

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

“CONTRIBUCION A LA QUIMICA CUALITATIVA DE ESTEROIDES”

TESIS

PRESENTADA POR

Ana Leticia Molina Civallero

PREVIA OPCION DEL TITULO DE

Licenciada en Química Farmacéutica

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, AGOSTO DE 1969.



547.73
47200
1969
cc-88
Ej. 3.

UES BIBLIOTECA CENTRAL



INVENTARIO: 10123424

U N I V E R S I D A D D E E L S A L V A D O R

Rector

DR. JOSE MARIA MENDEZ

Secretario General

DR. JOSE RICARDO MARTINEZ

F A C U L T A D D E C I E N C I A S Q U I M I C A S

Decano

DR. RICARDO GAVIDIA CASTRO

Secretario

DRA. RHINA LEMUS DE SALGADO

17
10-18-69
m.c.

J U R A D O D E T E S I S

Dra. Lilia Uribe de Lecha

Dra. Hilda Mercedes Pacheco de Novoa

Dr. Mauricio Alvarez C.

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso.

A mis padres:

Ceferino Molina y

Lydia Civallero de Molina

A mis hermanos: Especialmente a Reynaldo, con gratitud.

A mis profesores, compañeros y amigos.

A G R A D E C I M I E N T O

Al Dr. Pedro Geoffroy Luna por la acertada dirección y colaboración en este trabajo.

"CONTRIBUCION A LA QUIMICA CUALITATIVA
DE ESTEROIDES"

INDICE DE MATERIAS

	Página
Introducción	No. 1
Materiales y Métodos	" 3
Resultados	" 7
Discusión	" 17
Resumen y Conclusiones	" 22
Bibliografía	" 25

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

INTRODUCCION

Son numerosos los fármacos esteroideos caracterizados por poseer una estructura fundamental del tipo estrano, androstano o pregnano.

Constituyen un grupo farmacológicamente muy interesante, desde el momento que sabemos que simples modificaciones estructurales en su molécula traen consigo respuestas fisiológicas diferentes. Así, entre los fármacos de esta naturaleza que hemos logrado reunir, clásicos y de reciente introducción, existen los de carácter hormonal: tipo corticoides (dexametasona, entre los más recientes); de efecto androgénico o progestogénico (medroxiprogesterona, etisterona, noretinodrel, dimetisterona); de acción sobre el anabolismo proteico (noretandrolona, metandriol); y otros en cambio de acciones tan dispares como es la de producir anestesia general (hidroxidiona) o presentar propiedades antibióticas (fucidín), aún cuando este último no corresponda precisamente a las estructuras indicadas.

Al revisar la literatura especializada hemos podido comprobar que el interés despertado por estas moléculas, desde el punto de vista terapéutico no encuentran su equivalente en el estudio analítico-químico, con miras a su identificación o valoración. En cuanto a la problemática cualitativa, para los esteroides clásicos disponemos de numerosos métodos de ensayo, la mayoría de coloración. En cambio para los más recientes son pocos o simplemente no los hay. Además observamos que a pesar de contar con muchas reacciones de este tipo, su aplicación solo es parcial.

Estas consideraciones nos indujeron a estudiar el empleo de algunos métodos en el reconocimiento de las nuevas estructuras; apor-

tar nuevos ensayos para los fármacos que poseen pocos y permitir la deducción de una cualitativa diferencial.

Con este propósito, hemos seleccionado algunas de las reacciones de coloración más representativas dentro de la amplia gama de que se dispone y las aplicamos directa y sistemáticamente a cada una de las sustancias.

Al realizar este estudio pretendemos aportar algunas pruebas de identidad de gran rapidez y facilidad de ejecución e indicar las que por su sensibilidad y especificidad sean aplicables en el laboratorio de control.

