



Universidad del Papaloapan
Campus Tuxtepec

Caracterización de moléculas
esteroidales con relevancia
farmacéutica

T E S I S

Para obtener el grado de:
Licenciada en ciencias químicas

PRESENTA

Thalía Lissette Mora Medina

ASESOR

Dr. Omar Viñas Bravo

CO-ASESOR

Dr. Erick Adrián Juárez Arellano

San Juan Bautista Tuxtepec, 2016



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

CAMPUS TUXTEPEC

San Juan Bautista Tuxtepec, Oax. a 06 de Septiembre de 2016

Asunto: Autorización de impresión de tesis

L.P. YESENIA BARRIENTOS ARENAL
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE SERVICIOS ESCOLARES
UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN
P R E S E N T E


Sirva la presente para infórmale que los abajo firmantes, miembros de la comisión revisora de la tesis de la Srita. **Thalia Lissette Mora Medina** (pasante de la Licenciatura en Ciencias Químicas de la UNPA, número de matrícula 10060015), manifestamos que después de examinar su trabajo de tesis autorizamos la impresión del manuscrito que lleva por título "**Caracterización de moléculas esteroidales con relevancia farmacéutica**" para su posterior presentación y defensa por parte de la sustentante. El trabajo se realizó bajo la asesoría del Dr. Omar Viñas Bravo y la co-asesoría del Dr. Erick Adrián Juárez Arellano.

Sin otro asunto en particular nos despedimos quedando atentos ante cualquier duda o aclaración.

A t e n t a m e n t e

terra uberrima, mens aperta


BØu Lo-tama, chí jí jú




Dra. Nelda X. Martínez Galero
Profesora-Investigadora
Universidad del Papaloapan



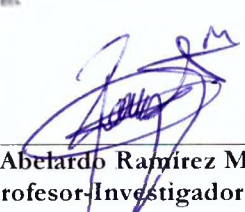
Dr. Daniel Díaz Coutiño
Profesor-Investigador
Universidad del Papaloapan



Dr. Mario Valera Zaragoza
Profesor-Investigador
Universidad del Papaloapan



Dr. Lemuel Pérez Picaso
Profesor-Investigador
Universidad del Papaloapan



Dr. Oscar Abelardo Ramírez Marroquín
Profesor-Investigador
Universidad del Papaloapan

C.e.p. M. en C. Hector López Arjona, Vice-Rector Académico de la UNPA, para su conocimiento.
C.e.p. Dr. Lemuel Pérez Picaso, Jefe de Carrera de la Licenciatura en Ciencias Químicas.

www.unpa.edu.mx

Campus Tuxtepec
Calle Circuito Central, No.200, col. Parque Industrial
C.P. 68301, Tuxtepec, Oax. Tel: 01 (287) 87 5 92 40

Campus Loma Bonita
Av. Ferrocarril s/n, Cd. Universitaria
C.P. 68400, Loma Bonita, Oax. Tel: 01 (281) 87 2 22 39

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar al Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología (LINAN-Tuxtepec). Así también a la Universidad del Papaloapan campus Tuxtepec y a todos los que en ella laboran.

Al presidente municipal de Loma Bonita Prof. Cesar Benítez Chaparro por su enorme apoyo para con este trabajo, mi más sincero agradecimiento.

Sin su apoyo jamás hubiese podido lograr el término de la licenciatura, es por ello que éste trabajo es parte de cada uno de ustedes. Con todo mi corazón quiero dar gracias a la Dra. Roxana Martínez Pascual, una de las personas que confió en mí aún sin conocerme, me brindó apoyo y trabajo con el cuál pude solventar la universidad. De igual manera a la Dra. Hermenegilda Moreno Díaz y al Dr. Daniel Díaz Coutiño personas de gran calidad; gracias por los consejos, la confianza y el apoyo brindado. A la familia Pérez-Morgado por el apoyo y en especial por ofrecerme hospedaje y comida cuando más lo necesite y a Marco A. Pérez Morgado por todo su apoyo y confianza desde que nos conocimos, jamás lo olvidaré.

Agradezco con especial cariño y enorme admiración a las siguientes personas:

Con gran respeto al Dr. Omar Viñas Bravo por aceptarme en su grupo de trabajo; por los consejos y el apoyo que nunca voy a olvidar, gracias por su paciencia y por sus enseñanzas y al Dr. Erick Adrián Juárez Arellano por ser un profesor comprometido al 100% con este trabajo, por la ayuda brindada así también por los consejos y la preocupación para con este escrito, gracias por todo.

Así mismo al comité de revisores y sinodales: Dr. Lemuel Pérez Picaso, Dr. Mario Valera Zaragoza, Dr. Abelardo Ramírez, Dr. Daniel Díaz, Dra. Nelda X. Martínez Galero, gracias por sus observaciones y consejos. Un reconocimiento a todos aquellos que día a día se esfuerzan por enseñar ciencia. Al M. C. Héctor Arjona vicerrector académico, gracias por siempre contar con su apoyo y por su dedicación para con este plantel.

A mis compañeros: Sadia J. Mendez, Jansher D. Martínez, David Cruz, Beatriz Castro (gracias por el apoyo y por las charlas amenas), Guadalupe Palacios y muy especialmente a Karina Espinoza, Ana K. Díaz, Magdalena Enríquez y Maritza Miranda quienes a pesar de malos entendidos o problemas que pudieron haber surgido, siempre pude contar con ustedes. Sin dejar de mencionar a la Q.F.B. Leticia Saldaña Medina, a la I.B.Q. Luz del Carmen Zarate Quevedo y el I.Q Juan Hernández Sánchez, fue y es un gran placer haber compartido consejos y experiencias con ustedes son gente valiosa para esta universidad.

Siempre estaré agradecida con Dios y con mi familia, por siempre darme la fuerza para seguir adelante y así poder regresar al mundo todo lo recibido.

DEDICATORIA

A todos y cada uno de los integrantes de mi familia Alexander, Amparo, Pablo, Jimena, Carolina, Nery Nahomi, Camila, Gelacia Hernández, Bety Gamboa y José Antonio Gamboa.

Sin más de que decir, si pudiera decidir a la persona que me de la vida sin duda te elegiría a ti Saray Mora Medina. Mi orgullo más grande es ser tu hija y todo lo que soy es porque tú me enseñaste a siempre luchar por lo que uno más desea.

Te amo mamá.

Por último, va dedicado a aquella persona que aunque nunca volví a saber nada; siempre tendré una luz de esperanza. Valentín Mora Medina, mi esfuerzo y dedicación van por ti porque algún día contaré con los recursos suficientes para averiguar tu paradero y hacer justicia por tu ausencia.

CONTENIDO

I	LISTA DE FIGURAS	4
II	LISTA DE TABLAS	9
III	LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	10
IV	RESUMEN	12
1.-	INTRODUCCIÓN	14
1.1	Esteroides.....	15
1.1.1	Nomenclatura de los esteroides.....	16
1.1.2	Núcleos esteroidales.....	17
1.1.3	Características químicas de los glucocorticoides.....	19
1.1.4	Características químicas de los mineralo-corticoides.....	19
1.1.5	Características químicas de los andrógenos.....	20
1.1.6	Características químicas de los estrógenos.....	21
1.1.7	Características químicas de los progestágenos.....	21
1.2	Relación de la estructura molecular y la cristalina.....	23
1.3	Polimorfismo.....	25
1.3.1	Características del polimorfismo.....	25
1.3.2	Importancia del polimorfismo.....	26
1.3.3	Polimorfismo en espironolactona: formas I y II.....	28
2.-	ANTECEDENTES	31
2.1	Compuestos esteroidales.....	31
2.1.1	Progesterona.....	31
2.1.1.1	Polimorfos de la progesterona.....	32
2.1.2	Hidroxiprogesterona.....	35

2.1.3	16-dehidroprogesterona.....	36
2.1.4	Prasterona.....	38
2.1.4.1	Polimorfos de la prasterona.....	38
3.-	TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN.....	41
3.1	Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) en disolución.....	41
3.1.1	Información característica de RMN.....	41
3.2	Análisis de infrarrojo con reflectancia total atenuada (RTA-IR).....	43
3.3	Difracción de rayos X (DRX).....	44
3.3.1	Reseña histórica acerca de los rayos X.....	44
3.3.2	Determinación de las estructuras cristalinas por difracción de rayos X de polvos.....	45
4.-	JUSTIFICACIÓN.....	47
5.-	HIPÓTESIS.....	48
6.-	OBJETIVOS.....	49
6.1	Objetivo general.....	49
6.2	Objetivos específicos.....	49
7.-	METODOLOGÍA.....	50
7.1	Obtención de las hormonas esteroidales.....	50
7.2	Cristalización.....	50
7.3	Prueba de solubilidad y características de los disolventes.....	52
7.4	Determinación de la estructura molecular por resonancia magnética nuclear (RMN).....	53
7.5	Estudio por infrarrojo con reflectancia total atenuada (RTA-IR).....	53
7.6	Estudio por difracción de rayos X (DRX).....	53
8.-	RESULTADOS.....	54
8.1	Cristalización de la progesterona.....	54

8.2	Cristalización de la hidroxiprogesterona.....	55
8.3	Cristalización de la 16-dehidroprogesterona.....	59
8.4	Cristalización de la prasterona.....	61
9.-	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	64
9.1	Cristalización de la progesterona: análisis estructural.....	64
9.2	Cristalización de la hidroxiprogesterona: análisis estructural.....	73
9.3	Cristalización de la 16-dehidroprogesterona: análisis estructural.....	87
8.4	Cristalización de la prasterona: análisis estructural.....	97
10.-	CONCLUSIONES.....	106
11.-	PERSPECTIVAS.....	108
12.-	BIBLIOGRAFÍA.....	109
13.-	ANEXOS.....	114
13.1	Anexo A.....	114
13.1.1	Conceptos básicos de Cristalografía.....	114
13.1.1.1	Celda unidad.....	115
13.1.1.2	Parámetros de celda.....	115
13.1.1.3	Índices de Miller.....	117
13.2	Anexo B: datos espectroscópicos de la progesterona.....	118
13.3	Anexo C: datos espectroscópicos de la hidroxiprogesterona.....	122
13.4	Anexo D: datos espectroscópicos de la 16-dehidroprogesterona.....	132
13.5	Anexo E: datos espectroscópicos de la prasterona.....	140

I.- LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Degradación de Marker.....	15
Figura 2	Numeración del esqueleto esteroidal.....	16
Figura 3	Policiclos en configuración <i>trans</i> (α) y <i>cis</i> (β).....	17
Figura 4	Núcleos esteroidales.....	18
Figura 5	Estructura del cortisol.....	19
Figura 6	Estructura de la aldosterona.....	20
Figura 7	Estructura de la testosterona.....	20
Figura 8	Estructura molecular de los principales componentes de los estrógenos.....	21
Figura 9	Estructura molecular de los derivados del pregnano.....	22
Figura 10	Estructura molecular de los 19-norderivados.....	23
Figura 11	Estructura molecular y cristalina del dióxido de silicio.....	24
Figura 12	Diferentes formas sólidas en las que se puede encontrar un principio activo.....	26
Figura 13	(a) Estructura molecular, (b) estructuras cristalinas y (c) difractogramas de las formas I y II del ritonavir.....	27
Figura 14	Esteroides de importancia clínica que presentan polimorfismo o pseudopolimorfismo.....	28
Figura 15	Estructura molecular y cristalina de la espironolactona.....	29
Figura 16	Espectro de infrarrojo de los dos polimorfos de la espironolactona.....	30
Figura 17	(a) Estructura molecular de la progesterona, (b) forma I y (c) forma II.....	34

Figura 18	(a) Espectro de IR y (b) espectro Raman en estado sólido de formas I y II de la progesterona.....	35
Figura 19	Síntesis de hidrazonas a partir de moléculas 17 α -hidroxilados.....	36
Figura 20	(a) Estructura molecular y (b) estructura cristalina de la hidroxiprogesterona.....	36
Figura 21	Fotodimerización de la 16-dehidroprogesterona.....	37
Figura 22	(a) Estructura molecular y (b) estructura cristalina de la 16-dehidroprogesterona.....	37
Figura 23	(a) Estructura molecular de la prasterona, (b) polimorfo I, (c) polimorfo II y (d) polimorfo VI de la prasterona.....	39
Figura 24	Desplazamiento químico en espectros de RMN de ¹ H de algunos compuestos químicos.....	42
Figura 25	Reflexión de rayos X a partir de dos planos de átomos.....	45
Figura 26	Muestras obtenidas de la progesterona mediante distintas condiciones de cristalización.....	55
Figura 27	Muestras obtenidas de la hidroxiprogesterona mediante distintas condiciones de cristalización.....	58
Figura 28	Muestras obtenidas de la 16-dehidroprogesterona mediante distintas condiciones de cristalización.....	61
Figura 29	Muestras obtenidas de la prasterona mediante distintas condiciones de cristalización.....	63
Figura 30	RMN de ¹ H de la progesterona comercial (Geslutin®) y la primera cristalización.....	65
Figura 31	RMN de ¹ H de las muestras obtenidas de la progesterona....	66
Figura 32	RMN de ¹³ C de las muestras obtenidas de la progesterona...	67

Figura 33	Espectros de IR de las muestras de la progesterona.....	68
Figura 34	Ampliación de los espectros de IR de las muestras de la progesterona.....	69
Figura 35	Difractogramas de rayos X de polvos de las muestras obtenidas de la progesterona.....	70
Figura 36	Polimorfos: forma I y forma II de la progesterona.....	71
Figura 37	Comparación de los difractogramas de la forma I (a) y II (b) de la progesterona con la muestra pgt4.....	71
Figura 38	Comparación de los difractogramas de la forma I (c) y II (d) de la progesterona con la muestra pgt6.....	72
Figura 39	RMN de ¹ H de las muestras obtenidas de la hidroxiprogesterona.....	74
Figura 40	RMN de ¹³ C de las muestras obtenidas de la hidroxiprogesterona.....	75
Figura 41	Experimento DEPT de la hidroxiprogesterona.....	77
Figura 42	Experimento COSY de la hidroxiprogesterona.....	78
Figura 43	Experimento de HSQC de la hidroxiprogesterona.....	79
Figura 44	Experimento de HMBC de la hidroxiprogesterona.....	80
Figura 45	Espectros de IR de las muestras de la hidroxiprogesterona...	81
Figura 46	Ampliación de los espectros de IR de las muestras de la hidroxiprogesterona.....	82
Figura 47	Difractogramas de rayos X de polvos de las muestras obtenidas de la hidroxiprogesterona.....	83
Figura 48	Difractograma de rayos X descrito de la hidroxiprogesterona	84

Figura 49	Comparación de las muestras hidp (a) y hidpt1 (b) con el difractograma descrito de la hidroxiprogesterona.....	85
Figura 50	Comparación de las muestras hidpt9 (c) y hidpt14 (c) con el difractograma descrito de la hidroxiprogesterona.....	86
Figura 51	RMN de ¹ H de las muestras obtenidas de la 16-dehidroprogesterona.....	88
Figura 52	RMN de ¹³ C de las muestras obtenidas de la 16-dehidroprogesterona.....	89
Figura 53	Espectros de IR de las muestras de la 16-dehidroprogesterona.....	91
Figura 54	Ampliación de los espectros de IR de las muestras de la 16-dehidroprogesterona.....	92
Figura 55	Difractogramas de rayos X de polvos de las muestras obtenidas de la 16-dehidroprogesterona.....	93
Figura 56	Difractograma de rayos X descrito de la 16-dehidroprogesterona.....	94
Figura 57	Comparación de las muestras d16p (a) y d16pt4 (b) con el difractograma descrito de la 16-dehidroprogesterona.....	95
Figura 58	Comparación de las muestras d16pt12 (c) con el difractograma descrito de la 16-dehidroprogesterona.....	96
Figura 59	RMN de ¹ H de las muestras obtenidas de la prasterona.....	98
Figura 60	RMN de ¹³ C de las muestras obtenidas de la prasterona.....	99
Figura 61	Espectros de IR de las muestras de la prasterona.....	100
Figura 62	Ampliación de los espectros de IR de las muestras de la prasterona.....	101

Figura 63	Difractogramas de rayos X de polvos de las muestras obtenidas de la prasterona.....	102
Figura 64	Comparación de la muestra prast2 con los difractogramas de los polimorfos I (a), II (b) y VI (c) de la prasterona.....	103
Figura 65	Comparación de la muestra prast3 con los difractogramas de los polimorfos I (a), II (b) y VI (c) de la prasterona.....	104
Figura 66	Representación de una celda unidad donde se muestran traslaciones (x, y, z) y ángulos (α , β , γ).....	115
Figura 67	Redes de Bravais.....	116

II.- LISTA DE TABLAS

Tabla 1	Códigos cristalográficos relacionados con la progesterona...	32
Tabla 2	Formas cristalinas de la prasterona.....	38
Tabla 3	Principales desplazamientos químicos en RMN en estado sólido asignados a los polimorfos I, II y VI de la prasterona...	40
Tabla 4	Solubilidad de las muestras en algunos disolventes orgánicos.....	52
Tabla 5	Características físicas de disolventes orgánicos.....	52
Tabla 6	Cristalización de la progesterona utilizando diferentes metodologías.....	54
Tabla 7	Cristalización de la hidroxiprogesterona utilizando diferentes metodologías.....	56
Tabla 8	Cristalización de la 16-dehidroprogesterona utilizando diferentes metodologías.....	58
Tabla 9	Cristalización de la prasterona utilizando diferentes metodologías.....	61
Tabla 10	Características de los sistemas cristalinos dependiendo sus dimensiones y ángulos.....	117

III.- LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ATR	Attenuated Total Reflection (por sus siglas en inglés).
c	Señal cuádruple (RMN).
CADIEL	Calentamiento de un disolvente a evaporación lenta (enfriamiento lento a una temperatura de 22 °C)
CADIER	Calentamiento de un disolvente a evaporación rápida (enfriamiento rápido a una temperatura de 5 °C)
CAMDIEL	Calentamiento de mezcla de disolventes a evaporación lenta (enfriamiento lento a una temperatura de 22 °C).
CAMDIER	Calentamiento de mezcla de disolventes a evaporación rápida (enfriamiento rápido a una temperatura de 5 °C).
CCDC	Cambridge Crystallographic Data Center (por sus siglas en inglés).
CDCl ₃	Cloroformo deuterado.
COSY	CO rrelation Spectroscop Y (por sus siglas en inglés).
δ	Desplazamiento químico en ppm (en RMN).
d	Señal doble (RMN).
dd	Señal doble de dobles (RMN).
d16p	16-dehidroprogesterona.
DEPT	D istortionless E nhancement by P olarization T ransfer (por sus siglas en inglés).
DISCAEL	Disolvente sin calentamiento a evaporación lenta.
DHEA	Dehidroepiandrosterona.
DRX	Difracción de rayos X.

