve entonces en un frasco Erlenmeyer bajo una campana.

Luego se añaden 10 c.c. de una sol. de NaOH al 2% en metanol absoluto y se evapora hasta que aparezca un precipitado granuloso.

Todavía en caliente se filtra por un filtro de vidrio (glass fritted filter), el filtrado debe estar de color amarillo o verde.

Se lava el precipitado con tolueno caliente y los dos líquidos combinados se evaporan hasta sequedad.

El residuo se disuelve en 5 c.c. de acetona (calentando suavemente), se añaden 20 c.c. de NaOH N 10, se hierve por tres minutos y se guarda en el refrigerador por una hora

Se filtra por un filtro de vidrio y el precipitado se lava con 15 c.c. de agua

El residuo se disuelve en el filtro en 10 c.c. alcohol etílico absoluto y se filtra a un frasco nuevo

La solución se evapora bajo una campana, se añaden 10 c.c. H₂SO₄ conc. después de una hora se diluye una porción adecuada a 5 c.c. con H₂SO₄ conc. y se determina el color de un electrofotómetro en la onda 430-440 m μ

Determinación del pregnandiol en la orina para uso diagnóstico.

Dora Huber (Universidad Gynecol. and Obstet. Clinic Zurich, Switz) Biochem J 41, 609-11 (1947)

De la cantidad de orina seleccionada en 24 horas se miden 100 c.c. se añaden 50 c.c. de tolueno y 10 c.c. de HCL conc. y se hierve bajo un condensador de reflujo por 15 minutos

Se enfría, se pasa a un embudo de separación, se desecha la capa de orina y se lava la capa de tolueno dos veces con 15 c.c. de NaOH N 10 y dos veces con 15 c.c. de agua

Se hierve entonces para evaporar el agua, se enfría hasta 30-40°C y se trata la solución con 10 c.c. de una solución de NaOH al 15% en alcohol metílico absoluto. Se evapora otra vez hasta que la solución tenga un color verde-amarillo y todavía en caliente se filtra por un filtro de vidrio

El precipitado se lava con 15 c.c. de tolueno caliente y los filtrados combinados se evaporan hasta sequedad, removiendo las últimas huellas de tolueno. El residuo se disuelve en 4 c.c. de benceno y se pasa por una columna de Al₂O₃, (columna: 10 x 120 MM)

La columna se lava dos veces con 3 c.c. de benceno, cuatro veces en 3 c.c. de éter al 20% en benceno. Evaporando las soluciones de benceno al vacío queda un residuo cristalino. Este residuo se lava con un c.c. de éter absoluto y se pesa. El residuo purificado por recristalización de alcohol metílico tiene un punto de fusión de 234-236°

Determinación rápida del pregnandiol en la orina.

Método para uso clínico.

I. F. Sommerville, G. F. Marran and R. J. Kellar.

(Univ. of Edinburgh, Scot.)

Lancet 255, 89-90 (1948)

100 c.c. de orina y 50 c.c. de tolueno (que no tiene sulfuro) se mezclan y se hierven; se añaden 10 c.c. de HCL conc. y se calienta la mezcla por diez minutos. Después de enfriar, se separa la capa de tolueno y se filtra.

Se lava dos veces con NaOH y H₂O.

El residuo, después de evaporación hasta sequedad bajo presión reducida, se pasa a un tubo de ensayo mediante alcohol etílico caliente.

Esta solución se evapora hasta sequedad.

Se añaden 20 c.c. de NaOH N:10 y se calienta el tubo por dos horas a 37°.

Se filtra por lana de vidrio y el precipitado se pasa a otro tubo mediante alcohol etílico caliente.

Se añaden 1-2 mg. de carbón decolorante y se calienta en baño María por dos minutos, se filtra otra vez y se evapora.

Se añaden 10 c.c. N₂SO₄ conc. y se pone el tubo a un baño María de 250° por veinte minutos.

La intensidad del color amarillo producido se determina en un espectrofotómetro (filtro violeta).

DETERMINACION DEL PREGNANDIOL EN LA ORINA

Lab. Abbot.