M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

ESTEROIDES ENSAYADOS:

- 1- Cortisona; 4-pregнено-17, 21-diol-3, 20 triona.
- 2- Acetato de cortisona; cortisona 21-acetato.
- 3- Dexametasona; 9 α -fluoro-16 α metil prednisolona.
- 4- Dexametasona acetato; dexametasona 28-acetato.
- 5- Hidrocortisona; 4-pregнено-3, 20 diona 11 β , 17 α 21-triol.
- 6- Hidrocortisona acetato; hidrocortisona 21-acetato.
- 7- Prednisolona; 1,4-pregnadieno-3, 20-diona-11 β , 17 α , 21 triol.
- 8- Prednisona; 1,4 pregnadieno-17 α , 21-diol 3,11, 20 triona.
- 9- Metil testosterona; 17-metil testosterona.
- 10- Nortestosterona; 17 α , -01-4 estraeno 3-ona.
- 11- Testosterona; propionato; testosterona 17 β propionato.
- 12- Testosterona; 17 β , -01-4 androsten-3 ona.
- 13- Estradiol benzoato; estradiol 3-benzoato.
- 14- Estrona; 1,3,5,(10) -estratrieno-3-01-17-ona.
- 15- Etilnil estradiol; 17-etinil estradiol.
- 16- Dimetisterona; 6 α , 21-dimetil etisterona.
- 17- Etisterona; 17-etinil-4-androsten-17 β , -01-3-ona.
- 18- Medroxiprogesterona acetato; 6 metil-17-acetoxiprogesterona.
- 19- Noretinodrel; 17 β , etinil-17 ,01-5(10)-estraeno.
- 20- Noretisterona; 17 α , -etinil 19 nortestosterona.
- 21- Progesterona; 4-pregнено 3-diona-20
- 22- Metandriol; 17 α -metil-5 androsten-3 β , 17 β , diol.
- 23- Metandrostenolona; 17 α metil-1-4 androstadienol-17 β 01-3-ona.
- 24- Noretandrolona; 17 α , -etil-17-01-19-nor 4-androsten-3-ona.
- 25- Hidroxidiona succinato de sodio; hemisuccinato sódico de la
21-hidroxipregnano-3, 20-diona.
- 26- Fucidín; (C₃₁H₄₈O₆)

MÉTODOS

Reacciones

- 1- Reacción con ácido sulfúrico. (1)
 - A- Reacción con sulfúrico y naftol (R. de Kober) (2)
 - B- Reacción con sulfúrico y anhídrido acético. (R. de Liebermann-Burchard) (3)
 - C- Reacción con sulfúrico y antrona. (4)
- 2- Reacción con ácido perclórico. (5)
- 3- Reacción con polinitroderivados; m-dinitrobenceno álcali. (R. de Zimerman) (6)
- 4- Reacción con sales férricas; $\text{FeCl}_3\text{-CH}_3\text{COOH-H}_2\text{SO}_4$ (R. de Zak) (7)
- 5- Reacción con cloruro de antimonio; (R. de Pincus) (8)

Para la reacción de Kober, además de practicar la dilución con 1 ml. de agua como indica la técnica, se efectuó una variante diluyendo con 2 mls. (En vista de que en la Bibliografía encontramos que al diluir daba más diferenciación, probamos con 1 ml. más, obteniendo resultados mejores). (13)

Para la reacción de Pincus se ha cambiado el método: después de calentar los tubos a ebullición 20 min. se deja enfriar 15 min. y se diluye con 1-2 mls. de ácido acético glacial; dejando en reposo 20 min. y se observa el color. (El cambio de técnica se debe a que por las características moleculares de los esteroides ensayados, sabíamos que el ácido acético contribuía a una diferenciación más acentuada (7). Sin embargo no se aplicaba en la técnica).

Preparación de las muestras.

Se trabajó, en general, con escalas de diluciones desde 1 mg. y a ésta concentración corresponden los colores que reseñamos.

Para las reacciones 1, 1A, 1B, 1C y 5 se hicieron diluciones del esteroide en coloroformo en las concentraciones deseadas, evaporando posteriormente el disolvente excepto en la de Kober y en la 1C en que la reacción opera en el seno de este mismo solvente. En la 2C el disolvente usado fue alcohol y para la 5 ácido acético glacial. (En estudios de esteroides (13), en que no se trataba su estudio analítico, vimos que dichos disolventes eran mas adecuados y nuestros resultados lo comprobaron).