E	Vehículo utilizado en el medicamento Geslutin® en RMN.
F	Sólido cristalino no solvatado.
hidp	Hidroxiprogesterona.
HMBC	H eteronuclear M ultiple B ond C oherence (por sus siglas en inglés).
HSQC	H eteronuclear S pectrum Q uantum C orrelation (por sus siglas en inglés).
I	Impurezas de la muestra en RMN.
ICDD	I nternational C enter for D iffraction D ata (por sus siglas en inglés).
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento (RMN).
MDISCAEL	Mezcla de disolventes sin calentamiento a evaporación lenta.
pg	Progesterona.
pras	Prasterona.
PROGST	Código cristalográfico para la progesterona.
RMN de ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protón.
RMN de ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono-13.
S	Sólido cristalino solvatado.
SIECRIS	Siembra de cristales.
TMS	Tetrametilsilano.
THF	Tetrahidrofurano.
UV	Ultravioleta.

IV.- RESUMEN

Los esteroides son utilizados como precursores en rutas sintéticas de diversos compuestos con actividades biológicas específicas. El 23 % de los esteroides existentes en la industria de los medicamentos presentan el fenómeno de polimorfismo o pseudopolimorfismo. Por lo tanto, surge la necesidad de realizar un análisis estructural de estos esteroides.

En el presente trabajo se realizaron caracterizaciones de la estructura molecular y cristalina en compuestos esteroidales como la progesterona (hormona reguladora en el organismo); la hidroxiprogesterona (hormona indicada para el tratamiento en el daño adrenogenital); la 16-dehidroprogesterona (hormona auxiliar en la síntesis de compuestos ocupados en la biomedicina) y la prasterona (hormona reguladora de la vitalidad en el organismo) llevando a cabo procesos de recristalización con diferentes metodologías de crecimiento. Las muestras obtenidas fueron analizadas por resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopía de infrarrojo con reflectancia total atenuada (RTA-IR) y difracción de rayos X (DRX).

Del análisis por espectroscopía de RMN de las muestras recristalizadas de la progesterona, dio como resultado que las señales extras que se presentaron en el medicamento (Geslutin[®]) ya no se observan así como tampoco se aprecian señales de los disolventes empleados. En la espectroscopía de RTA-IR una de las seis muestras presentó diferencias en la banda de flexión C-H fuera del plano.

Por último, el estudio por DRX demostró que la mayoría de las muestras presentan el polimorfo I de la progesterona. Sólo una muestra resultó ser una mezcla de los polimorfos I y II, correspondiendo con los cambios observados por IR.

En el análisis por espectroscopía de RMN de la hidroxiprogesterona determinó que de las 18 recristalizaciones cuatro de ellas mostraron desplazamientos químicos correspondientes a agua residual, etanol ó ciclohexano y en RMN de ¹³C solo se observan las 21 señales esperadas. Sin embargo, aunque existen diferencias en RMN, por espectroscopía de RTA-IR la hidroxiprogesterona no presentó cambios en las bandas de absorción en ninguna de las 18 muestras. Por último, mediante DRX se determinó que de las 18 cristalizaciones; dos de ellas (quienes no presentan

señales de disolvente en RMN) muestran reflexiones que no concuerdan con lo publicado. Por tanto, cabe la posibilidad de que dichas muestras presenten una estructura cristalina diferente.

El análisis por espectroscopía de RMN de la 16-dehidroprogesterona mostró que de las 12 muestras obtenidas, cinco de ellas presentaron señales de disolventes como acetona, diclorometano y benceno. Por tal motivo, las muestras de la 16-dehidroprogesterona mostraron mayor presencia de disolventes provenientes de las cristalizaciones. En el análisis por espectroscopía de RTA-IR dos muestras presentaron diferencias en las bandas con vibraciones de flexión de los enlaces carbono-carbono (C-C). Por último, en la difracción de rayos X de 16-dehidroprogesterona las reflexiones asociadas a cada muestra son similares a las reflexiones reportadas. Es importante resaltar que a pesar de que se observaron diferencias tanto en RMN como en RTA-IR, esto no condujo a un cambio en DRX. Por último, en el análisis por espectroscopía de RMN de prasterona se observó que casi todas las muestras presentaron señales de disolvente en 5.27 ppm (diclorometano) y en 2.14 ppm (acetona). En los análisis por espectroscopía de RTA-IR, sólo dos de las muestras cristalizadas de la prasterona mostraron espectros totalmente distintos entre sí, destacando las bandas provenientes de los hidroxilos y de los carbonos sp^2 . Por difracción de rayos X se determinó que existen mezclas de polimorfos. Tres de las muestras son mezclas de los polimorfos I y II de la prasterona, más otras reflexiones que no corresponden con lo reportado. Sólo una muestra corresponde con lo reportado para el polimorfo I más una reflexión que podría estar relacionada a alguna transición polimórfica.

1.- INTRODUCCIÓN

La explotación comercial de alcaloides, la síntesis de antipiréticos a partir del alquitrán, el desarrollo de vacunas y antibióticos, además del descubrimiento de la aspirina a finales del siglo XIX y mediados del siglo XX, favorecieron la producción masiva de productos farmacéuticos y con ello surgieron grandes firmas como Schering, Merck, Bristol, Sterling Drugs, Parke Davis, Hoffman-La Roche, entre otras.¹ La industria farmacéutica en México, surgió a mediados del siglo XIX cuando Leopoldo Río de la Loza inició la producción industrial de diversos compuestos químicos. Sin embargo, en un principio esta industria se caracterizaba por ser una empresa formuladora y acondicionadora de medicamentos a partir de principios activos importados.²

A inicios del siglo XX, la producción de hormonas esteroidales no era muy diferente en el mundo ya que se llevaba a cabo a partir de materias primas extraídas de animales. El procedimiento era muy complicado por lo que las hormonas eran compuestos químicos muy caros, por ejemplo la progesterona llegaba a costar hasta 80 dólares el gramo. El hecho de no disponer de hormonas en cantidad y calidad suficiente generaba un problema ya que la producción era limitada y los precios muy elevados. En 1938, el químico Russell E. Marker ideó una ruta sintética que describía a detalle la transformación de la diosgenina a la estructura de la progesterona (Figura 1); conocida hoy en día como la “Degradación de Marker”.³ En ese mismo año, Marker logró aislar y sintetizar a partir de diosgenina la progesterona, llevando a cabo la reacción propuesta con rendimientos aceptables. En 1944, Marker en conjunto con Somlo y Lehmann formaron en la ciudad de México la compañía Syntex, S.A. Durante este año se produjeron algunos kilogramos de progesterona a partir de diosgenina, que es una sapogenina aislada del material vegetal conocido como “cabeza de negro” (*Dioscorea mexicana*) y de otra planta conocida como “barbasco” (*Dioscorea composita*).⁴ Con este nuevo proceso de producción de progesterona, el costo disminuyó a 18 dólares el gramo. En 1945, Syntex fue el primer lugar en productos farmacéuticos del ramo y en 1951 vendió diez toneladas de progesterona a 1.75 dólares el gramo, lo que llevó a una producción masiva de corticoides, progestágenos, estrógenos y andrógenos que

significó una gran aportación de la industria farmacéutica mexicana. Uno de los logros más importantes de Syntex, fue la producción del primer anticonceptivo oral obtenido por síntesis química: la noretindrona o también llamada 19-norestisterona.⁵

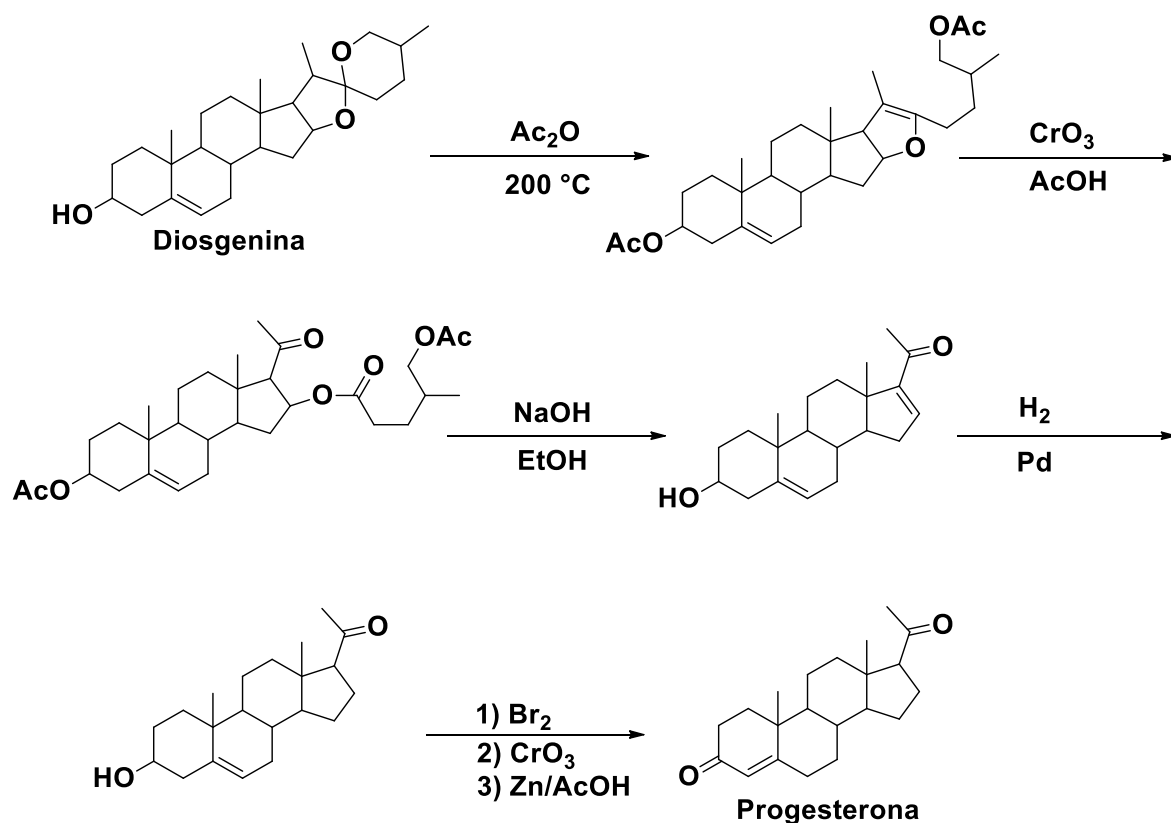


Figura 1. Degradación de Marker.

1.1 Esteroides

De acuerdo a la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (UIQPA), los esteroides son aquellos compuestos que poseen el esqueleto del ciclopentanoperhidrofenantreno o un derivado obtenido mediante rupturas, alargamientos o contracciones de los anillos. Son sustancias ampliamente difundidas en la naturaleza por organismos eucariontes. Esta clase de productos naturales de gran importancia biológica, son denominados en algunos casos esteroides (por poseer un grupo hidroxilo en el carbono 3), por lo cual la palabra

“esteroide” es sinónimo de estero. Los ácidos biliares, muchas hormonas sexuales, las hormonas corticoides, los esteroides cardioactivos (cardenólidos y bufanólidos), las sapogeninas esteroideas y los alcaloides esteroideos se consideran “hidrocarburos esteroideos”; estos son las bases estructurales y estereoprogenitoras de los esteroides.⁶

1.1.1 Nomenclatura de los esteroides

Dada la gran importancia de los esteroides en los seres vivos y lo que ha significado en la industria farmacéutica, es conveniente definir su nomenclatura. De acuerdo a la UIQPA, la numeración del esqueleto hidrocarbonado debe comenzar en el anillo A, seguido del anillo B, luego el anillo C y por último el anillo D; tal como se muestra en la figura 2.

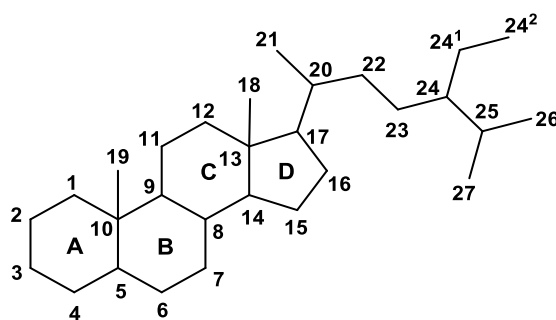


Figura 2. Numeración del esqueleto esteroide.

La mayoría de los esteroides pertenecen a la serie 5α (fusión *trans* de los anillos A y B) y la minoría a la serie 5β (fusión *cis* de los anillos A y B); algunos esteroides tienen una insaturación en C-5 además de que es común que sobre C-10 y C-13 haya metilos y una cadena lateral sobre C-17. En el carbono 17 los sustituyentes se enumeran del 20-27; 28, 29 y 30 son asignados a metilos adicionales en los carbonos 4 y 14 como en el lanosterol. Los carbonos de grupos metilo o etilo que estén en el carbono 24 serán numerados con superíndices.

Al igual que en otras moléculas, en el ciclopentanoperhidrofenantreno se observa diferente estereoquímica dependiendo del acomodo de los dos anillos en el policiclo pudiendo unirse de forma *cis* o *trans*, siendo en la conformación de silla donde se logra apreciar con mayor claridad dicha estereoquímica (Figura 3).⁷

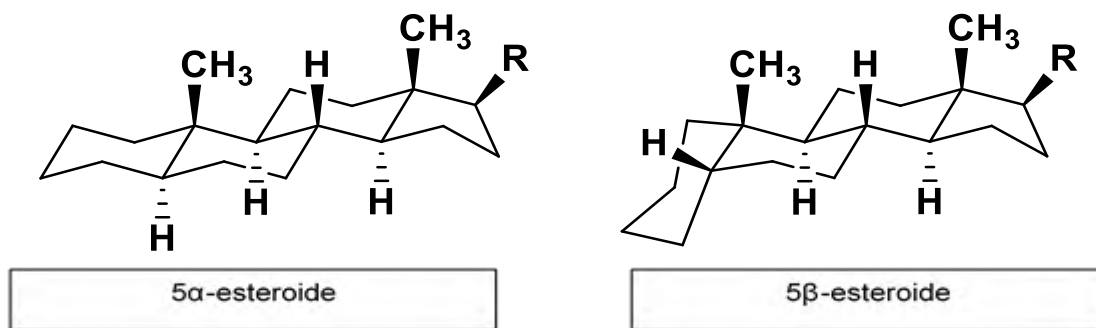


Figura 3. Policiclos en configuración *trans* (α) y *cis* (β).

Los cuatro anillos del núcleo policíclico de los esteroides pueden llegar a formar esteroisómeros, de los cuales se destacan aquellos que se suelen encontrar con más frecuencia en los esteroides naturales teniendo las siguientes configuraciones:

- A: B-*trans*, B: C-*trans*, C: D-*trans*.
- A: B-*cis*, B: C-*trans*, C: D-*trans*.

Todo esto hace que las hormonas esteroidales o los esteroides en general tengan una diversa configuración química dependiendo de los sustituyentes en los ciclos. Dichos sustituyentes a su vez serán nombrados de acuerdo a la nomenclatura de compuestos orgánicos respetando prioridades de grupos funcionales.

Una vez abordado el tema de la nomenclatura del esqueleto esteroideal y cómo pueden presentar configuraciones estructurales distintas dependiendo de las posiciones de los anillos y sustituyentes, lo siguiente es hablar de núcleos esteroidales ya que son la base de los compuestos farmacéuticos conocidos hasta el momento y son agrupados por el número de carbonos que posee cada núcleo.

1.1.2 Núcleos esteroidales

Los núcleos esteroidales son aquellas estructuras que de acuerdo al número de carbonos presentes en la estructura se consideran básicas para nombrar y clasificar a las moléculas esteroidales, descritas por la UIQPA. Los núcleos dependiendo de

los sustituyentes se dividen además en dos importantes grupos, el primero de ellos son los esteroidales con posiciones α/β en el carbono 5 y sin sustituyentes en el carbono 17 nombrados como: gonano, estrano y androstano. El segundo grupo con posiciones α/β en el carbono 5 pero con sustituyentes en el carbono 17 nombrados como: pregnano, colano, colestano, ergostano, campestano, estigmastano y poriferastano (Figura 4).⁸

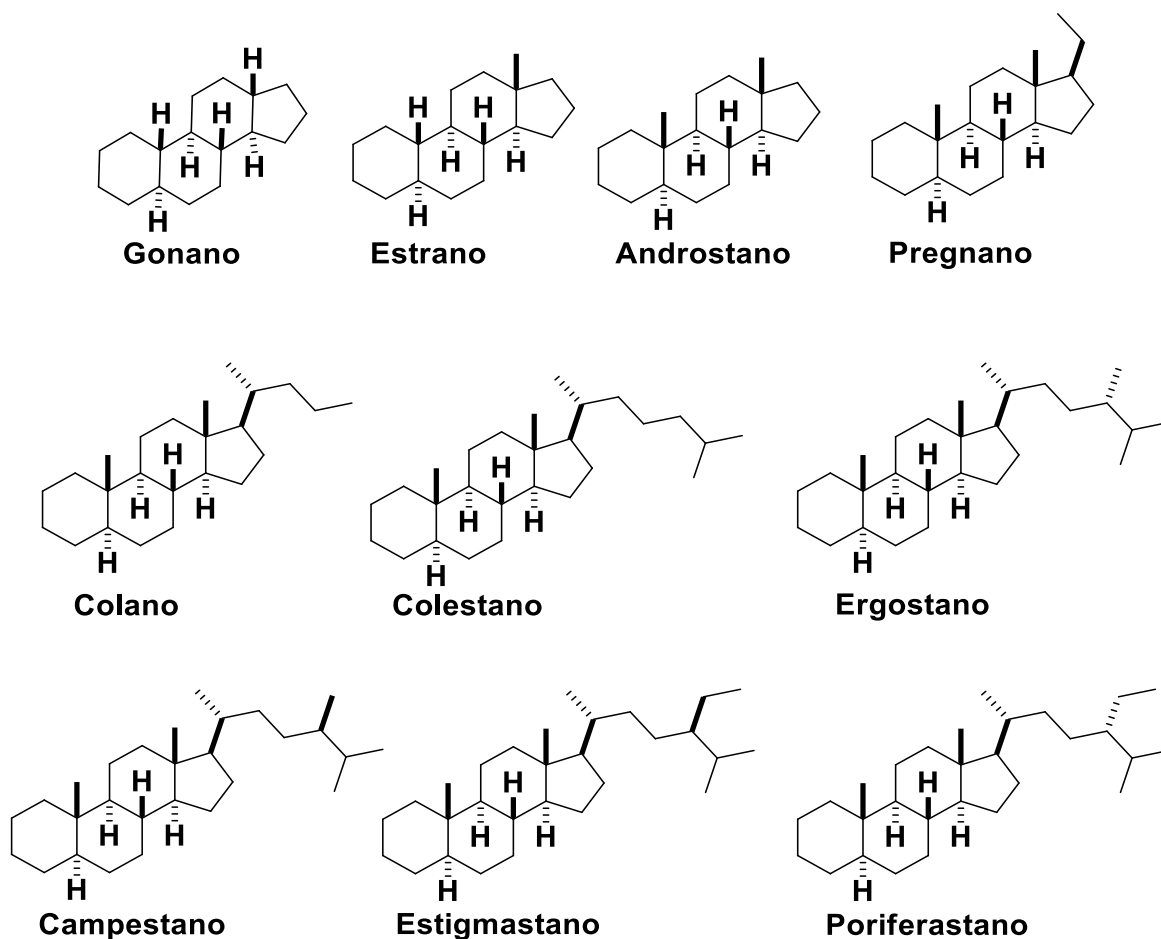


Figura 4. Núcleos esteroidales.