Se usa una espécimen de orina de 24 horas. Mídase y tó-mese una cantidad que pueda contener de 0.02 a 0.04 gms. de pregnandirol combinado (aproximadamente un litro). Esta cantidad se extrae, agitando en un embudo separador con poco más o menos la tercera parte de su volumen de alcohol butílico dividida en cuatro partes de tamaño decreciente (200, 75, 50 y 50 c.c. para un litro). Los extractos combinados son centrifugados o se dejan reposar hasta que se clarifiquen y el alcohol butílico supernatante se vacía en un frasco destilador se lava una vez el precipitado con alcohol butílico y una vez lavado se añade al frasco. El contenido del frasco se evapora al vacío hasta sequedad. El residuo que queda en el frasco se recoge en 60 c.c. de sosa N/10 y esta solución es extraída nuevamente cuatro veces con alcohol butílico en proporciones de 20, 20, 10 y 10 c.c. Los extractos combinados se lavan dos veces con 5 c.c. de agua, se dejan reposar hasta que se clarifiquen y se reducen a sequedad como antes.

Al residuo se añaden exactamente 5 c.c. de agua y se calienta el frasco a 50° C. Se añaden aproximadamente 10 c.c. de acetona y después de que se haya disuelto totalmente el residuo se transfiere a un Erlenmeyer de 125 c.c. El frasco original se lava varias veces con acetona de suerte que el volumen final sea 100 c.c.

El contenido del Erlenmeyer se deja reposar durante la noche en el refrigerador a una temperatura de 5 a 10° C., donde se forma un precipitado blanco. Puede extraerse por succión la mayor parte del líquido supernatante, el resto se separa del precipitado por centrifugación. El precipitado del frasco y del tubo centrifugador se disuelve en alcohol etílico caliente al 95% y se filtra en un frasco de pico pesado con anticipación.

Después de evaporar el alcohol, el contenido del frasco de pico puede determinarse pesándolo por segunda vez. Si se desea obtener una lectura verdaderamente cuantitativa puede repetirse una segunda vez la precipitación con acetona y agua.

El porcentaje de material recobrado varía con la cantidad originalmente presente y con la cantidad de agua usada con la acetona en la segunda precipitación.

Si se usaron 3 cc de agua en la segunda precipitación, 0.002 a 0.004 gm presentan el 70% de la cantidad presente; 0.005 a 0.01 amo. representan el 80% de la cantidad presente; y 0.011 a 0.015 amo. representan el 85% de la cantidad presente.

Esto debe de tenerse en consideración al hacer los cálculos. El resultado se expresa en miligramos de pregnandiol excretado en 24 horas.

V.

MODIFICACION DE PARK Y MACK PARA LA DOSIFICACION DEL PREGNANDIOL EN LA ORINA

A.—Extracción del Pregnandioli.

1).—Poner en un frasco de fondo plano de 500 c.c.
100 c.c. de la primera orina de la mañana.
50 c.c. de Tolueno Q. P.
10 c.c. de Hcl. concentrado.
Perlas de vidrio.

2).—Conectar el frasco a un condensador Liebig vertical.
Hervir sobre parrilla eléctrica plana durante quince minutos.

3).—Enfriar a la temperatura del cuarto con agua corriente.

4).—Pasar a un embudo de 500 c.c. y desechar el fondo (orina).

5).—Lavar con cuidado evitando choques con 15 c.c. de sosa al N, 10 y dos veces con 15 c.c. de agua destilada.

B.—Precipitación de impurezas.

1).—El tolueno lavado se pasa a un frasco de fondo plano de 125 c.c. y se hace reposar por 10 minutos, las partículas

de agua se adhieren al frasco, luego se lo cambia a otro igual con perlas de vidrio.

2) —Hervir a calor suave, en parrilla eléctrica

3) —Cuando los vapores de tolueno lleguen a la boca del frasco se añaden 10 cc de solución al 2% de sosa en metanol absoluto

4) —Evaporar al volumen original del tolueno

5) —Filtrar en caliente a través de lana de vidrio.

6) —Lavar el precipitado con 15 cc de tolueno caliente y combinar con el filtrado anterior

7) —Evaporar a sequedad

C) —**Precipitación del Prognandiol.**

1) —Añadir al residuo 5 cc de acetona y calentar hasta solución.

2) —Añadir 25 cc de sosa N 10 despacio y sobre parrilla caliente.

3) —Poner el frasco a 5 C una hora

La presencia del precipitado, en C- o C-3 nos muestra que es prueba **positiva.**

VI.