TABLE 1
 REACCION CON ACIDO SULFURICO

ESTEROIDES	SULFURICO		DILUCION CON AGUA		SENS/mg
	COLOR	FLUORESC.	COLOR	FLUORESC.	
Dexametasona	pardo débil	-	pardo	-	0.2
Metiltestoterona	amarillo	verde	amarillo intenso	verde	0.05
Testosterona	amarillo	-	rojo	-	0.1
Testosterona	amarillo	verde	pardo rojizo	verde	0.05
Dimetisterona	rojo naranja	-	pardo rojizo	verde	0.1
Testisterona	naranja	-	púrpura	rojo	0.05
Medroxiprogesterona acetato	amarillo pálido	-	azul	verde	0.1
Noretinodrel	rojo	verde	rojo	verde	0.05
Noretisterona	naranja	-	púrpura	rojo	0.05
Metandriol	naranja	verde	naranja	verde	0.05
Metandrostenolona	rojo brillante	-	naranja	-	0.05
Noretandrolona	amarillo naranja	verde	naranja	-	0.05
Hidroxidiona	amarillo	-	amarillo intenso	-	0.2
Flucidín	rojo vino	-	azul lila	-	0.05

TABLA 2

TEST DE KOBER

ESTEROIDES	PRIMERA ETAPA	SEGUNDA ETAPA	SENS/mg
	COLOR	COLOR	
Cortisona acetato	pardo amarillento	pardo amarillento	0.05
Dexametasona	pardo amarillento	pardo amarillento	0.05
Hidrocortisona	pardo	pardo	0.05
Prednisolona	pardo	pardo	0.05
Prednisona	pardo amarillento	pardo amarillento	0.05
Metiltestosterona	rojo con fluoresc. roja	rojo con fluoresc. roja	0.05
Nortestosterona	rojo con fluoresc. roja	pardo rojizo	0.05
Testosterona propio nato	pardo con fluoresc. roja	rojo	0.025
Etinil estradiol	rojo brillante	rojo púrpura	0.05
Dimetisterona	rojo	rojo	0.05
Etisterona	pardo	pardo amarillento	0.05
Medroxiprogesterona acetato	rojo oscuro con fluoresc. roja	rojo	0.05
Noretinodrel	rojo sangre	rojo	0.05
Progesterona	amarillo parduzco	amarillo parduzco	0.05
Metandriol	-	-	-
Hidroxidiona	pardo	pardo	0.05
Noretandrolona	rojo naranja	rojo naranja	0.025
Fucidín	azul	azul	0.025

TABLA 3

REACCION DE UEBERMANN - BURCHARD

ESTEROIDES	COLOR	FLUORESCENCIA	SENS/mg.
Cortisona y acetato	-	-	-
Dexametasona y acetato	-	-	-
Hidrocortisona y acetato	amarillo	verde	0.2
Prednisolona	-	-	-
Prednisona	-	-	-
Dehidroandrosterona	de rojo a amarillo parduzco	-	0.2
Metiltestosterona	verde amarillento	-	0.1
Nortestosterona	rosa	-	0.5
Testosterona	de rosa a naranja	roja	0.2
Testosterona propianato	amarillo	verde	0.5
Estradiol benzoato	rosado débil	verde	0.5
Etinil estradiol	rosado	-	0.5
Dimetisterona	rosa pardo	verde	0.2
Etisterona	rojo	naranja	0.2
Medroxiprogest. acetato	amarillo	verde	0.2
Noretinodrel	rojo	naranja	0.2
Noretisterona	rojo	naranja	0.2
Progesterona	rosado débil	-	0.25
Metandriol	azul	rojo	0.2
Noretandrolona	violeta	rojiza	0.2
Hidroxidiona	amarillo pálido	-	0.2
Fucidín	azul verde	verde	0.05

TABLA 4

REACCION SO_4H_2 -ANTRONA

STEROIDES	COLOR	FLUORESCENCIA	SENS/mg
exametasona y acet.	pardo	-	0.1
rednisolona	pardo	-	0.25
rednisona	amarillo parduzco	-	0.25
ortestosterona	pardo	parduzca	0.25
tinil Estradiol	rojo anaranjado	verde amarillo	0.05
imetisterona	pardo verdoso	verdosa	0.25
tisterona	azul violeta	roja	0.25
edroxiprogesterona	verde azul	roja parduzca	0.05
cetato	violeta rojo		
retinodrel	azul violeta	roja	0.25
etandriol	amarillo parduzco	-	0.05
etandrostenolona	naranja parduzco	-	0.25
oretandrolona	Naranja	-	0.25
idroxidiona	verde	-	1.0
ucidín	rosado rojo	pardo	0.25