Debido a que los núcleos esteroidales poseen diferentes configuraciones estructurales dependiendo del número de carbonos que lo conformen, cada núcleo es la base de un sin número de hormonas cuyas capacidades de respuesta y funciones son distintas entre sí dependiendo de los sustituyentes en la molécula.

Las hormonas dependiendo su función se clasifican en glucocorticoides, mineralocorticoides, andrógenos, estrógenos y progestágenos.

1.1.3 Características químicas de los glucocorticoides

Los glucocorticoides son hormonas de la familia de los corticoesteroides secretadas por la corteza suprarrenal, entre sus funciones se encuentra el de regular el metabolismo de carbohidratos favoreciendo la gluconeogénesis y la glucogenogénesis hepática.

En la industria de los medicamentos son utilizados como fármacos con efecto antiinflamatorio, antialérgico e inmunosupresor.⁹ Se han efectuado modificaciones sintéticas con el fin de aumentar ciertas actividades farmacocinéticas, es decir, aumentar su absorción, retención y su actividad antiinflamatoria.¹⁰ El cortisol es un ejemplo del grupo de los glucocorticoides, teniendo como principales características dos grupos cetónicos en C-3 y C-20 así como grupos hidroxilos en las posiciones C-11, C-17 y C-21 (Figura 5).

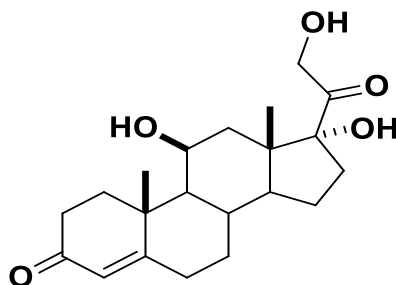


Figura 5. Estructura del cortisol.

1.1.4 Características químicas de los mineralo-corticoides

La principal hormona de los mineralo-corticoides es la aldosterona la cual es sintetizada en la corteza suprarrenal mediante la oxidación de la corticosterona y la formación del grupo aldehído en el C-18 (Figura 6), el hecho de poseer un grupo aldehído en el anillo C y la presencia de grupos hidroxilos hace que electrolitos o elementos con carga positiva tales como Na^+ , K^+ , Mg^{2+} y Ca^{2+} sean atraídos y así facilitar su absorción y/o eliminación.¹¹

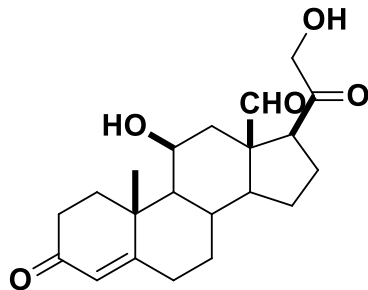


Figura 6. Estructura de la aldosterona.

1.1.5 Características químicas de los andrógenos

Los principales productos de los andrógenos son la testosterona (Figura 7), dihidrotestosterona (estanolona), androstenodiona y la deshidroepiandrosterona. En los hombres, la testosterona juega un papel clave en el desarrollo de los tejidos reproductivos masculinos; así también en el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios.

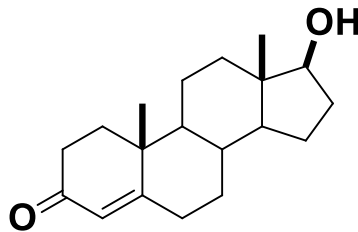


Figura 7. Estructura de la testosterona.

En su formulación como principios activos muchos de los andrógenos, se les añaden derivados esterificados en el hidroxilo del C-17 del anillo D con el fin de prolongar o retrasar la absorción a partir del depósito intramuscular y en otros se hacen para reducir la actividad androgénica y mantener la actividad anabolizante. El propionato, buciclato, enantato y cipionato de testosterona; son algunos ejemplos de los andrógenos que se encuentran en el mercado, siendo este tipo de esteroides uno de los más sintetizados, distribuidos y/o recetados.¹²

1.1.6 Características químicas de los estrógenos

El principal producto de los estrógenos es la hormona 17 β -estradiol, contiene en su estructura tres dobles ligaduras conjugadas en el anillo A, el cual le confiere carácter aromático a la molécula, además de dos grupos hidroxilo en C-3 y C-17. La estrona y el estriol son metabolitos del 17 β -estradiol; la estrona por su parte, es un producto de la oxidación del estradiol adquiriendo el grupo funcional cetona en C-17 mientras que el estriol se forma a partir de la hidratación del estradiol adicionando un grupo hidroxilo en C-16 (Figura 8). Las principales funciones de dichas moléculas son sobre el sistema reproductor, efectos metabólicos y cardiovasculares, entre otros.¹³



Figura 8. Estructura molecular de los principales componentes del grupo de los estrógenos.

Los estrógenos son comunes en la industria farmacéutica como ésteres de estradiol (valerato y succinato) los cuales se administran de forma oral. Por otra parte, los estrógenos sintéticos suelen presentar una mayor resistencia a la metabolización hepática, entre los más importantes están el etinilestradiol y el mestranol.¹⁴

1.1.7 Características químicas de los progestágenos

Su núcleo esteroidal es el pregnano y su molécula más representativa es la progesterona, su aporte principal es en las acciones progestacionales y en las glándulas mamarias, entre otras.¹⁵

Los progestágenos suelen dividirse de dos formas, que son las siguientes:

a) Derivados del pregnano: su principal característica es que poseen 21 carbonos en su esqueleto, suelen presentar grupos cetónicos en C-3 y C-20 (Figura 9).¹⁵

- Progesterona: presenta dos grupos cetónicos en las posiciones 3 y 20, además un doble enlace en C-4.
- 16-dehidroprogesterona: difiere de la progesterona al presentar un doble enlace extra en C-16.
- Hidroxiprogesterona: exhibe la misma estructura de la progesterona pero además posee un hidroxilo alfa en C-17.
- Medroxiprogesterona: consta de grupos cetónicos en C-3 y C-20, además un metilo en el C-6 del anillo B.
- Algesterona: es una dihidroxiprogesterona, es decir, posee dos grupos hidroxilos uno en el C-16 y otro en el C-17.

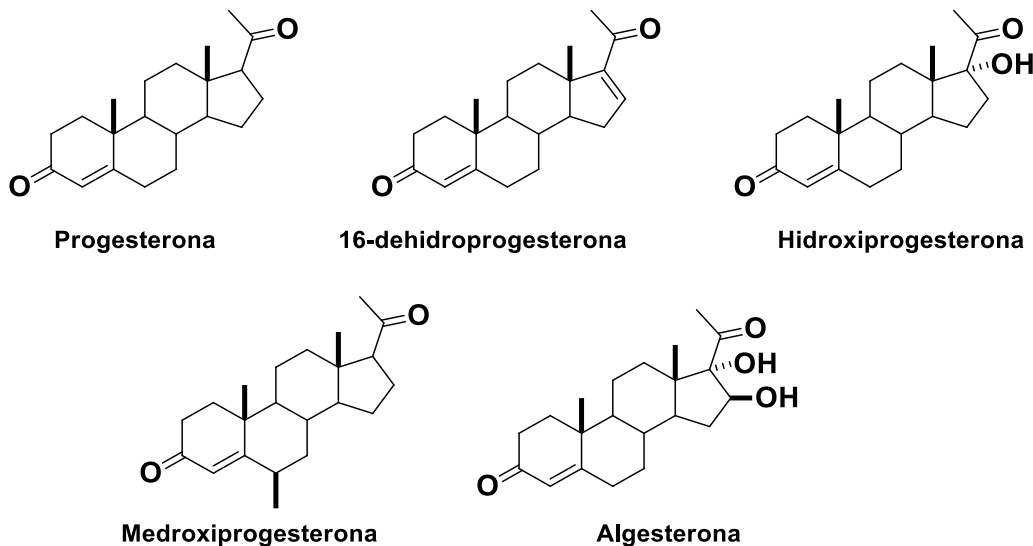


Figura 9. Estructura molecular de los derivados del pregnano.

b) 19-norderivados: como principales características son el de carecer de un grupo metilo en la posición C-19 y poseer incorporaciones de varias modificaciones en la estructura básica de los estranos, androstanos y gonanos (Figura 10).

- 19-noretisterona: posee un etino además de un grupo hidroxilo en C-17 en posición α .

- Noretinodrel: posee un doble enlace entre C-5 y C-10 más un grupo etino en C-17.
- Etinodiol: es una hormona que tiene dos grupos hidroxilos; uno en C-3 y el otro en C-17, un doble enlace entre C-4 y C-5 y un grupo etino en C-17.
- Norgestrel: posee en su estructura un grupo cetona en C-3, un grupo hidroxilo en C-17, un etino en C-17, un grupo etilo en C-13 y un doble enlace entre C-4 y C-5. En la molécula de norgestrel existen dos enantiómeros el *dextro*-norgestrel y el *levo*-norgestrel siendo este último el que posee la actividad biológica.

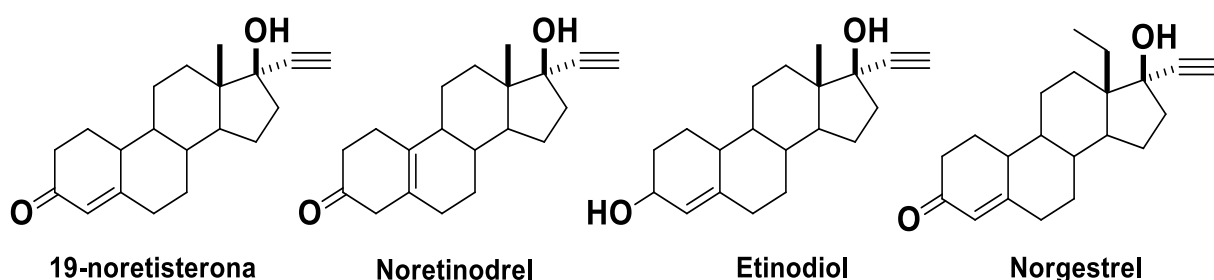


Figura 10. Estructura molecular de los 19-norderivados.

1.2 Relación entre la estructura molecular y la cristalina

El conocimiento de la estructura molecular es fundamental para el estudio del comportamiento de un compuesto. Las propiedades fisicoquímicas características de una molécula como la polaridad, la acidez o basicidad, entre otros dependen de los átomos que lo conforman, el tipo de enlace químico, la disposición espacial, etc. Dicha configuración da información que proporciona características de conectividad que permiten determinar la geometría (distancias y ángulos de enlace), configuración electrónica y el tipo de enlace (sencillo, doble o triple) así como la fuerza de éste. Pero hay información adicional que no se puede determinar solo con conocer la estructura molecular; existen características que solo pueden ser explicadas mediante el arreglo atómico de varias moléculas en el estado sólido (estructura cristalina).

El comportamiento y arreglo de varias moléculas en el espacio, su interacción y el análisis de dicha interacción, es conocer la estructura cristalina. El volumen molar, la densidad, conductividad, higroscopicidad, tensión superficial, hábito cristalino, son solo algunas de las características que proporciona la estructura cristalina y con ello las aplicaciones de diversos materiales. Por ejemplo, el SiO_2 es un compuesto que molecularmente está conformado por un átomo de silicio y dos átomos de oxígeno con dobles enlaces presentes. Este compuesto en su forma sólida se puede encontrar amorfo (no posee empaquetamiento periódico) o cristalino (posee un empaquetamiento periódico) (Figura 11). Lo anterior da una idea clara de cómo un compuesto a pesar de estar conformado por los mismos átomos puede tener distinto ordenamiento y arreglo en estado sólido que derivan en distintas propiedades y distintas aplicaciones.

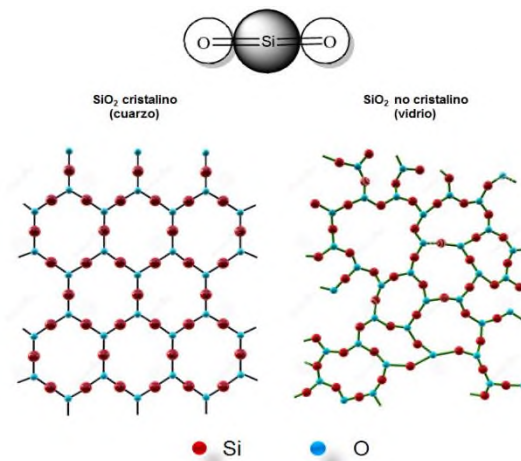


Figura 11. Estructura molecular y cristalina del dióxido de silicio.

Es por ello que, tanto un análisis de la estructura molecular como de la cristalina es fundamental para conocer todas las propiedades y a su vez las posibles aplicaciones industriales de cualquier compuesto.

Los detalles de las formas cristalinas y la ciencia que se encarga de su estudio (cristalografía) se encuentran en el anexo A.

1.3 Polimorfismo

En la industria química y farmacéutica es frecuente el fenómeno del polimorfismo durante la obtención de un producto o de un principio activo. El polimorfismo se define como la capacidad de un compuesto a cristalizar en más de una forma cristalina difiriendo entre sus arreglos y/o conformaciones moleculares y atómicas dentro de la red del cristal.¹⁶

El polimorfismo está relacionado con el comportamiento del sólido obtenido, ya sea durante su caracterización química o durante el procesado y almacenamiento. Siendo este fenómeno detectable mediante la medición de ciertos parámetros como son el punto de fusión, solubilidad, cambio en el aspecto físico (color, textura, forma del producto o productos obtenidos).¹⁶

1.3.1 Características del polimorfismo.

En las sustancias sólidas cristalinas los átomos de una molécula pueden arreglarse en una de siete formas fundamentales: triclinica, monoclinica, ortorrómbica, tetragonal, trigonal, hexagonal o cúbica. La diferencia en el acomodo de los átomos en cada uno de estos siete arreglos cristalinos es lo que provoca el polimorfismo. Existen dos tipos de polimorfismo dependiendo de la termodinámica: el monotrópico y el enantiotrópico. En el caso de los polimorfos monotrópicos la forma de mayor energía (forma metaestable), siempre sin importar los cambios de temperatura, se transformará en la forma de menor energía (forma estable). Sin embargo, en los polimorfos enantiotrópicos esta transición es reversible, es decir, existe una temperatura de transición en la que es posible obtener cualquiera de las formas polimórficas. Lo anterior es de vital importancia ya que esto significa el seguir tratando de separar polimorfos o desistir en la producción de dicho compuesto.¹⁷

También se puede presentar el llamado pseudopolimorfismo cuando, al cristalizar una sustancia, incluye de manera estequiométrica el disolvente con el que entró en contacto (llamado solvato). Siendo el agua el disolvente universal en los productos farmacéuticos, llegando a formar normalmente hidratos (Figura 12). Dicho disolvente puede hacer contacto con el cristal en los procesos de cristalización, liofilización, granulación, recubrimiento, secado o durante el almacenamiento.¹⁷ La

incorporación de estas moléculas de disolvente en la red cristalina puede provocar cambios en la celda unitaria del cristal con respecto al cristal anhidro generando solvatos con propiedades fisicoquímicas diferentes.¹⁸

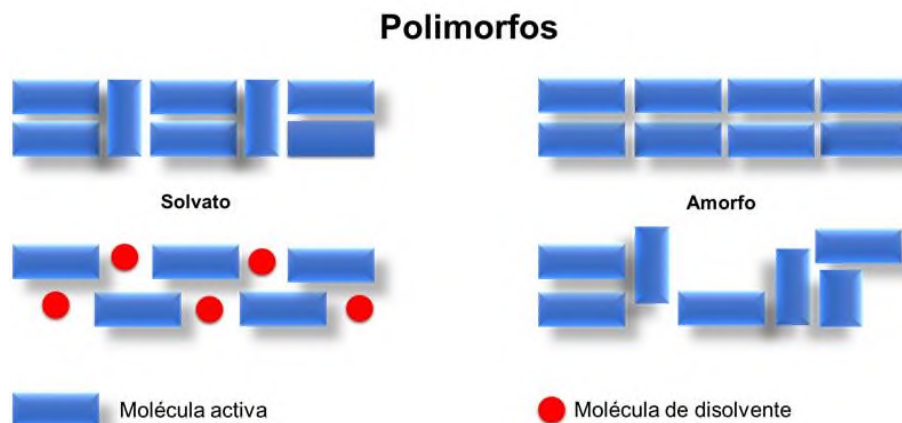


Figura 12. Diferentes forma sólidas en las que se puede encontrar un principio activo.