OBSERVACIONES Y CONCLUSIONES:

Al encontrar una prueba positiva, es decir, observar un precipitado, en el líquido final sustentamos el criterio de que si este precipitado aparece inmediatamente consideramos que la muestra de orina contiene más de un miligramo de pregnandiol por 100 c.c. Si el precipitado aparece media hora más tarde entonces consideramos que contiene menos de un miligramo de pregnandiol por 100 c.c. de orina.

En nuestros trabajos hicimos treinta y dos dosificaciones de pregnandiol en orinas de mujeres embarazadas con diferentes tiempos de embarazo, habiendo encontrado que todas las orinas contenían cantidades apreciables de pregnandiol, es decir, todas ellas tenían progesterona circulante suficiente para que no se presentaran amenazas de aborto.

(A continuación expondremos las observaciones realizadas).

OBSERVACIONES

- No. 1.—Orina de embarazada de 6 meses — más de 1 mgr.
No. 2.—Orina de embarazada de 2 meses — menos de 1 mgr.
No. 3.—Orina de embarazada de 6 meses — menos de 1 mgr.
No. 4.—Orina de embarazada de 8 meses — más de 1 mgr.
No. 5.—Orina de embarazada de 2 meses — más de 1 mgr.
No. 6.—Orina de embarazada de 2 meses — más de 1 mgr.
No. 7.—Orina de embarazada de 8 meses — más de 1 mgr.
No. 8.—Orina de embarazada de 8 meses — más de 1 mgr.
No. 9.—Orina de embarazada de 8 meses — más de 1 mgr.
No. 10.—Orina de embarazada de 2 meses — más de 1 mgr.
No. 11.—Orina de embarazada de 2 meses — menos de 1 mgr.
No. 12.—Orina de embarazada de 8 meses — más de 1 mgr.
No. 13.—Orina de embarazada de 6 meses — más de 1 mgr.
No. 14.—Orina de embarazada de 6 meses — menos de 1 mgr.
No. 15.—Orina de embarazada de 8 meses — más de 1 mgr.
No. 16.—Orina de embarazada de 8 meses — más de 1 mgr.
No. 17.—Orina de embarazada de 6 meses — menos de 1 mgr.
No. 18.—Orina de embarazada de 6 meses — menos de 1 mgr.
No. 19.—Orina de embarazada de 6 meses — más de 1 mgr.
No. 20.—Orina de embarazada de 6 meses — menos de 1 mgr.
No. 21.—Orina de embarazada de 6 meses — más de 1 mgr.
No. 22.—Orina de embarazada de 4 meses — más de 1 mgr.
No. 23.—Orina de embarazada de 4 meses — más de 1 mgr.
No. 24.—Orina de embarazada de 4 meses — menos de 1 mgr.
No. 25.—Orina de embarazada de 2 meses — menos de 1 mgr.

- No. 26 -- Orina de embarazada de 2 meses menos de 1 mgr.
 No. 27 -- Orina de embarazada de 4 meses más de 1 mgr.
 No. 28 -- Orina de embarazada de 2 meses menos de 1 mgr.
 No. 29 -- Orina de embarazada de 2 meses menos de 1 mgr.
 No. 30 -- Orina de embarazada de 4 meses más de 1 mgr.
 No. 31 -- Orina de embarazada de 6 meses más de 1 mgr.
 No. 32 -- Orina de embarazada de 8 meses más de 1 mgr.

La modificación de Park y Mack se refiere al método seguido por Guterman y esencialmente consiste en la lectura de los resultados. Guterman verifica la dosificación por colorimetría, y la modificación de Park y Mack por precipitación del Glicuronidato de pregnandiol.

Con esta modificación nos ahorramos bastante tiempo ya que reduce los pasos, y los hace más sencillos, así como la lectura que es más fácilmente apreciable.

A. M. D. G.

BIBLIOGRAFIA

- | | |
|-----------------------------|------------------------------|
| Endocrinología Clínica | Dr. Arthur Jores. |
| Vitaminas y Hormonas. | A. Santos Ruiz y M. Rotlant. |
| Las Hormonas | Remy Collin. |
| Vitaminas y Hormonas. | Harris y Thimann. |
| Enfermedades de la mujer. | Crossen y Crossen. |
| Práctica de Obstetricia. | Alfred C. Beck. |
| Chemical Abstracts Vol. 42. | |