TABLA 5

REACCION CON Cl₄H (Parte 1)

CORTICOIDES	Después de 10' a 56°C				Después de adic. 1ml/agua	
	Fase ácida		Fase Clorof.		Fase ácida	Fase Clorof.
	L.V.	U.V.	L.V.	U.V.		
exametasona y acet.	P.a.	a	-	-	-	-
mednisolona	P.a.	-	a. débil	a	a	-
mednisona	P.a.	a	-	-	-	-
depr testosterona	a	-	a fluor.V.	c	r	a fluor.V.
depradiol benzoato	a	a	-	-	a	-
deprinil Estradiol	P fluor.V	a	P	-	R.A. fluor.V.	A.v.
deprmetisterona	P	-	R fluor.V	N	V	R
depristerona	N	-	r	N	v.R.	r
deprhidroxiprogesterona acetato	V.a.	-	c fluor.R.	r.N.	V.	c fluor.R.
deprretinodrel	N	V	R.p. fluor.N.	r	P.a. fluor.V.	P
deprretisterona	P.N.	-	r fluor.R	N	p.	A.v.
deprtetandriol	a	-	r	L	-	A.L.
deprtetandrostenolona	a	-	N	r.N.	-	r
deprtetandrolona	-	-	a fluor.V.	A.	-	a fluor.V.
deprhidroxidiona s.s.	a	-	-	-	a	a
deprclidín	N	-	M	r	A. débil	v.R.

azul a: amarillo c: celeste L: lila M: morado N: naranja P: pardo p: púrpura L.V.: luz visible U.V.: luz ultravioleta.

TABLA 5 (Parte 2)

ESTEROIDES	Después de mezclar				Después de 2½ horas a 56°C.				Después de adic. 5ml acetona.	
	F. ácida		F. clorof.		F. ácida		F. clorof.		L.V.	U.V.
	L.V.	U.V.	L.V.	U.V.	L.V.	U.V.	L.V.	U.V.		
metasona y acet.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	a.d.
nisolona	-	a	a	-	r	a	P.a.	-	a.P.	a
nisona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	a
Testosterona	-	-	a	a	-	-	V	a	f.R.	a
radiol benzoato	-	-	-	-	-	a	-	-	-	a
nil Estradiol	p f.V.	a	A.v. f.R.	-	r f.V.	a	p	p	f.a.V. V	a
etisterona	-	-	V	a	-	-	V	a	f.R.	a
sterona	-	-	N	a	-	-	a.N.	a	f.R.	N
roxiprogesterona tato	-	-	f.R.	a	V	-	f.R.	a	f.R.	a
Etinodrel	r	-	r.p. f.V.	a	-	-	V	a	a	a
Etisterona	-	-	V	a	-	-	V	a	f.R.	N
ndriol	-	-	A.L.	-	-	-	A.L.	a	-	a
ndrostenolona	-	-	r.N.	-	-	-	N.R.	r.N.	r.d.	-
etandrolona	-	-	a	-	-	-	V	a	r	a
roxidiona s.s.	-	-	P	a	-	-	A.V.	a	V.d.	a
idín	-	-	A	-	-	-	V.A.	-	-	a

: fluorescencia
débil

TABLA 6

REACCION DE ZIMMERMANN(')

ESTEROIDES	T I E M P O.					
		15'	30'	60'	2 hrs.	4hrs. 6hrs
IMETISTERONA (a)	violeta claro	violeta claro	violeta claro	violeta claro	rojo violáceo	rojo rojo
OR ETANDROLONA (a)	Violeta	violeta	violeta	violeta	rojo violáceo	rojo rojo
OR ETISTERONA (a)	violeta	violeta	violeta	violeta	rojo violáceo	rojo rojo
ORTESTOSTERONA (a)	violeta	violeta	violeta	violeta	rojo violáceo	rojo rojo
OR ETINODREL (b)	violeta intenso	violeta rojizo	rojo	rojo	rojo	rojo rojo
EDROXIPROGESTERONA ACETATO (c)	violeta claro	violeta claro	violeta claro	violeta claro	rojo violáceo	rojo viol.rojo
IDROXIDIONA SUCCIATO SODICO (d)	violeta	violeta	violeta rojizo	violeta rojizo	rojo violáceo	rojo rojo

') Resultados no publicados en la bibliografía.