Algunos medicamentos son más propensos a formar solvatos que otros, ejemplos de ellos son los esteroides, antibióticos y sulfonamidas.¹⁹ Se ha detectado que los porcentajes son: 70% en los barbitúricos, 60% para las sulfonamidas y 23% en los esteroides.²⁰ No existe una nomenclatura definida para los polimorfos, para poder identificarlos usualmente se usan números romanos. Se nombra como I, generalmente a la fase más estable y menos soluble, y las formas menos estables en el orden decreciente de su temperatura de fusión denominándose con II y III, etc. Otra clasificación es de acuerdo con el orden de descubrimiento de la forma cristalina empleando también letras griegas (α , β , etc.), denotando α a la primera forma descubierta. Esta última clasificación es usada para nombrar ácidos grasos, alcoholes y ésteres.¹⁶

1.3.2 Importancia del polimorfismo

El estudio del polimorfismo es importante y aún más en el área farmacéutica debido a que muchos medicamentos reciben la aprobación de agencias reguladoras para una forma cristalina específica de un fármaco. Pero el polimorfo específico puede

desaparecer dando paso a otro polimorfo más estable, haciendo más difícil la obtención del polimorfo anterior y por ende la no aprobación para salir al mercado. Una de las principales consecuencias es una diferencia de solubilidad, es decir, cuando un medicamento presenta polimorfismo cada uno de estos polimorfos presentarán diferentes velocidades de disolución y cada uno de ellos serán más o menos biodisponible en el organismo.²¹ Dicho esto, el cambio en los procesos de producción para la obtención de un principio activo de interés con propiedades específicas es uno de los pasos a realizar para repatentar un medicamento.²² Uno claro ejemplo de la importancia del polimorfismo es el Norvir® (ritonavir), un medicamento indicado para personas con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH).²³ La forma I es la que por años se creía como única forma cristalina del ritonavir, pero tras varios años en el mercado ciertos lotes no pasaron las pruebas de solubilidad. Los estudios por difracción de rayos X (DRX) demostraron que el ritonavir había cristalizado en otra estructura cristalina más estable y menos soluble (Figura 13). El Norvir® fue retirado del mercado, se repatentaron nuevas fórmulas, se estudió la cristalización y se rediseñó todo el proceso de producción, lo que supuso pérdidas millonarias para la compañía AbbVie Inc.²⁴

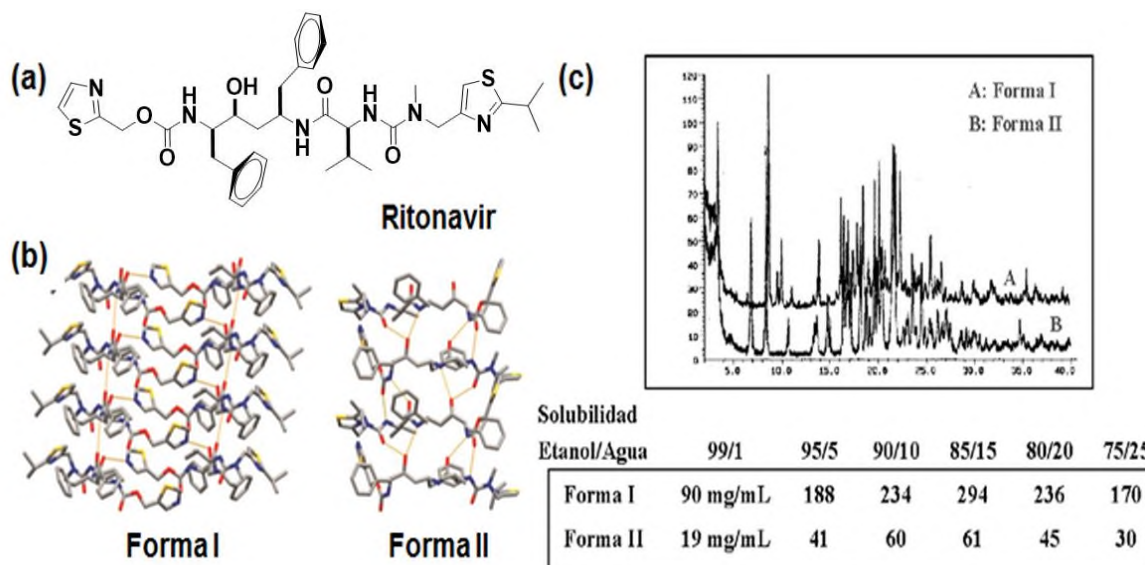


Figura 13. (a) Estructura molecular, (b) estructuras cristalinas y (c) difractogramas de las formas I y II del ritonavir.²⁴

Los esteroides como se menciona en el apartado anterior tienen un 23% de posibilidades de poseer polimorfismo o pseudopolimorfismo, denotando que en el mercado de los medicamentos a base de esteroides, existe gran variedad de ellos (Figura 14).

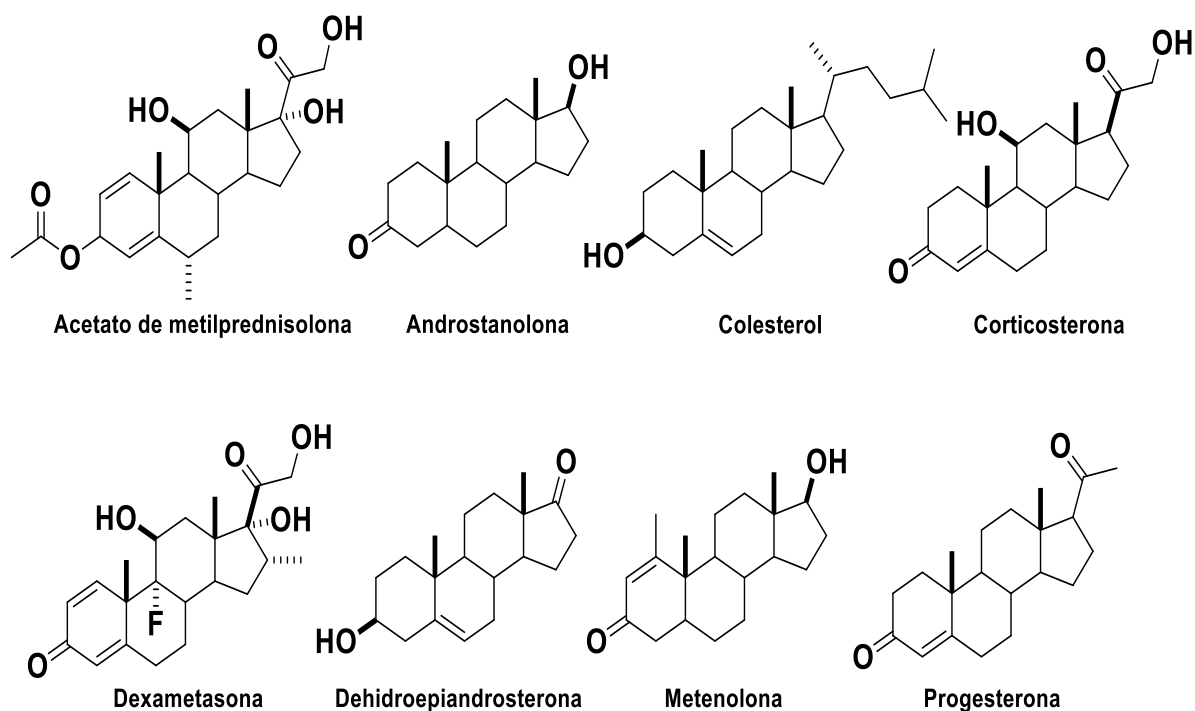


Figura 14. Esteroides de importancia clínica que presentan polimorfismo o pseudopolimorfismo.

1.3.3 Polimorfismo en espironolactona: formas I y II

La espironolactona ($C_{24}H_{32}O_4S$) es un esteroide sintético que se introdujo clínicamente como fármaco en 1959 y que se usa ampliamente como diurético, especialmente en los casos de hipertensión y como un anti-andrógeno. El comportamiento polimórfico de la espironolactona fue descubierto en 1983, cuando observaron que existían diferencias en las velocidades de disolución en el compuesto. No fue hasta años después que se encontraron diferencias espectroscópicas mediante espectroscopía infrarroja y posteriormente se lograron identificar y diferenciar mediante difracción de rayos X de monocristal dos polimorfos y cinco solvatos. Se encontró que las formas I y II de la espironolactona poseen

puntos de fusión de 205°C y 210°C respectivamente. La estructura cristalina es ortorrómbica ($P2_12_12_1$) para ambos y los parámetros de celda para la forma I son: $a=9.976 \text{ \AA}$, $b=35.573 \text{ \AA}$, $c=6.225 \text{ \AA}$, $V=2209.105 \text{ \AA}^3$ y para la forma II son: $a=10.584 \text{ \AA}$, $b=11.005 \text{ \AA}$, $c=18.996 \text{ \AA}$, $V=2212.60 \text{ \AA}^3$ difiriendo en las conformaciones de los anillos esteroidales. La celda unitaria de la forma I es ligeramente menor que la forma II por lo que el autor propone que la aplicación de altas presiones sobre la forma II lleve a la formación del polimorfo I debido a que la forma II es la más estable (Figura 15).²⁵

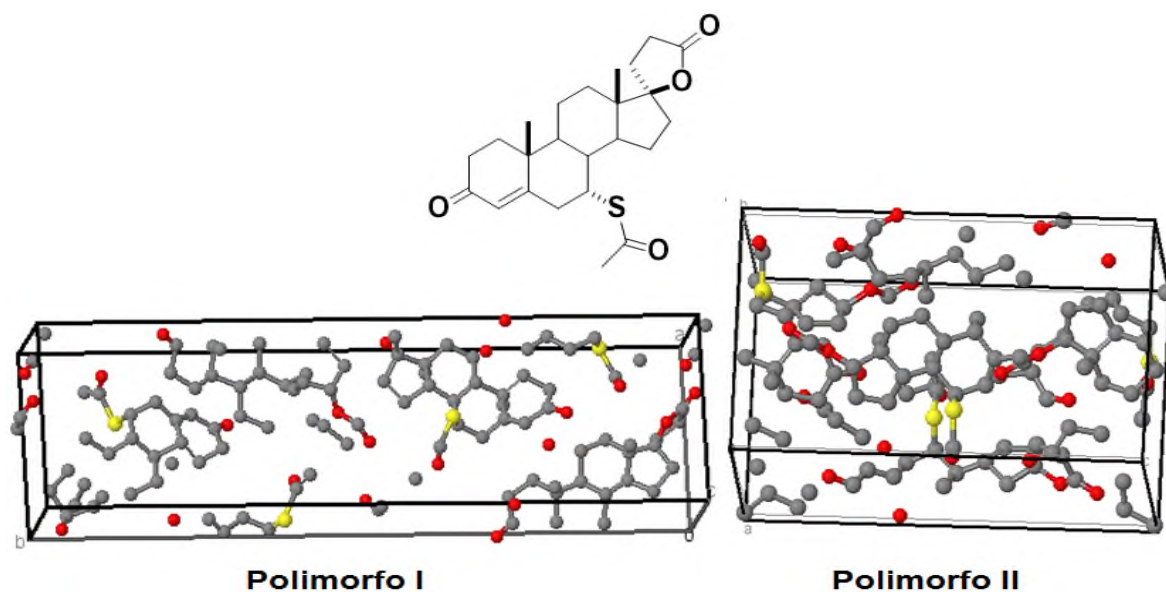


Figura 15. Estructura molecular y cristalina de la espironolactona.

La recristalización en acetona a temperatura ambiente y temperatura de ebullición produjo los polimorfos (forma I y forma II) y se examinaron mediante espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) de reflectancia difusa. Los resultados del análisis de la espironolactona mostraron que incrementando la presión en el proceso de obtención de los espectros de infrarrojo de reflectancia difusa (presiones comparables al comprimir una tableta), cambiaron las bandas de vibración en ambas formas dando lugar a transiciones polimórficas no descritas en la literatura. Por lo tanto, no hubo transición de la forma II a la forma I como se tenía previsto y ambos dan lugar a nuevas transiciones polimórficas (Figura 16).²⁶

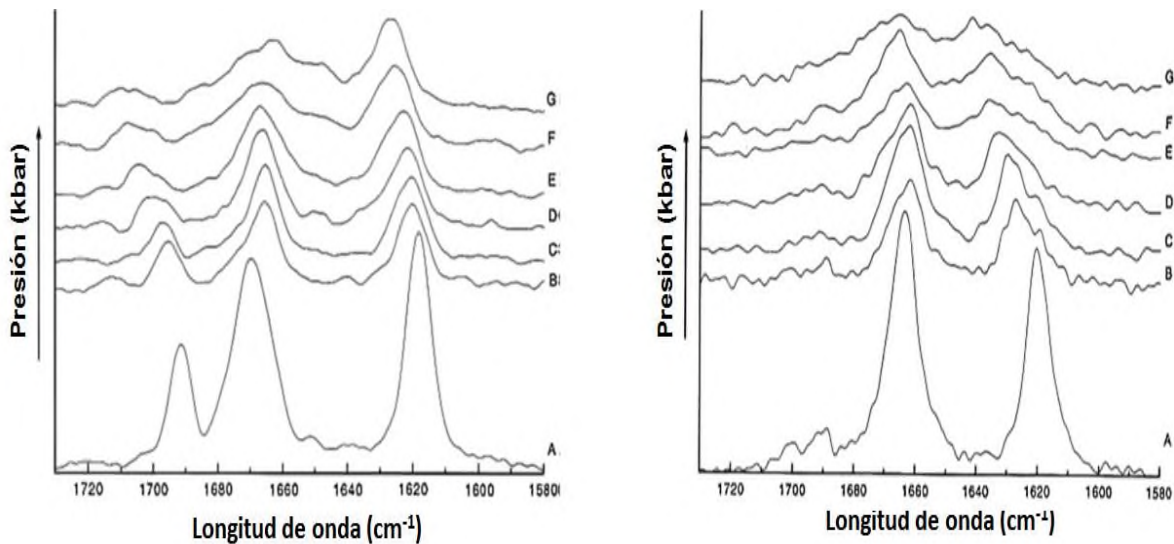


Figura 16. Espectros de infrarrojo para los dos polimorfos de la espirolactona. Izquierda, bandas de absorción para la forma I y derecha, bandas de absorción para la forma II (A [0.001], B [11.0], C [15.8], D [21.2], E [28.7], F [35.7] y G [38.2] Kbar).

El fenómeno de transiciones polimórficas ha motivado a intensas investigaciones, buscando entender cómo y por qué se forma un polimorfo y las variaciones encontradas. A pesar de ello, el conocimiento que se tiene sobre ese campo es todavía limitado y a veces la aparición de un polimorfo está fundamentada por la casualidad en lugar de un diseño y/o control humano. Ya que como en el caso de la espirolactona, el simple hecho de variar condiciones de cristalización (temperatura, disolvente, velocidad de adición de los reactivos, método de cristalización), haciendo estudios de fusión/solidificación con muestras de formas cristalinas ya precipitadas, aplicando presión a formas ya precipitadas, etc. se pueden llegar a presentar estructuras cristalinas de las ya conocidas.

2.- ANTECEDENTES

2.1 Compuestos esteroideos

En este proyecto se trabajó con cuatro compuestos esteroideos: progesterona, hidroxiprogesterona, 16-dehidroprogesterona y prasterona.

2.1.1 Progesterona

La progesterona (pregn-4-en-3,20-diona) con fórmula molecular $C_{21}H_{30}O_2$, es una hormona esteroidea con funciones biológicas diversas tales como reguladora de diversas hormonas, trastornos menstruales, soporte de la fase lútea, infertilidad, entre muchos otros trastornos ginecológicos. A pesar de que han pasado aproximadamente 80 años desde su aislamiento, se siguen realizando estudios biológicos y de caracterización de esta hormona.²⁷

En el año de 1929, George Corner y Willard Myron Allen, en la Universidad de Rochester en Estados Unidos, establecieron un método de bioensayo que les permitió aislar de los ovarios de una cerda, una hormona a la que nombraron progestin para recalcar su participación en la gestación. Dos años después Allen logró purificar el material extraído del cuerpo lúteo obteniendo el compuesto en forma cristalina. Dicho compuesto fue descrito por Adolf Frederick y Johann Butenandt en 1934, estableciendo para esta hormona el sufijo de esterona. Es así como el nombre de progesterona surge en 1935 en la segunda conferencia internacional sobre estandarización de hormonas sexuales. En 1938 Wilhelm Dirscherl y colaboradores sintetizaron la progesterona a partir del colesterol, lo que constituyó la base para la producción industrial.²⁷

En la actualidad, la progesterona es comercializada en múltiples presentaciones; siendo la más usual, las cápsulas soportadas en un vehículo. El vehículo en el área farmacéutica es aquella sustancia que se emplea para diluir al complejo a un volumen y peso determinados así también para facilitar su dosificación, administración y para conservar las características fisicoquímicas. La importancia como medicamento y precursor para la síntesis de diversas hormonas, da como

resultado una gran demanda de progesterona en el mercado mundial y por ende su importancia en la producción a nivel industrial.

2.1.1.1 Polimorfos de la progesterona

Los datos cristalográficos para la progesterona datan desde 1950, por ende se ha llevado a suponer que existen al menos cinco formas cristalinas (esto debido a las variaciones de los puntos de fusión y el hábito cristalino),²⁸ pero sólo dos se han estudiado y verificado desde los años 70, nombrados como forma I y forma II o también nombrados forma α y β .²⁹ La forma I tiene un punto de fusión de 129°C en comparación con la forma II que tiene un punto de fusión de aproximadamente de 122°C.²⁹ En la base de datos de compuestos orgánicos del centro de datos cristalográficos de Cambridge (CCDC, por sus siglas en inglés) se encuentran 10 códigos cristalinos relacionados con la fórmula molecular C₂₁H₃₀O₂ de los cuales 7 inician con el mismo código cristalográfico PROGST³⁰ (Tabla 1).

Tabla 1. Códigos cristalográficos relacionados con la progesterona.

Código CCDC	Nombre	Polimorfo	Referencia
PROGST01	Progesterona	Forma 2	Cameroni <i>et. al</i> , 1973
PROGST02	Progesterona	Forma 1	Van den bossche, 1971
PROGST03	Progesterona	Forma 1	Haner; Norton, 1964
PROGST10	Progesterona	Forma 1	Campsteyn <i>et. al</i> , 1972
PROGST11	Progesterona	Forma 1	Kuhnert-Brändstter; Kofler, 1959
PROGST12	Progesterona	Forma 1	Lancaster <i>et. al</i> , 2007
PROGST13	Progesterona	Forma 2	Lancaster <i>et. al</i> , 2007
PRETPG	<i>rac</i> -pseudo-retro-progesterona	N/A	Weber; Galantay, 1974
EWACU01	<i>ent</i> -progesterona (enantiómero)	Forma 2	Auchus <i>et. al</i> , 2003
KESBEQ	<i>rac</i> -progesterona (mezcla racémica)	N/A	Lancaster <i>et. al</i> , 2006

La progesterona ha sido objeto de estudio, ya sea para establecer claramente sus polimorfos o por introducir técnicas novedosas en los métodos de cristalización. Uno de los aportes dados por dichos estudios, es que la forma metaestable de la progesterona (forma II o β) tiende a transformarse en la forma I pasado cierto tiempo, ya que la forma I es 1.1 Kcal/mol más estable que la forma II. No obstante, la forma II presenta una cinética de disolución más favorecida, por ende, es más biodisponible en el organismo.³⁰ Entre los métodos descritos en la literatura que abordan la obtención de los dos polimorfos son: la sono-cristalización,²⁹ cristalización mediada por disolventes,³¹ gradientes de temperatura a diferentes concentraciones de la progesterona, co-cristalización mediante la inclusión de otra hormona (pregnenolona), entre otros.³²

Difracción de rayos X:

Los polimorfos observados en la progesterona son dos. En la forma I ó α la estructura cristalina es ortorrómbica y tiende a una morfología prismática teniendo como código en la CCDC de PROGST01 y como parámetros de celda ($P2_12_12_1$; $a=10.2496 \text{ \AA}$, $b=12.4830 \text{ \AA}$, $c=13.6406 \text{ \AA}$; $Z'=1$).³³ La forma II ó β también tiene una estructura ortorrómbica, pero con la diferencia de que sus cristales macroscópicamente son en forma de aguja; encontrándose en la CCDC con el código de PROGST10 con parámetros de celda ($P2_12_12_1$; $a=6.2089 \text{ \AA}$, $b=12.5804 \text{ \AA}$, $c=22.188 \text{ \AA}$; $Z'=1$).³⁴

La interacción de los átomos en la red cristalina de la molécula de progesterona es distinta, por ende, se puede observar las diferencias que existen en la forma de la celda unidad y cómo el acomodo de las moléculas influye en el volumen de ésta (Figura 17).

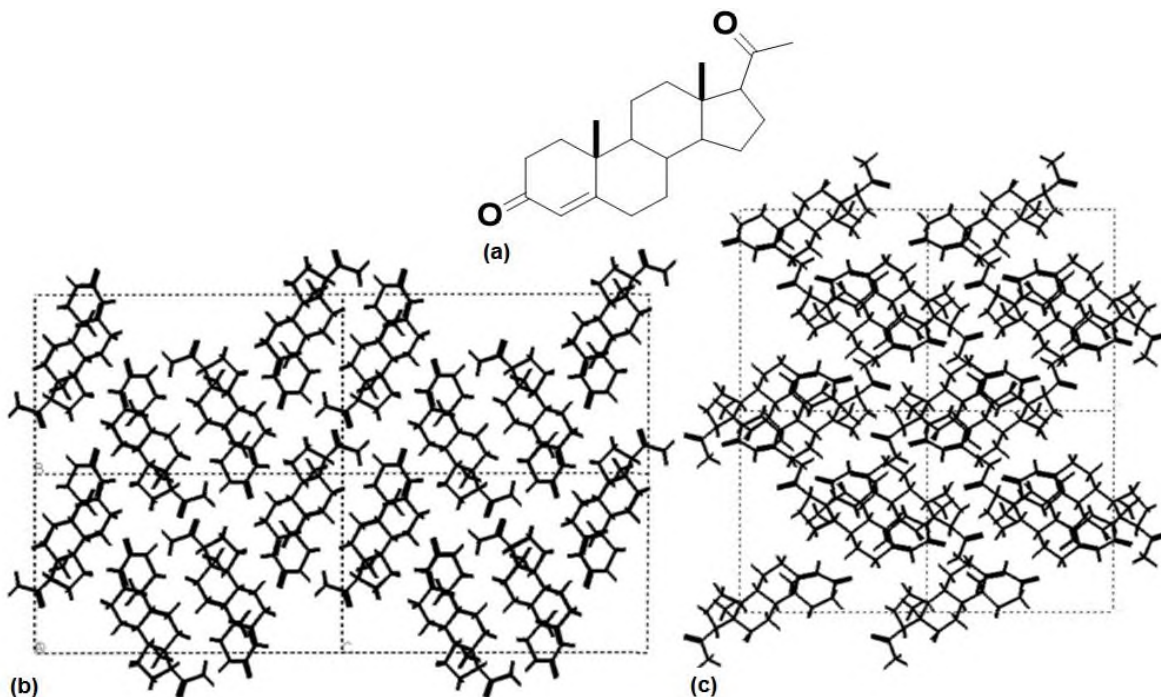


Figura 17. (a) Estructura molecular de la progesterona, (b) forma I y (c) forma II.

Otras técnicas de análisis:

La espectroscopia Raman es una técnica que estudia la luz dispersada y no la absorbida, es decir, el cambio de la energía de un fotón producto de la interacción de éste con la molécula durante la colisión. En el caso de la progesterona, el análisis por Raman de modo *in situ* sirvió para poder observar el proceso de cristalización y seguir la transformación polimórfica, pudiendo diferenciar a la forma II.³¹ En Raman la banda distintiva entre los dos polimorfos está en 1600 a 1700 cm^{-1} .³⁵ Por otro lado, la espectroscopia infrarroja se ha venido utilizando para describir las distintas bandas de absorción características para cada polimorfo, se tiene que en la región entre 850 a 890 cm^{-1} existen bandas propias para cada polimorfo, para la forma I en 870 cm^{-1} y para la forma II en 864 cm^{-1} ; notando que las principales diferencias presentadas en los espectros ocurre posiblemente en las partes menos impedidas, es decir, en los enlaces carbonilos (Figura 18).³⁴

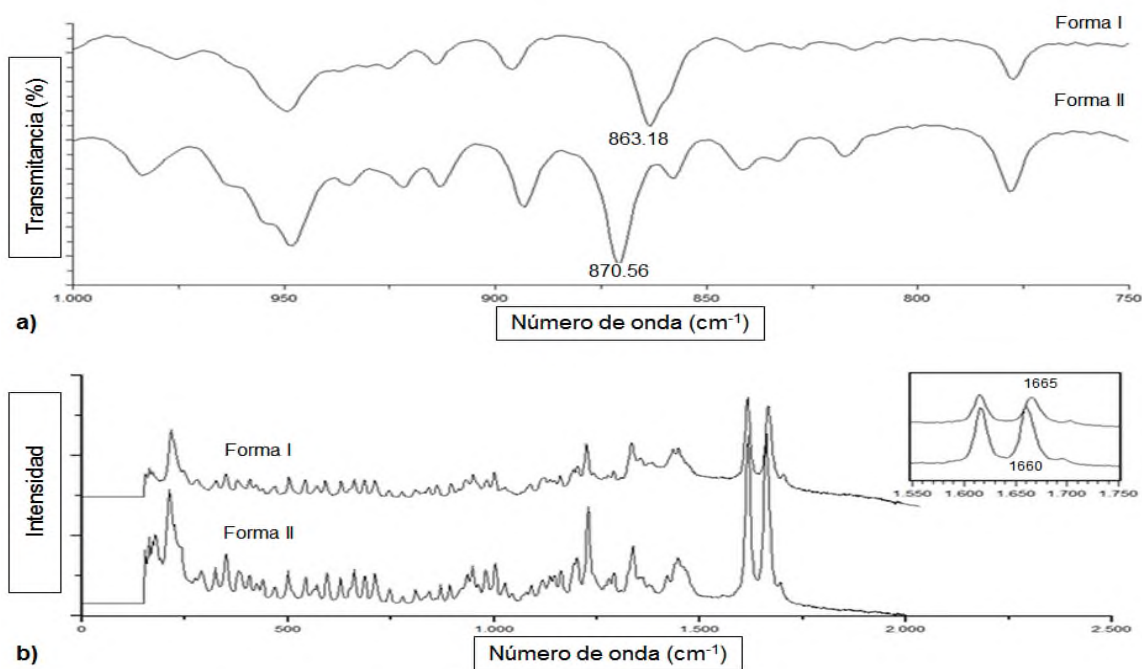


Figura 18. (a) Espectro de IR y (b) espectro Raman en estado sólido formas I y II de la progesterona.

2.1.2 Hidroxiprogesterona

La hidroxiprogesterona ó 17 α -hidroxiprogesterona (17-hidroxipregn-4-en-3,20-diona) de fórmula molecular C₂₁H₃₀O₃, es un esteroide de la familia de los progestágenos producida en el cuerpo durante la síntesis de los glucocorticoides y de las hormonas sexuales. La hidroxiprogesterona en el ámbito médico ha denotado interés ya que se le relaciona con ciertos padecimientos, como el síndrome adrenogenital en el ser humano. Este padecimiento se da porque existe un déficit de la enzima 21-hidroxilasa que limita la producción de hormonas esteroidales y la hidroxiprogesterona funge como detector de dicho déficit en el aumento o disminución en el plasma.³⁵ Además en la industria, el caproato de hidroxiprogesterona posee mayor demanda de producción ya que tiene como principal función la disminución del parto prematuro. Por último, en síntesis química dicha hormona también es utilizada para obtener hidrazonas; las cuales son empleadas en tratamientos anticancerígenos (Figura 19).³⁶ En el presente trabajo

de tesis no se encontró material bibliográfico donde se describa una caracterización detallada de la hidroxiprogesterona. Por tanto, esta molécula representa un campo amplio de estudio.

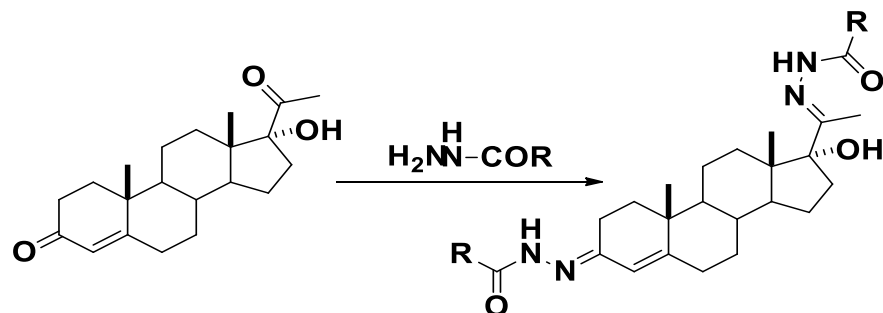


Figura 19. Síntesis de hidrazonas a partir de moléculas 17 α -hidroxilados.

Difracción de rayos X:

Los datos cristalográficos del cristal encontrados en la literatura de la hidroxiprogesterona son: estructura cristalina ortorrómbica con parámetros de celda: $P2_12_12_1$; $a=9.831 \text{ \AA}$, $b=23.468 \text{ \AA}$, $c=7.839 \text{ \AA}$; $V=1808.57 \text{ \AA}^3$ (Figura 20).³⁶

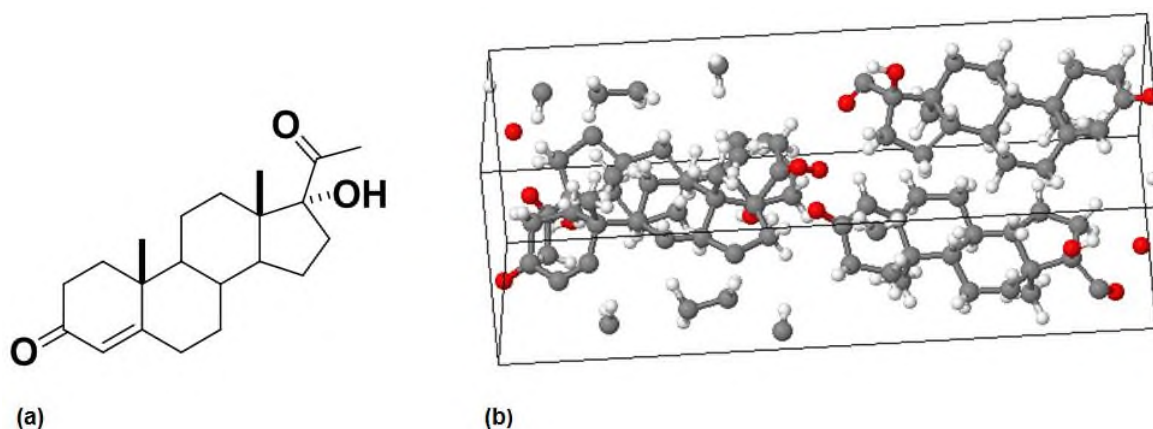


Figura 20. (a) Estructura molecular y (b) estructura cristalina de la hidroxiprogesterona.

2.1.3 16-dehidroprogesterona

La molécula de 16-dehidroprogesterona (pregn-4,16-dien-3,20-diona) con fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{O}_2$, es una hormona de la familia de los progestágenos con interés

comercial en química y en biomedicina.³⁷ Una de las principales aplicaciones de la 16-dehidroprogesterona, es la formación de dímeros con usos en el área de farmacología. La fotodimerización es una de las principales reacciones entre los compuestos 3 y 17-cetoesteroides insaturados los cuales se forman por irradiación utilizando lámparas de halógenos, de fluorescencia y lámparas de UV teniendo rendimientos del 20 al 25% para el esteroide fotodimerizado (Figura 21).

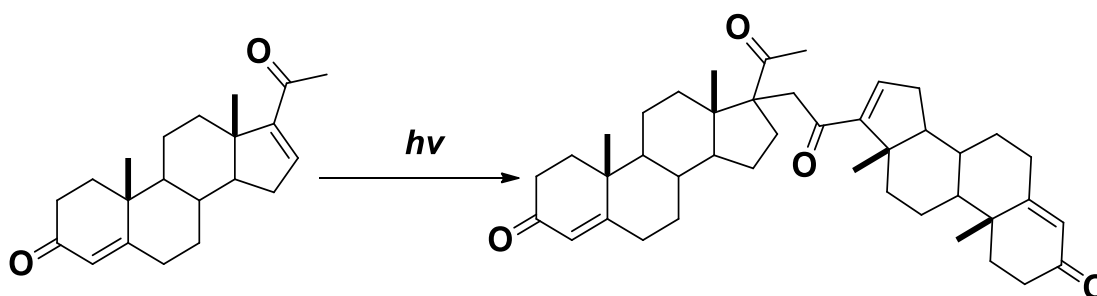


Figura 21. Fotodimerización de la 16-dehidroprogesterona.

Difracción de rayos X:

Los datos cristalográficos de los sólidos cristalinos de la 16-dehidroprogesterona obtenidos mediante la cristalización en una disolución de metanol-acetona en oscuridad son: estructura cristalina ortorrómbica con parámetros de celda: $P2_12_12_1$; $a=6.384 \text{ \AA}$, $b=11.708 \text{ \AA}$, $c=23.575 \text{ \AA}$; $V=1762 \text{ \AA}^3$ (Figura 22).³⁷

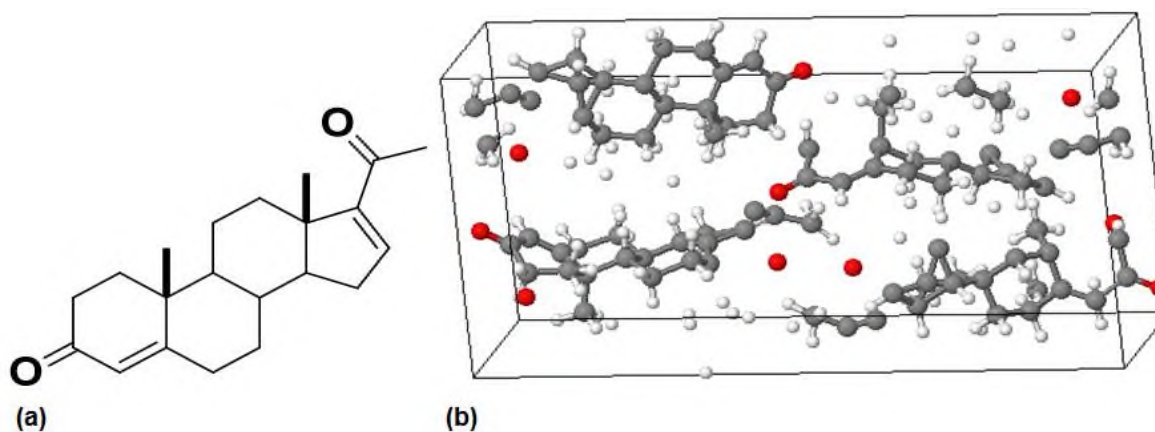


Figura 22. (a) Estructura molecular y (b) estructura cristalina de la 16-dehidroprogesterona.

2.1.4 Prasterona

La prasterona ó dehidroepiandrosterona (3β -hidroxiandrost-5-en-17-ona) con fórmula molecular $C_{19}H_{28}O_2$, es una hormona derivada del colesterol que forma parte del metabolismo de los esteroides sexuales adrenales. Se sintetiza en el cerebro y en las glándulas suprarrenales, con una producción mayor en la etapa adulta y teniendo un declive en la vejez (10 a 20%).³⁸ En el organismo, el cerebro produce la pregnenolona y la convierte mediante enzimas en dehidroepiandrosterona (DHEA) y a su forma sulfatada (DHEA-s) con los mismos porcentajes. El organismo cuenta con receptores para la DHEA y DHEA-s en numerosos tejidos como los testículos, hígado, cérvix uterino, cerebro y nervios periféricos; demostrando que los esteroides forman parte importante de la modulación psiconeuroinmunoendocrinológica.

2.1.4.1 Polimorfos de la prasterona

En la química del estado sólido de la prasterona existen reportes de por lo menos cuatro formas cristalinas anhidras por Kuhnert-Brandstätter³⁹ y Stahly⁴⁰ (Tabla 2).

Tabla 2. Formas cristalinas de la prasterona.