- (a) Esteroides del tipo 3 Ceto no saturado en 4-5.
- (b) Esteroides del tipo 3 Ceto no saturado en 5-10.
- (c) Esteroides del tipo 3-20 Dic to no saturado en 4-5.
- (d) Esteroides del tipo 3-20 Diceto saturado.

TABLA 7

REACCION DE ZAK (,)

ESTEROIDES	COLORACION	FLUORESCENCIA	SENS.
metasona y su acetato (,,)	amarillo → rosa débil	-	0.25
ocortisona y su aceta-	amarillo débil	-	0.1
nisolona	amarillo débil → amarillo pardo	-	0.25
nisona	-	-	-
l testosterona	amarillo intenso	verde amarillo	0.05
estosterona	-	-	-
radiol benzoato	amarillo débil	-	0.25
ona	amarillo → rosa nar.	-	0.05
il estradiol	amarillo → naranja	verde	0.025
tisterona	naranja → rosa nar.	verde	0.05
terona	rosado → rosa viol.	-	0.1
oxiprogesterona ato (")	amarillo débil	-	0.1
etinodrel	amarillo	-	0.1
etisterona	amarillo	-	0.1
ndriol	violeta	verde	0.05
ndrostenolona (,,)	rojo	-	0.1
etandrolona	amar → amar.naranja	verde	0.1
oxidiona s.s.	-	-	-
dín	violeta rojizo → viol. roja		0.1

Resultados no publicados en la bibliografía
 El color se intensifica por reposo
 ,) A concentraciones inferiores a 1 mg el color tiende al pardo.

TABLA 8
REACCION DE PINCUS

ESTEROIDES	COLOR	FLUORESCENCIA	SENS.
isona y acetato	amarillo pálido	-	0.5
metasona y acetato	pardo amarillento	-	0.25
cortisona y acetato	verde amarillento	-	0.25
nisolona	pardo amarillento	-	0.1
nisona	amarillo pálido	-	0.5
1 testosterona	amarillo	roja	0.1
testosterona (")	rosado a azul 2 hrs.	roja	0.25
estradiol benzoato	rosado	verde	0.05
estradiol	fucsia	verde	0.05
progesterona (")	verde a azul verdoso 2 hrs.	parda	0.1
progesterona (")	azul	roja	0.05
oxiprogesterona acet. (")	azul	parda	0.05
estradiol (")	púrpura	pardusca	0.05
progesterona (")	azul	roja	0.05
estradiol	verde a azul 3 hrs.	pardusca	0.25
androstenediona	naranja	negativa	0.1
androstenediona	amarillo brillante	-	0.1
androstenediona ss.	verde a azul 1 hora	pardusca	0.1
androstenediona	azul	parda	0.05

La dilución se efectuó con 1 ml de ácido glacial.

D I S C U S S I O N

La reacción del ácido sulfúrico descrita por la USP XVI para los esteroides cortisona acetato, hidrocortisona, prednisolona, benzoato y propionato de estradiol, ha sido también utilizada para la estrona. (9, 10), etisterona y metil testosterona. (11), etinil estradiol, progesterona, (11), dehidroandrosterona, (12) (14), coca (11) (15).

La etisterona y metil testosterona carecen de referencia al cambio que se produce al diluir con agua; además, para la etisterona hemos encontrado una coloración diferente a la publicada.

El reactivo interviene no por la formación de derivados, sino provocando fenómenos de mezomería a nivel de los dobles enlaces; también influye la presencia de grupos funcionales. (16).

En la tabla #1 observamos que el color es similar en la mayoría de los casos, de allí, que sea mejor la dilución con agua para lograr una mejor diferenciación.

Reacción de Kober. (SO_4H_2 -Naftol).

Esta reacción descrita por B.P. (1958) para estradiol benzoato, ha sido también publicada para estrona (17) (19), estradiol (19) (20) estriol (20) y dehidroisoandrosterona (21).