Nomenclatura	Grados de solvatación	Intervalo de fusión (°C)
FI	Anhidro	149-150
FII	Anhidro.	140-141
FIII	Anhidro.	137-138
FIV	Desconocido ^a .	130-136
FV	Desconocido ^a .	146.5-148
FVI	Anhidro.	151
S1	¼ hidratado.	127-128
S2	Monohidratado.	Desconocido
S3	Monohidratado.	Desconocido
S4	Hemi-metanolato.	Desconocido.

*F=sólido cristalino no solvatado.

*S=sólido cristalino solvatado.

*a=compuesto no aislado, sólo observado por termo-microscopía.

Difracción de rayos X:

Mediante los datos de DRX se determinó que la forma I es una red tipo monoclinica con parámetros de celda ($P2_1$; $a=6.1819 \text{ \AA}$, $b=44.261 \text{ \AA}$, $c=6.241 \text{ \AA}$; $V=1520 \text{ \AA}^3$). La forma II es tipo ortorrómbica con parámetros ($P2_12_12_1$; $a=6.6154 \text{ \AA}$, $b=11.376 \text{ \AA}$, $c=21.937 \text{ \AA}$; $V=1651 \text{ \AA}^3$) y para la forma VI su red es tipo monoclinica con parámetros de celda ($P2_1$; $a=6.261 \text{ \AA}$, $b=21.920 \text{ \AA}$, $c=6.432 \text{ \AA}$; $V=860.4 \text{ \AA}^3$) (Figura 23).⁴⁰

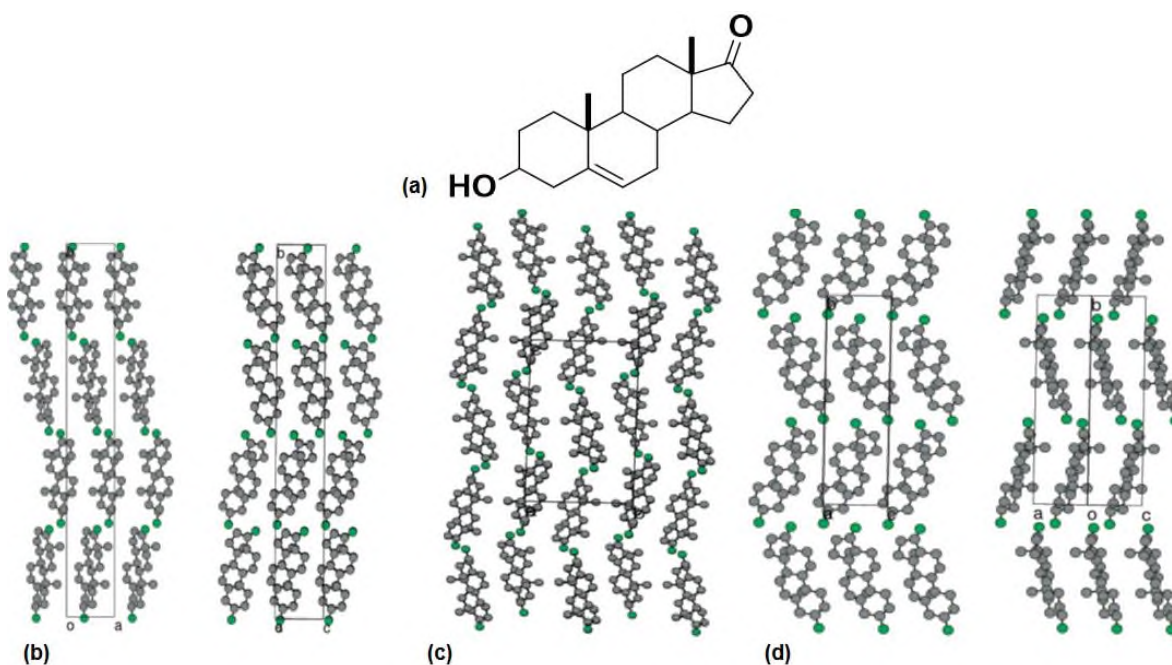


Figura 23. (a) Estructura molecular de la prasterona, (b) forma I, (c) forma II y (d) forma VI de la prasterona.

Otras técnicas de análisis:

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear en estado sólido (RMN_{ss}) funge como la técnica de evaluación en diferentes formas cristalinas determinando la confirmación de una estructura y la presencia o no de otras señales ajenas al compuesto de interés. En el caso de la prasterona dicha técnica sirvió para diferenciar entre los polimorfos I, II y VI determinando algunos de los desplazamientos más evidentes en la molécula (C-6, C-17 y C-18) observando

variaciones dentro de ésta (Tabla 3). Concluyendo la importancia de la complementación de las técnicas para efectuar un análisis acertado.

Tabla 3. Principales desplazamientos en RMN en estado sólido asignados a los polimorfos I, II y VI de la prasterona.

Formas	Carbono No. 6 (ppm)	Carbono No. 17 (ppm)	Carbono No. 18 (ppm)
I	120.4	224.4	14.8
II	119.9	224.0	12.9
III	120.1	216.6	13.1
VI	118.3	222.1	14.3

En el caso específico de la prasterona se tienen cuatro formas polimórficas no solvatadas encontradas en la bibliografía, además cuenta con al menos 7 formas cristalinas diferentes determinadas ya sea por el grado de solvatación o por la variación de los puntos de fusión. Esto es sin duda un campo amplio de estudio para la prasterona.

3.- TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

3.1 Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) en disolución

El fundamento de esta técnica es el orientar a núcleos que previamente estaban al azar entre los polos de un imán poderoso, adoptando orientaciones específicas. Los núcleos como ^1H y ^{13}C (con número impar de neutrones) al girar pueden orientarse de tal manera que su propio campo magnético pequeño se alinea con (paralelo a) o contra (antiparalelo a) el campo aplicado. Si ahora bien se irradian los núcleos orientados con radiación electromagnética con frecuencias de ondas de radio, la absorción de energía ocurre y el estado de menos energía “invierte su espín” al estado de mayor energía. Cuando ocurre esta inversión del espín, se dice entonces que los núcleos magnéticos están en resonancia con la radiación aplicada.⁴¹

No obstante, la radiación no es la misma en todos los casos ya que todas las moléculas están rodeadas por electrones. Los electrones por sí mismos aplican pequeños campos magnéticos locales; que actúan en oposición al campo aplicado y con este efecto se dice que los núcleos están protegidos del efecto total del campo aplicado. Dado que los núcleos en una molécula son ligeramente diferentes por el entorno electrónico, cada núcleo experimenta protección y campo magnético efectivo a una magnitud diferente. Por lo tanto, el equipo puede detectar estas diferencias y así ver una señal distinta para cada núcleo como ^1H ó ^{13}C .⁴²

3.1.1 Información característica de RMN

La técnica de RMN es la herramienta espectroscópica más poderosa en la elucidación estructural de moléculas orgánicas, debido a la información que brinda. El análisis del número de señales, el desplazamiento químico, la integración de las señales, el desdoblamiento de las señales y sus constantes de acoplamiento dan información completa de la conectividad, ambiente químico, conformación, etc. lo que deriva en un análisis detallado de las moléculas orgánicas. El número de señales es proporcional al número de núcleos diferentes presentes en la molécula; el desplazamiento químico indica el ambiente químico de los núcleos a través de su

posición en el espectro, por ejemplo el desplazamiento a campo bajo del espectro puede indicar la presencia de un grupo electronegativo (desprotección) o el efecto que puede causar un anillo aromático o una insaturación sobre el desplazamiento químico del núcleo de estudio (anisotropía) (Figura 24).

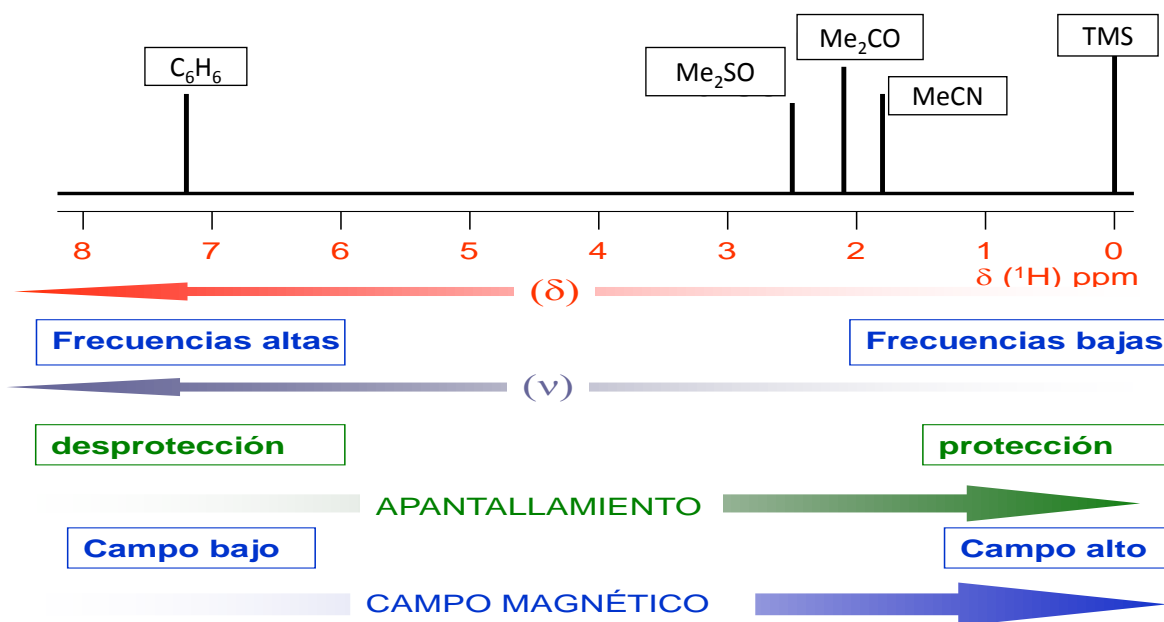


Figura 24. Desplazamiento en espectros de RMN de ^1H de algunos compuestos químicos.

Otra información que proporciona el espectro de RMN es el área bajo la curva, la cual indica la proporción de núcleos en cada señal. El desdoblamiento de las señales es muy importante, indica la interacción de los espines nucleares a través de los enlaces y con ello el número de vecinos que tiene cada núcleo. Las constantes de acoplamiento (J) que están asociadas a la multiplicidad de las señales, indican la distancia de enlace entre los núcleos y también el ángulo diedro formado entre los núcleos (conformación).

Otra herramienta muy poderosa de la RMN es la posibilidad de generar espectros bidimensionales que complementan la información descrita arriba, con la posibilidad de ver interacciones homonucleares y heteronucleares.⁴³ La interacción de los núcleos da un mapeo detallado de cómo se conecta una molécula, qué átomos ven a qué átomos a través de los enlaces o a través del espacio. Por todo esto, es posible conocer la estructura prácticamente en su totalidad de un compuesto.

3.2 Espectroscopía de infrarrojo con reflectancia total atenuada (RTA-IR)

La región infrarroja (IR) se divide en tres regiones denominadas infrarrojo cercano: 12800 a 4000 cm^{-1} , infrarrojo medio: 4000 a 400 cm^{-1} e infrarrojo lejano: 400 a 10 cm^{-1} pero solo una de ellas es fundamental para el análisis de compuestos orgánicos y es la de IR medio, donde se encuentran las principales vibraciones de carbono e hidrógeno. Esto debido a que, la longitud de onda que alcanza la radiación infrarroja es específica y muy útil para poder observar las vibraciones moleculares.⁴⁴ Con esto, la espectroscopia infrarroja permite la identificación de los grupos funcionales de un compuesto. Cuando una molécula absorbe radiación infrarroja, la vibración intramolecular con frecuencia igual a la de la radiación, aumenta en intensidad, lo que genera señales con frecuencias que corresponden a la vibración de un enlace específico, es decir, todas las moléculas poseen cierta cantidad de energía y están en movimiento constante. Sus enlaces se estiran y contraen, sus átomos se mueven hacia atrás o hacia adelante obteniendo así vibraciones permitidas.⁴⁵ El espectrómetro de IR con transformada de Fourier permite la obtención de espectros de forma rápida, precisa y con relaciones señal/ruido elevadas.⁴⁴ Esto debido a la presencia de un haz proveniente de un divisor de haz el cual crea una interferencia constructiva o destructiva, dependiendo de la posición del espejo móvil con respecto al espejo fijo. El haz pasa a través de la muestra, donde sucede una absorción selectiva de longitudes de onda. Los dos dominios de la distancia y la frecuencia son interconvertibles mediante el cálculo matemático el cual muestra la variación de la densidad de potencia como una función de la diferencia en longitud de la trayectoria y la segunda como una variación en la intensidad como una función del número de onda; obteniendo así las funciones para finalmente llegar al detector. Con respecto a la reflexión total atenuada (ATR, por sus siglas en inglés), es una técnica utilizada en el IR para muestras sólidas y que no requieren una disolución de la muestra. En esta técnica, la radiación infrarroja incide con un cierto ángulo en un cristal de alto índice de refracción. La configuración está diseñada para permitir una reflexión interna total que crea una onda evanescente sobre la superficie del cristal. Esta onda se extiende a la muestra, registrándose el espectro de infrarrojo.⁴⁶

3.3 Difracción de rayos X (DRX)

La difracción de rayos X es una de las técnicas más empleadas en la caracterización de estructuras cristalinas ya que gracias a los patrones de difracción es posible deducir el ordenamiento de las partículas en la red sólida mediante la densidad electrónica. Sus aplicaciones incluyen la identificación de fases, análisis cualitativo y cuantitativo de elementos presentes en la muestra y la textura cristalográfica. La difracción de rayos X se refiere a la dispersión de los rayos X debido a las unidades de un sólido cristalino. Esta técnica, al igual que las antes mencionadas, utiliza una forma de radiación electromagnética y por tanto posee un comportamiento ondulatorio en condiciones específicas. La longitud de onda de los rayos X tiene una magnitud comparable con la distancia entre los puntos reticulares de un cristal. Es por ello que el patrón de difracción es consecuencia de las interferencias en las ondas asociadas a los rayos X. El haz interacciona con la muestra a estudiar, dichas ondas están en fase (una respecto a la otra), es decir, sus máximos y mínimos coinciden en las mismas posiciones. La onda superior es dispersada o reflejada por un átomo del primer plano, en tanto que la onda inferior es dispersada por un átomo del segundo plano. Para que estas dos ondas dispersadas entren en fase de nuevo, deben cumplirse ciertas especificaciones.⁴⁷

3.3.1 Reseña histórica acerca de los rayos X

En el año de 1895, Wilhelm Conrad Röntgen descubrió los rayos X cuando experimentaba con la producción de rayos catódicos en tubos de descarga con papel negro. No obstante no fue hasta 1912, cuando el físico alemán Max von Laue y sus compañeros de trabajo sugirieron que los rayos X al pasar a través de un cristal e interactuar con el mismo; el resultado es la difracción en direcciones específicas, dependiendo de la naturaleza del cristal. Este descubrimiento le valió a Von Laue el Premio Nobel de Física en 1914.⁴³

En 1913, William Henry Bragg y William Lawrence Bragg demostraron que los rayos X podían ser utilizados para determinar con exactitud las posiciones atómicas dentro de un cristal y posteriormente su estructura tridimensional, es decir, la estructura cristalina. La ley de Bragg menciona las especificaciones que se deben cumplir para

que exista difracción.⁴⁸ El proceso consiste en la dispersión de los rayos X por las nubes electrónicas que rodean a los átomos del cristal originando un patrón de difracción regular, resultando una interferencia constructiva siempre y cuando la diferencia del camino recorrido por ondas dispersadas sea el múltiplo entero de la longitud de onda, es decir, $n \lambda = 2d \sin \theta$ (Figura 25).

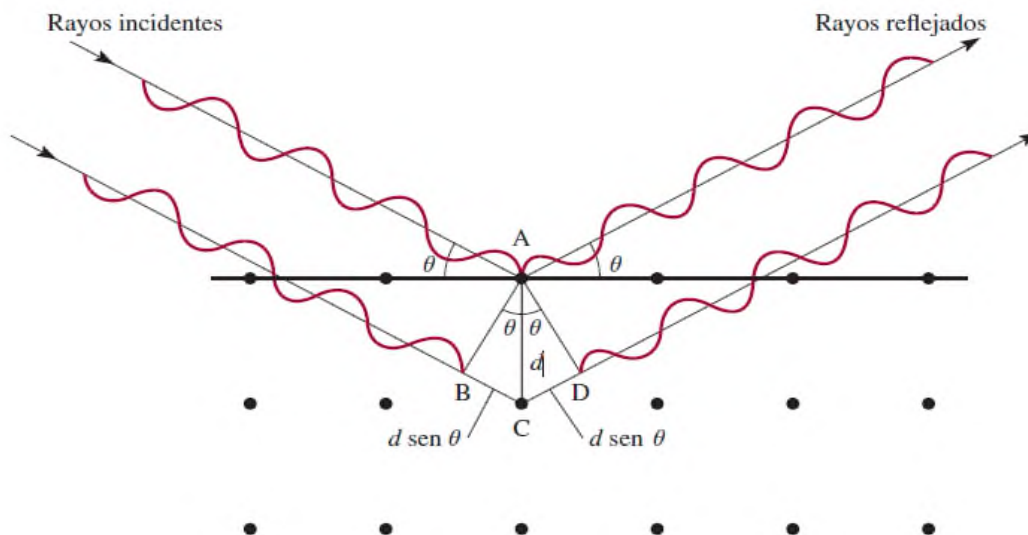


Figura 25. Reflexión de rayos X a partir de dos planos de átomos: planos separados por una distancia interplanar d_{hkl} donde un haz de rayos X con una longitud de onda λ , paralelo, monocromático y coherente incide sobre los planos con un ángulo Θ , dos rayos de este haz, son reflejados por los átomos donde ocurrirá una interferencia constructiva.

3.3.2 Determinación de estructuras cristalinas por difracción de rayos X de polvos

El análisis de estructuras cristalinas de materiales policristalinos se ha ampliado considerablemente; convirtiéndola en una herramienta potente que asistida con otras técnicas como IR, Raman, RMN, calorimetría diferencial de barrido (CDB), termogravimetría (TG) y microscopía electrónica (ME) se logra una mejor caracterización de las moléculas.⁴⁷ La difracción de rayos X de polvos juega un papel importante en la elucidación de estructuras cristalinas de las que no es posible obtener monocristales. Esto conlleva a una serie de etapas que son mucho más

complejas que las que se podrían tener en la difracción de monocristales, aun con esto es una técnica muy útil para un amplio rango de materiales, tales como minerales, polímeros, catalizadores, plásticos, compuestos farmacéuticos, cerámicos y semiconductores, entre otros.