Refiere de la presencia de un OH fenólico en C-3, de la integridad del núcleo D y de la existencia de oxígeno en C-17 para que se genere la coloración amarillo anaranjado, característico de los fenol-esteroides (estrógenos) (22).

Hemos visto que otros esteroides que no cumplen con esos requisitos dan otras coloraciones, algunas de ellas con fluorescencia, que permite su caracterización.

De los resultados obtenidos, (tabla 2), podemos destacar la reacción del fucidín, cuya coloración azul, al apartarse de la gama

típica obtenida con las otras estructuras, permite identificarlo fácilmente.

Reacción de Liebermann Burchard.

Esta reacción, descrita para calciferol, por la USP XVI ha sido también aplicada al estradiol y estrona (22), concordando con nuestra experiencia, además hemos encontrado otra referencia que informa para estrona color verde. (13).

De los resultados obtenidos, (Tabla 3) hacemos notar en primer lugar, que las coloraciones de metandriol y fucidín al apartarse de la gama general permiten caracterizarlos. Llama la atención el hecho de que compuestos que dieron reacción negativa como son la dexametasona y su acetato, la prednisolona, prednisona y metandros-tenolona, presentan una similitud estructural; núcleo A con dos dobles enlaces en posición 1-2 y 4-5.

Reacción con sulfúrico-antrona.

Para los esteroides estudiados se ha publicado esta reacción para doca cortisona, hidrocortisona, testosterona, progesterona, estradiol y estrona (4) indicándose que sólo aquellos compuestos que poseen la configuración 3-ceto y faltos de un grupo cetónico en C-11, originan productos coloreados; para la doca el color es azul, con fluorescencia roja y sería la coloración típica. Basándose en los resultados obtenidos, (Tabla 4), se puede observar que solo muy pocos dan coloración azul.

Reacción con ácido perclórico.

Esta interesante reacción caracterizada por la diversidad de etapas que presenta y además por las variaciones de color y fluorescencia que se observan, tanto en la fase ácida como en la fase -

xametasona, prednisolona, y prednisona. Para los 7-cetoesteroides se aplicó esta reacción en nuestro trabajo, y no se encontró ninguna referencia bibliográfica.

Reacción de Zak. ($\text{Cl}_3\text{Fe}-\text{AcOH}-\text{SO}_4$)

Está descrita esta reacción para testosterona y progesterona (7), ha sido también publicada para cortisona, estradiol y metandriol, (7), con este último esteroide hemos encontrado una coloración diferente a la de la referencia.

De acuerdo a lo expuesto en la Tabla 6 es posible observar que su mayoría dan color amarillo que en algunos casos cambian.

Hay que destacar el metandriol y fucidín por su color violeta y a la etisterona que da una coloración rosada que pasa a rosa violado lo cual permite su identificación.

Reacción de Pincus. ($\text{Cl}_3\text{Sb}-\text{AcOH}$)

Se ha descrito esta reacción específicamente para cetoesteroides, testosterona, progesterona, (8) estrona (28) y estradiol (28)

De acuerdo con la bibliografía, el color típico se observa en androsterona y sus isómeros, otros cetoesteroides y aún para ciertos esteroides no cetónicos pero que para la testosterona y progesterona es amarillo débil y para estrona y estradiol rosado con fluorescencia verde.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

- 1- Se estudia el efecto de ocho reactivos de coloración en 26 moléculas esteroidales.
- 2- Se determina la sensibilidad y estabilidad de las reacciones.
- 3- Se aportan nuevas reacciones para la identidad de estas moléculas:

Metil testosterona: Reacción con ácido sulfúrico y Reacción de Zak.

Testosterona: Reacción de Kober y Reacción de Lieberman-Burchard.

Testosterona propionato: Reacción de Kober.

Estradiol benzoato: Reacción de Pincus.

Estrona: Reacción de Zak.

Etinil Estradiol: Reacción de Kober, Reacción con ácido perclórico, Reacción de Zak y Reacción de Pincus.

Dimetisterona: Reacción con ácido perclórico, Reacción de Zimmermann, Reacción de Zak, y Reacción de Pincus.

Etisterona: Reacción con ácido sulfúrico, Reacción de Liebermann-Burchard, Reacción con ácido sulfúrico-antrona, Reacción con ácido perclórico, Reacción de Zak y Reacción de Pincus.