El DRX de polvos ha llegado a ser un método indispensable para la caracterización y control de calidad de diversos materiales. Por ejemplo: análisis de fases, determinación de estructuras, nano-materiales y polimorfismo.

La determinación y refinamiento estructural a partir de datos de difracción de polvos de un sólido cristalino se divide en tres etapas:

- Etapa 1: la determinación de los parámetros de celda, simetría cristalina y grupo espacial de simetría. Estos se obtendrán a partir de los patrones máximos de difracción.
- Etapa 2: determinación estructural y modelo estructural. Esto se logra mediante la extracción de las intensidades de los máximos individuales directamente del patrón experimental.
- Etapa 3: refinamiento estructural y complementación estructural. El método de refinamiento tiene la finalidad de obtener la estructura cristalina con precisión, uno de los métodos más utilizados es el de Rietveld, el cual consiste en minimizar, mediante un algoritmo de mínimos cuadrados, la diferencia entre el patrón de polvos experimental y el calculado y de esta manera se llega a tener la estructura cristalina casi en su totalidad.

4.- JUSTIFICACIÓN

Uno de los problemas principales en la industria farmacéutica es la formación de polimorfos (misma estructura molecular pero diferente estructura cristalina), ya que éste fenómeno genera incertidumbre tanto en las variaciones de las propiedades físicas como en la biodisponibilidad de los fármacos elaborados. Por ejemplo, una de cada cuatro moléculas esteroidales sufre de dicho fenómeno y dado que son de gran importancia por sus múltiples actividades farmacológicas, surge la necesidad de analizar cómo afectan los procesos de cristalización en las variaciones de las estructuras cristalinas, además de utilizar técnicas espectrométricas y difractométricas que permitan identificar dichos cambios. En este trabajo se realizará un estudio de cristalización de compuestos esteroidales utilizando diferentes metodologías, el cual se verificará por RTA-IR y DRX de polvos la posible formación de polimorfos.

5.- HIPÓTESIS

En el proceso de elaboración de un fármaco, el polimorfismo se da principalmente en los procesos de purificación y compresión de éstos.

Dado que un porcentaje importante de los fármacos son purificados por precipitación y cristalización, se plantea lo siguiente:

La variación en las condiciones de cristalización de las moléculas esteroideas de estudio llevará a la formación de polimorfos que podrán ser identificados mediante técnicas de análisis estructural como DRX y RTA-IR.

6.- OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

- Caracterización estructural de compuestos esteroideos (progesterona, hidroxiprogesterona, 16-dehidroprogesterona y prasterona) y de las muestras obtenidas mediante las condiciones de cristalización.

6.2 Objetivos específicos

- Confirmar estructura mediante RMN en disolución, RTA-IR y DRX de polvos de los reactivos como referencia.
- Cristalización de la progesterona, hidroxiprogesterona, 16-dehidroprogesterona y prasterona empleando diferentes metodologías de cristalización y variando la temperatura, cantidad de muestra, el tipo y cantidad de disolventes.
- Realizar caracterización por RTA-IR y DRX de las muestras cristalizadas para encontrar posibles diferencias que indiquen polimorfismo.
- Descartar una posible contaminación o degradación en las muestras que presenten diferencias en RTA-IR y DRX realizando RMN de ^1H y ^{13}C

7.- METODOLOGÍA

Las hormonas empleadas para este proyecto fueron sometidas a caracterización estructural mediante los diferentes equipos antes y después de los procesos de cristalización con diferentes metodologías, descritas a continuación.

7.1 Obtención de las hormonas esteroideas

La progesterona se obtuvo de manera comercial con la marca Geslutin[®], cuyas especificaciones indican que la progesterona se encuentra en forma micronizada (partícula menor a 10 micrones) suspendida en aceite araquidónico y lecitina de soya como vehículo dentro de una cápsula de gelatina blanda. La hidroxiprogesterona, 16-dehidroprogesterona y prasterona se obtuvieron a partir de la industria elaboradora de principios químicos en forma de polvo blanco.

7.2 Cristalización

La cristalización es un método común de separación y purificación de compuestos orgánicos que depende de la solubilidad de la muestra en uno o más disolventes. Para que dicho fenómeno se lleve a cabo, las condiciones de concentración de las muestras y la elección del disolvente deben tener los mismos criterios de selección. Para la cristalización de las muestras esteroideas se emplearon los siguientes procedimientos:

- **Calentamiento de mezcla de disolventes:** elegir dos disolventes tomando en cuenta la polaridad, es decir, un disolvente en donde la muestra es soluble y en el otro no, disolviéndola en la mínima cantidad de disolvente obteniendo así una solución saturada. Una vez realizado esto, calentar a un rango de temperatura de entre 30 a 100 °C (dependiendo del disolvente empleado) con ayuda del termómetro. Filtrar la disolución en caliente (con el fin de eliminar impurezas insolubles). Para la formación de cristales utilizar dos procedimientos; el primero en donde se deja cristalizar a evaporación lenta en un vial (tubo de ensaye Pyrex/matraz Erlenmeyer/tubo de sulfhidrar), sellar con papel parafilm y bajar gradualmente la temperatura hasta aproximadamente 22 °C (CAMDIEL) y para el segundo caso, bajar la

temperatura drásticamente con la ayuda de un baño de hielo a una temperatura de aproximadamente 5 °C (CAMDIER). En ambos casos filtrar, lavar y secar las muestras con la ayuda de un embudo Büchner y papel filtro para finalmente ser recolectados.

- **Mezcla de disolventes sin calentamiento:** elegir dos disolventes dependiendo la polaridad y la muestra a cristalizar. Añadir a la muestra un disolvente en el que no es soluble, después agregar poco a poco el otro disolvente hasta la disolución de la muestra. Posteriormente dejar cristalizar a evaporación lenta a una temperatura aproximada de 22 °C (MDISCAEL), filtrar separando las aguas madres para finalmente lavar y secar los cristales para su posterior recolección.
- **Calentamiento con un solo disolvente:** colocar la muestra en un vial (tubo de ensaye Pyrex/matraz Erlenmeyer /tubo de sulfhidrar) junto con un disolvente que a temperatura ambiente no sea soluble pero que al calentar si lo sea, de tal forma que al bajar la temperatura cristalice el compuesto. Calentar a un rango de temperatura de entre 30 a 100 °C, filtrar en caliente para después dejar cristalizar mediante dos formas; la primera a evaporación lenta a una temperatura de 22 °C sellando el vial con papel parafilm (CADIEL) y la segunda por cristalización rápida en un baño de hielo a una temperatura de 5 °C (CADIER). Finalmente separar los cristales, lavar, secar y recolectar.
- **Un disolvente sin calentamiento:** utilizar solo un disolvente en el que la muestra fuera relativamente soluble o soluble con la mínima cantidad. Cristalizar la disolución a una temperatura aproximada de 22 °C haciendo que el disolvente se evapore lentamente al sellarla con papel parafilm (DISCAEL). Una vez formados los cristales, filtrar separando las aguas madres para finalmente lavar y secar los cristales para su posterior recolección.
- **Siembra de cristales (SIECRIS):** realizar los procedimientos anteriores tanto de mezcla como de un solo disolvente con calentamiento añadiendo a la solución saturada un cristal para facilitar la cristalización de algunos compuestos.

7.3 Prueba de solubilidad y características de los disolventes

Los diferentes tipos de disolventes empleados en este trabajo fueron grado técnico y son aquellos con los que cuenta el Laboratorio de Química Orgánica de la Universidad del Papaloapan (Tabla 4), tomando en cuenta sus características como punto de fusión, ebullición y su polaridad (Tabla 5).

Tabla 4. Solubilidad de las muestras en algunos disolventes orgánicos.

Disolvente	Progesterona	hidroxiprogesterona	16-dehidroprogesterona	Prasterona
Acetona	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
Acetonitrilo	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
Acetato de etilo	Soluble	Soluble	Soluble	Insoluble
Benceno	Soluble	Soluble	Parcialmente	Insoluble
Ciclohexano	Insoluble	Insoluble	Insoluble	Insoluble
Etanol	Parcialmente	Soluble	Parcialmente	Soluble
Hexano	Insoluble	Insoluble	Insoluble	Insoluble
Metanol	Parcialmente	Parcialmente	Parcialmente	Parcialmente
Tolueno	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble

Tabla 5. Características físicas de disolventes empleados.

Disolvente	Punto de ebullición	Punto de fusión	Cte. dieléctrica	Polaridad
Acetona	56	-95	20.7	Baja
Acetato de etilo	77	-84	6.0	Intermedio
Acetonitrilo	81	-45	37	Polar
Benceno	80	5	2.3	No polar
Ciclohexano	81	6	2.0	No polar
Etanol	78.5	-117	24.3	Polar
Hexano	69	-94	1.9	No polar
Metanol	65	-98	32.6	Polar
Tolueno	110.6	-95	2.4	No polar

7.4 Determinación de la estructura por resonancia magnética nuclear (RMN)

Todas las muestras de esteroides fueron analizadas en un espectrómetro de resonancia magnética nuclear marca VARIAN MR, a 400 MHz. Se utilizó cloroformo deuterado (CDCl_3) como disolvente y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Se realizaron experimentos de ^1H , ^{13}C y experimentos bidimensionales para la elucidación estructural completa, siendo esta técnica fundamental para garantizar que los cambios en las demás técnicas sean debido al polimorfismo y no a la contaminación de los compuestos.

Los desplazamientos químicos se expresan en ppm (δ) y la multiplicidad se indica de la siguiente manera: s (señal simple), d (señal doble), t (señal triple), c (señal cuádruple), m (señal múltiple), dd (señal doble de dobles) y ddd (señal doble de doble de dobles).

7.5 Estudio por infrarrojo con reflectancia total atenuada (RTA-IR)

Las moléculas esteroidales se analizaron por espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier e interferómetro Dynascan marca Perkin Elmer Spectrum 100. Expresando los datos en número de onda ν (cm^{-1}). Realizando 16 barridos con una resolución de 4 cm^{-1} dentro de un rango de 4000 a 515 cm^{-1} .

7.6 Estudio por difracción de rayos X (DRX)

Se analizaron cada una de las muestras (hidroxiprogesterona, 16-dehidroprogesterona, progesterona y prasterona) por difracción de rayos X de polvos marca Bruker AXS bajo las siguientes condiciones de medición: 5° - 50° en 2θ , con un tamaño de paso de 0.08, con un tiempo de colecta por pulso de 8 segundos y una duración de 1 hora 15 minutos. Para así poder identificar las señales características de los lotes tal y como fueron entregados antes del proceso de cristalización.

8.- RESULTADOS

8.1 Cristalización de la progesterona

La metodología reportada ha sido establecida para la muestra pgt3²⁸ y el resto de las muestras se realizó basándose en el estudio de solubilidades (Tabla 6).

Tabla 6. Cristalización de la progesterona utilizando diferentes metodologías.

Muestra	Peso inicial (g)	Disolventes (mL)	Método empleado	Formación de cristales	Peso final (g)
Progesterona (pgt1)	0.120	n-hexano (10) Acetona (5)	CAMDIEL (80°C)	Si	0.099
Progesterona (pgt2)	0.2453	Ciclohexano (10) Etanol (10)	CAMDIEL (80°C)	Si	0.0522
Progesterona (pgt3)	0.1235	AcOEt (10) Acetona (5)	CAMDIEL (80°C)	Si	0.0560
Progesterona (pgt4)	0.1216	n-hexano (10) CH ₂ Cl ₂ (5)	MDISCAEL	Si	0.0026
Progesterona (pgt5)	0.1203	CH ₂ Cl ₂ (10)	DISCAEL	Si	0.0752
Progesterona (pgt6)	0.1189	Acetona (10)	CADIEL (60°C)	Si	0.0890
Progesterona (pgt7)	0.1200	Ciclohexano (10) Acetonitrilo (5)	CAMDIER (90°C)	No	-----

*CAMDIEL: Calentamiento de mezcla de disolventes a evaporación lenta.

*MDISCAEL: Mezcla de disolventes sin calentamiento a evaporación lenta.

*DISCAEL: Disolvente sin calentamiento a evaporación lenta.

*CADIEL: Calentamiento de un disolvente a evaporación lenta.

*CAMDIER: Calentamiento de mezcla de disolventes a evaporación rápida.

La progesterona cristalizó en condiciones específicas, las muestras pgt2 y pgt7 se dejaron en tubos de sulfhidrar Pyrex® No. 9820, la muestra pgt1 se dejó cristalizar en un matraz de Erlenmeyer Duran® de 25 mL y las muestras pgt3, pgt4, pgt5 y pgt6 en tubos de ensaye Kimax® No. 45048. Las imágenes de los cristales obtenidos se muestran en la figura 26.

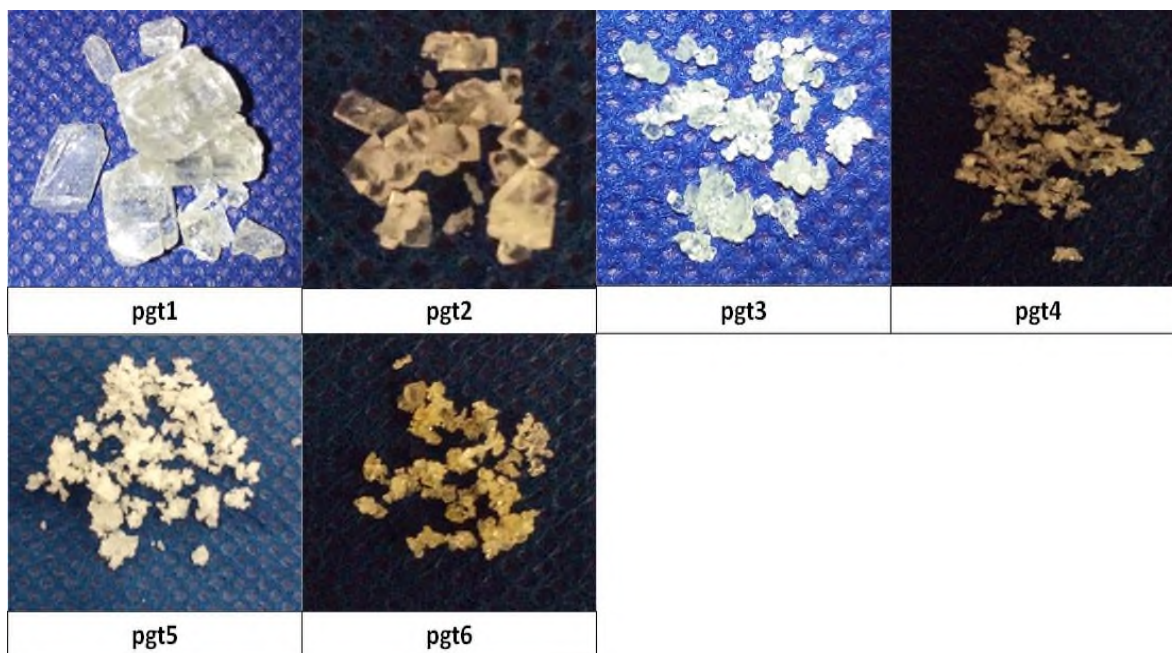


Figura 26. Muestras obtenidas de la progesterona mediante distintas condiciones de cristalización.

Los datos espectroscópicos de resonancia magnética nuclear de los cristales formados se encuentran en el anexo B.

8.2 Cristalización de la hidroxiprogesterona

La hidroxiprogesterona se cristalizó por los métodos antes mencionados, obteniendo 18 muestras cristalinas. En el caso de la hidroxiprogesterona no se emplearon metodologías reportadas sino que fueron elegidas conforme a las pruebas de solubilidad (Tabla 7).

Tabla 7. Cristalización de la hidroxiprogesterona utilizando diferentes metodologías.

Muestra	Peso inicial (g)	Disolventes (mL)	Método empleado	Formación de cristales	Peso final (g)
Hidroxiprogesterona (hidpt1)	0.3690	n-hexano (10) CH ₂ Cl ₂ (3)	CAMDIEL (80°C)	Si	0.3534
Hidroxiprogesterona (hidpt2)	0.2493	Ciclohexano (10) Tolueno (15)	CAMDIEL (100°C)	Si	0.1256
Hidroxiprogesterona (hidpt3)	0.2414	n-hexano (10) Acetona (12)	MDISCAEL	Si	0.1189
Hidroxiprogesterona (hidpt4)	0.3585	n-hexano (10) Acetona (14)	CAMDIEL (60°C)	Si	0.2035
Hidroxiprogesterona (hidpt5)	0.1298	n-hexano (10) Benceno (13)	CAMDIER (90°C)	Si	0.0899
Hidroxiprogesterona (hidpt6)	0.3650	n-hexano (10) Acetonitrilo (11)	CAMDIEL (100°C)	Si	0.2583
Hidroxiprogesterona (hidpt7)	0.240	Ciclohexano(10) Acetona (12)	MDISCAEL	Si	0.1442
Hidroxiprogesterona (hidpt8)	0.3700	n-hexano (10) CH ₂ Cl ₂ (6)	CAMDIER (50°C)	Si	0.3584
Hidroxiprogesterona (hidpt9)	0.1281	n-hexano (10) Acetonitrilo (17)	CAMDIER (90°C)	Si	0.1181
Hidroxiprogesterona (hidpt10)	-----	Residuos de las aguas madres	-----	Si	0.8650

Hidroxiprogesterona (hidpt11)	0.1262	Ciclohexano (10) CH ₂ Cl ₂ (6)	CAMDIEL (60°C)	Si	0.0603
Hidroxiprogesterona (hidpt12)	0.3615	CH ₂ Cl ₂ (9)	DISCAEL	Si	0.2630
Hidroxiprogesterona (hidpt13)	0.1230	Acetona (10)	CADIER (60°C)	Si	0.0423
Hidroxiprogesterona (hidpt14)	0.3690	Acetona (20)	CADIEL (60°C)	Si	0.1259
Hidroxiprogesterona (hidpt15)	0.1232	AcOEt (10)	CADIEL (80°C)	Si	0.0420
Hidroxiprogesterona (hidpt16)	0.1243	n-hexano (10) Etanol (6)	CAMDIEL (80°C)	Si	0.0403
Hidroxiprogesterona (hidpt17)	0.1208	Metanol (10)	CADIER (70°C)	Si	0.0421
Hidroxiprogesterona (hidpt18)	0.1244	CHCl ₃ (8)	DISCAEL	Si	0.0982
Hidroxiprogesterona (hidpt19)	0.1256	Piridina (10)	DISCAEL	No	-----

*CAMDIEL: Calentamiento de mezcla de disolventes a evaporación lenta.