Medroxiprogesterona acetato: Reacción con ácido sulfúrico, Reacción de Kober, Reacción con ácido sulfúrico-antrona, Reacción con ácido perclórico, Reacción de Zimmermann y Reacción de Pincus.

Noretinodrel: Reacción con ácido sulfúrico, Reacción de Kober, Reacción de Liebermann-Burchard, Reacción con ácido sulfúrico-antrona, Reacción con ácido perclórico, Reacción de Zimmermann y Reacción de Pincus.

Noretisterona: Reacción con ácido sulfúrico, Reacción de Lie-

bermann-Burchard, Reacción con ácido perclórico, Reacción de Zimmermann y Reacción de Pincus.

Metandrostenolona: Reacción con ácido sulfúrico, Reacción de Kober, Reacción con ácido perclórico y Reacción de Pincus.

Noretandrolona: Reacción de Kober, Reacción de Liebermann-Burchard, Reacción de Zimmermann.

Hidroxidiona: Reacción de Zimmermann y Reacción de Pincus.

Fucidín: Reacción con ácido sulfúrico, Reacción de Kober, Reacción de Liebermann-Burchard, Reacción con ácido sulfúrico-antrona, Reacción con ácido perclórico, Reacción de Zak y Reacción de Pincus.

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

- 1- "The Pharmacopeia of The United States of America", 16a. Ed., 179, - Mack Publishing Company, Easton, P.A., 1960.
- 2- "British Pharmacopeia 1958" p. 348. London, The Pharmaceutical Press, 1958.
- 3- "The Pharmacopeia of The United States of America", 16a. Ed., 111, - Mack Publishing Company, Easton, P.A., 1960.
- 4- Graff, M., McElroy, J. y Mooney, A.: "J. Biol. Chem." 195, 351 (1952).
- 5- Tauber, H.: "Anal. Chem.", 24, 1494 (1952).
- 6- Pessez, M.: "Bull. Soc. Chem. (France)", 911 (1947).
- 7- Bischoff, F. y Turner, J.: "Clin Chem.", 4, 300 (1958).
- 8- Pincus, G.: "Endocrinol" 32, 176 (1943).
- 9- Lebeau, P. y Janot, M.M.: "Traité de Pharmacie Chimique", 4a. Ed., -2131 Masson et Cie., Paris, 1955-1956.
- 10- Umberger, J. E. y Curtis, J.: "J. Biol. Chem." 178, 275 (1949)
- 11- Pessez, M. y Poirier, P.: "Methodes et reactions de Panalyse organique", 111. 248, Masson et Cie., Paris, 1954.
- 12- "Ibid"., 228
- 13- "Chem. Abs." 38, 2355 (1944)
- 14- "Ibid"., 44, 3068 f (1950)
- 15- Zimmermann, W.: "Chemische Bestimmungs Methoden von Steroid hormonnenin Körperflüssigkeiten", 52, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1956.
- 16- Pessez, M. y Poirier, P.: "Méthodes et reactions de Panalyse organique" 111, 227, Masson et Cie., Paris, 1954.
- 17- Kober, S.: "Biochen. J." 32, 357 (1938)
- 18- De Giraudó, R.H.: "Arch. farm. bioquim. Tucumán", 4, 261 (1949)
- 19- Jayle, M. F.: "Analyse des steroids "Hormonaux", 11, 339-41, Masson et Cie. Paris, 1952.
- 20- Shopes, C. W.: "Chemistry of the Steroids", 107, Butterworths Scientific Publications, London, 1958.

- 21- Hansen, L.: "Endocrinol", 46, 207 (1950).
- 22- Pessez, M. y Poirier, P.: "Methodes et reactions de Penalyse organique", 111, 249, Masson et Cie., Paris 1954.
- 23- "Ibid", 229-30.
- 24- Graff, M.: "J. Biol. Chem." 197, 741 (1952).
- 25- Pessez, M. y Herbain, H.: "Bull. soc. chim.", 15, 104 (1948).
- 26- Marlow, H. W.: "J. Biol. Chem.", 183, 167 (1950).
- 27- Zak, B., Moss, N., Boyle, A. J. y Zlatkis, A.: "Anal Chem.", 26, 776 (1954)
- 28- "Chem. Abs.", 44, 7716 f (1950).