*MDISCAEL: Mezcla de disolventes sin calentamiento a evaporación lenta.

*DISCAEL: Disolvente sin calentamiento a evaporación lenta.

*CADIEL: Calentamiento de un disolvente a evaporación lenta.

*CADIER: Calentamiento de un disolvente a evaporación rápida.

*CAMDIER: Calentamiento de mezcla de disolventes a evaporación rápida.

Las muestras hidpt1, hidpt4, hidpt6, hidpt9 y hidpt14 se dejaron cristalizar en tubos de sulfhidrar Pyrex[®] No. 9820. Las muestras hidpt2, hidpt3, hidpt5, hidpt7, hidpt8, hidpt11 y hidpt12 en matraces Erlenmeyer Duran[®] de 25 mL. Mientras que las

muestras hidpt13, hidpt15, hidpt16, hidpt17 y hidpt18 en tubos de ensayo Kimax® No. 45048 y la muestra hidpt10 proviene de los cristales formados en las aguas madres. Las imágenes de los cristales obtenidos se muestran en la figura 27.

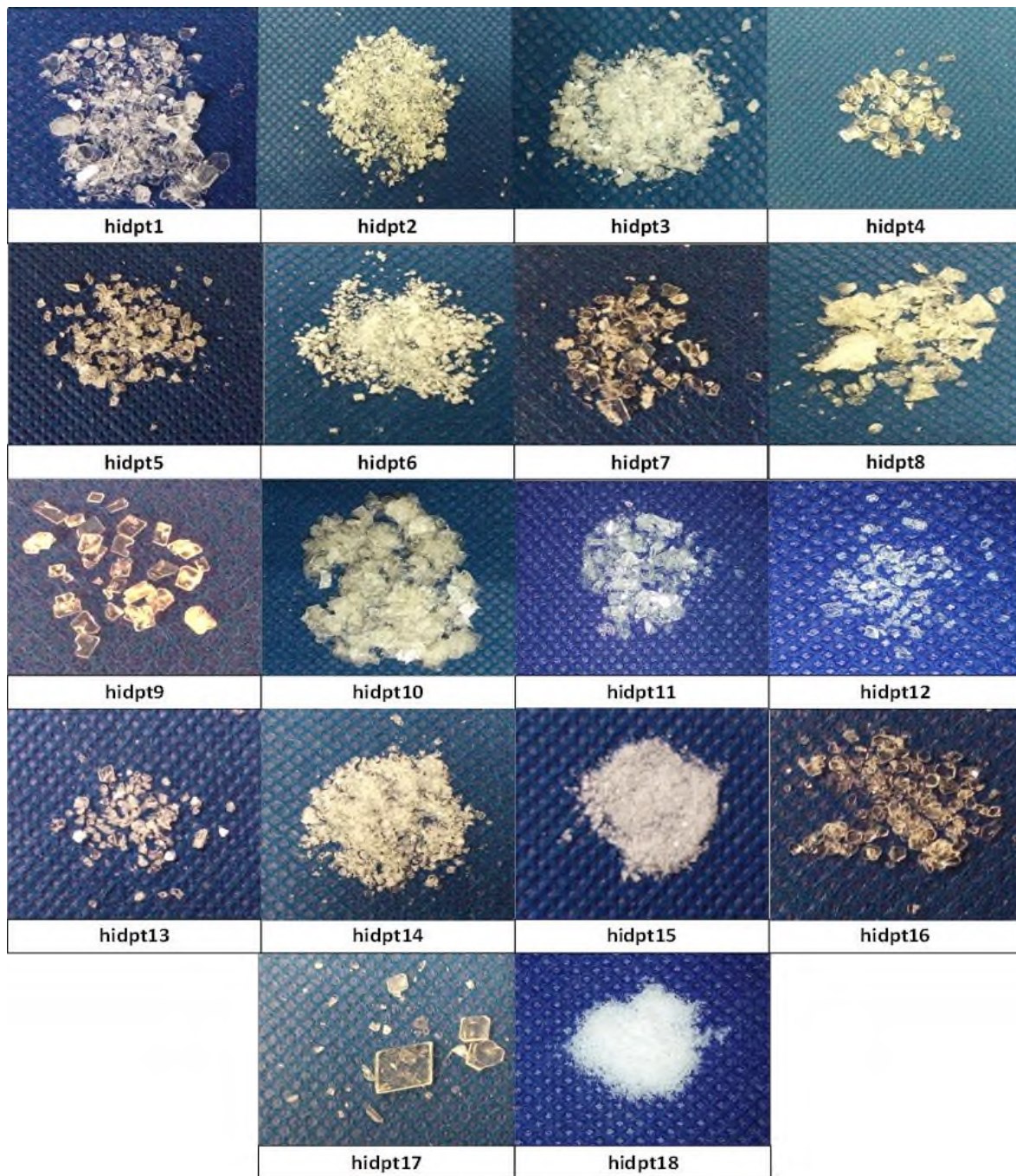


Figura 27. Muestras obtenidas de hidroxiprogesterona mediante distintas condiciones de cristalización.

Los datos espectroscópicos de resonancia magnética nuclear de los cristales formados se encuentran en el anexo C.

8.3 Cristalización de la 16-dehidroprogesterona

Para el caso de la 16-dehidroprogesterona se probaron métodos de cristalización sin reportar de acuerdo a las características de la molécula y se duplicó para la muestra d16pt12 un método ya reportado (Tabla 8).³⁷

Tabla 8. Cristalización de la 16-dehidroprogesterona utilizando diferentes metodologías.

Muestra	Peso inicial (g)	Disolventes (mL)	Método empleado	Formación de cristales	Peso final (g)
16-dehidroprogesterona (d16pt1)	0.1270	Ciclohexano(10) CH ₂ Cl ₂ (6)	CAMDIEL (50°C)	Si	0.1059
16-dehidroprogesterona (d16pt2)	0.2479	n-hexano (10) Tolueno (10)	CAMDIEL (100°C)	Si	0.0877
16-dehidroprogesterona (d16pt3)	0.3616	Ciclohexano (10) Acetona (6)	CAMDIEL (80°C)	Si	0.2569
16-dehidroprogesterona (d16pt4)	0.3640	AcOEt (10)	CADIEL (80°C)	Si	0.1390
16-dehidroprogeterona (d16pt5)	1.6531	n-hexano (10) Acetonitrilo (7)	CAMDIEL (90°C)	Si	1.2313
16-dehidroprogeterona (d16pt6)	0.6807	n-hexano (10) Benceno (15)	CAMDIEL (80°C)	Si	0.2038

16- dehidroprogeterona (d16pt7)	0.6995	Metanol (10)	CADIER (70°C)	Si	0.3857
16- dehidroprogeterona (d16pt8)	0.6987	n-hexano (10) Etanol (10)	CAMDIEL (80°C)	Si	0.2959
16- dehidroprogeterona (d16pt9)	0.6807	Cloroformo (10)	DISCAEL	Si	0.2747
16- dehidroprogeterona (d16pt10)	-----	Residuos de las aguas madres	-----	Si	0.2460
16- dehidroprogeterona (d16pt11)	1.6992	n-hexano (10) Acetonitrilo (13)	CAMDIER (90°C)	Si	1.043
16- dehidroprogeterona (d16pt12)	1.6312	Metanol (10) Acetona (10)	MDISCAEL	Si	0.9389
16- dehidroprogeterona (d16pt13)	0.3648	Piridina (10)	DISCAEL	NO	-----

*CAMDIEL: Calentamiento de mezcla de disolventes a evaporación lenta.

*MDISCAEL: Mezcla de disolventes sin calentamiento a evaporación lenta.

*DISCAEL: Disolvente sin calentamiento a evaporación lenta.

*CADIEL: Calentamiento de un disolvente a evaporación lenta.

*CADIER: Calentamiento de un disolvente a evaporación rápida.

*CAMDIER: Calentamiento de mezcla de disolventes a evaporación rápida.

Las muestras d16pt1, d16pt2, d16pt3, d16pt5, d16pt8 y d16pt11 se cristalizaron en un tubo de sulfhidrar Pyrex[®], las muestras d16pt4, d16pt6 y d16pt9 en tubo de ensaye Kimax[®] No. 45048. Por último, la muestra d16pt12 se dejó cristalizar en un matraz de Erlenmeyer Duran[®] de 25 mL. Las imágenes de los cristales obtenidos se muestran en la figura 28.

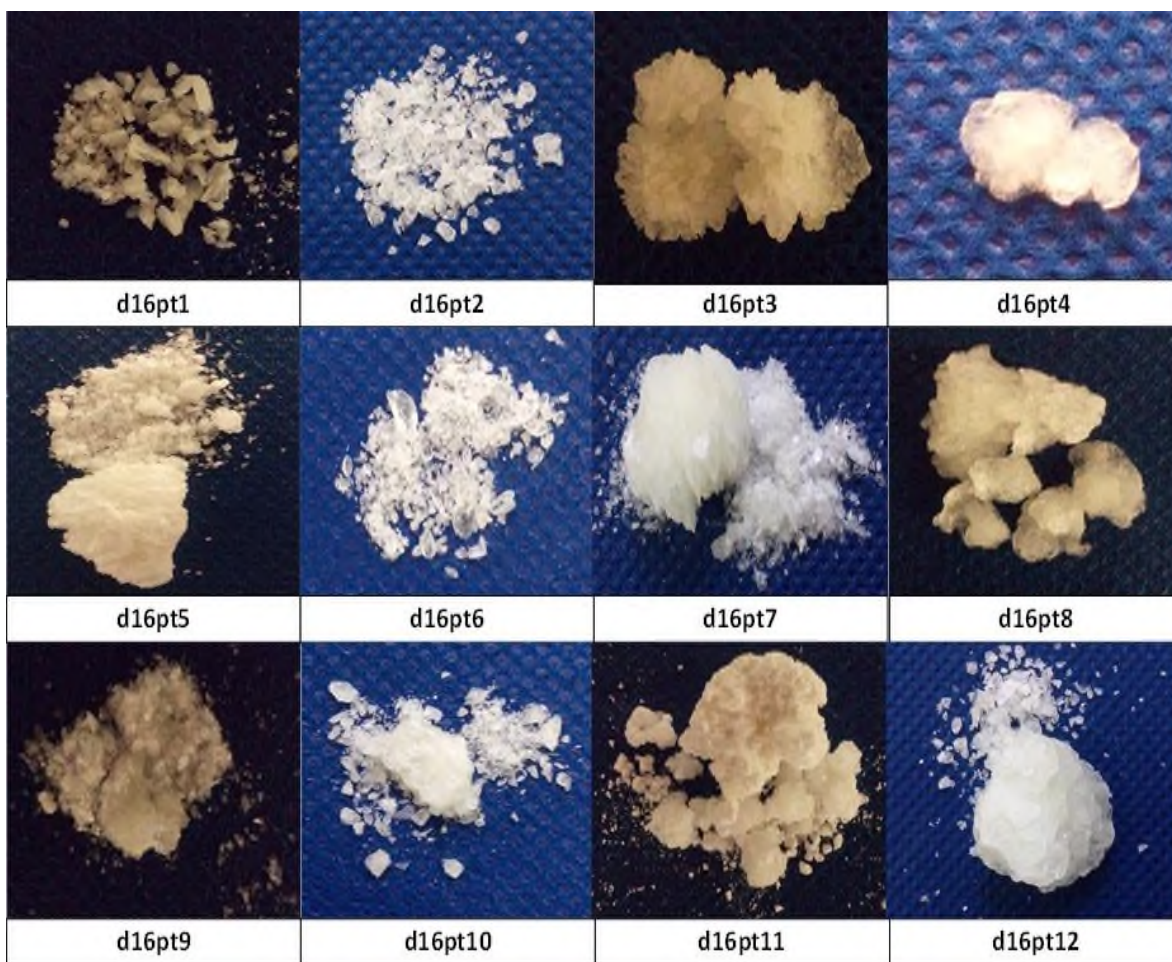


Figura 28. Muestras obtenidas de 16-dehidroprogesterona mediante distintas condiciones de cristalización.

Los datos espectroscópicos de resonancia magnética nuclear de los cristales formados se encuentran en el anexo D.

8.4 Cristalización de la prasterona

Ya que la prasterona fue uno de los compuestos que se encontró en menor cantidad con respecto a los anteriores, se optó por solo realizar cristalizaciones similares a las encontradas en la literatura (muestras prast4 y prast5)⁴⁰ y también en aquellos disolventes que presentó mayor solubilidad (Tabla 9).

Tabla 9. Cristalización de la prasterona empleando diferentes metodologías.

Muestra	Peso inicial (g)	Disolventes (mL)	Método empleado	Formación de cristales	Peso final (g)
Prasterona (Prast1)	0.120	n-hexano (10) Acetona (5)	SIECRIS	Si	0.099
Prasterona (prast2)	0.140	Metanol (10) Acetona (6)	MDISCAEL	Si	0.0389
Prasterona (prast3)	0.1199	n-hexano (10) Etanol (5)	CAMDIEL (80°C)	Si	0.0253
Prasterona (prast4)	0.1016	THF anhidro (0.6)	DISCAEL	Si	0.0389
Prasterona (prast5)	0.1216	n-hexano (10) CH ₂ Cl ₂ (4)	MDISCAEL	NO	-----
Prasterona (prast6)	0.1276	2-propanol (3.2)	DISCAEL	NO	-----
Prasterona (prast7)	0.1299	Ciclohexano (10) Acetonitrilo (7)	CAMDIEL (90°C)	NO	-----

*CAMDIEL: Calentamiento de mezcla de disolventes a evaporación lenta.

*MDISCAEL: Mezcla de disolventes sin calentamiento a evaporación lenta.

*DISCAEL: Disolvente sin calentamiento a evaporación lenta.

*SIECRIS: Siembra de cristales.

La prasterona se logró cristalizar en condiciones específicas. La muestra prast5 se dejó cristalizar en un tubo de sulfhidrar Pyrex[®], las muestras prast1, prast3, prast6 y prast7 se cristalizaron en tubos de ensaye Kimax[®] No. 45048, mientras que la

muestra prast2 se dejó cristalizar en un matraz de Erlenmeyer Duran® de 25 mL y para la muestra prast4 se dejó cristalizar en un vial de 10 mL. Las imágenes de los cristales obtenidos se muestran en la figura 29.

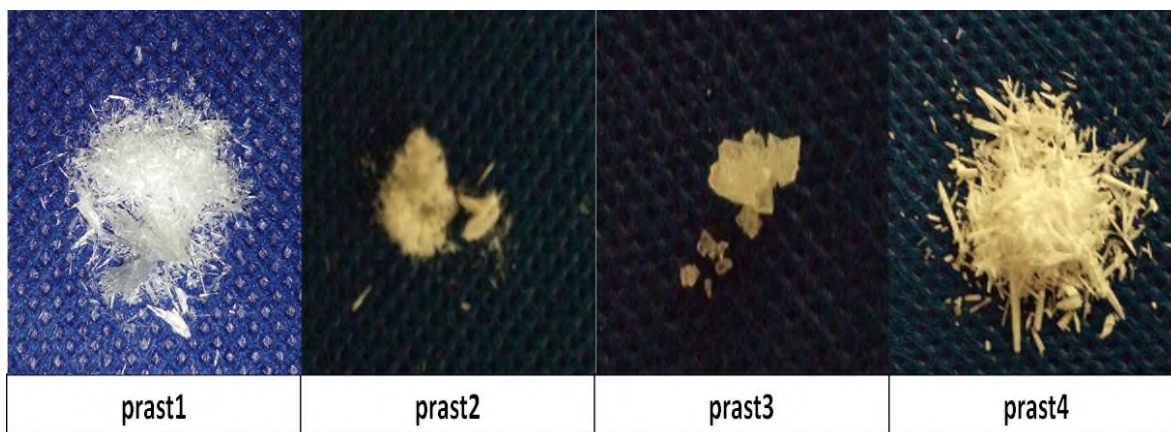


Figura 29. Muestras obtenidas de prasterona mediante distintas condiciones de cristalización.

Los datos espectroscópicos de resonancia magnética nuclear de los cristales formados se encuentran en el anexo E.

9. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las técnicas de cristalización empleadas fueron elegidas de acuerdo a las pruebas de solubilidad realizadas y en algunos casos a lo reportado en la bibliografía; variando factores como cantidad, temperatura y tiempo de cristalización. Por otro lado, los estudios de RMN de dos dimensiones pese a que se realizaron a los cuatro compuestos; para fines prácticos, el análisis se describió únicamente para la hidroxiprogesterona.

9.1 Cristalización de la progesterona: análisis estructural

Como primer paso, se extrajo el contenido de un total de 15 perlas de Geslutin® y se disolvió en CDCl_3 para acto seguido realizar el análisis de RMN de ^1H y ^{13}C de la progesterona suspendida con el objetivo de identificar los componentes del vehículo que para este trabajo son “contaminantes”. Enseguida se realizó la cristalización utilizando n-hexano/AcOEt en una proporción 2:1 y se realizaron los experimentos de RMN de ^1H , como se puede observar en la figura 30, se eliminaron todas las señales asociadas a las impurezas (vehículo) presentes.

Una vez que se corroboró la pureza de la progesterona cristalizada, se procedió a su caracterización completa por RMN, para lo cual se realizaron experimentos de ^1H , ^{13}C , DEPT y experimentos bidimensionales (COSY, HMBC y HSQC). A pesar de que existe información acerca de los datos espectroscópicos, muchos de ellos son incompletos o provenientes de bases de datos en donde las condiciones de análisis difieren. Dicho esto, para efectos de este trabajo fue necesario hacer una elucidación completa a través de experimentos de RMN en una y dos dimensiones, para poder identificar y entender los posibles cambios estructurales que se lleven a cabo después de la manipulación de dichos compuestos y al mismo tiempo; descartar los cambios producidos por contaminación de las muestras (disolventes principalmente). Una vez que se realizó la elucidación estructural de la progesterona, en todas las demás cristalizaciones sólo se realizaron experimentos de ^1H y ^{13}C .

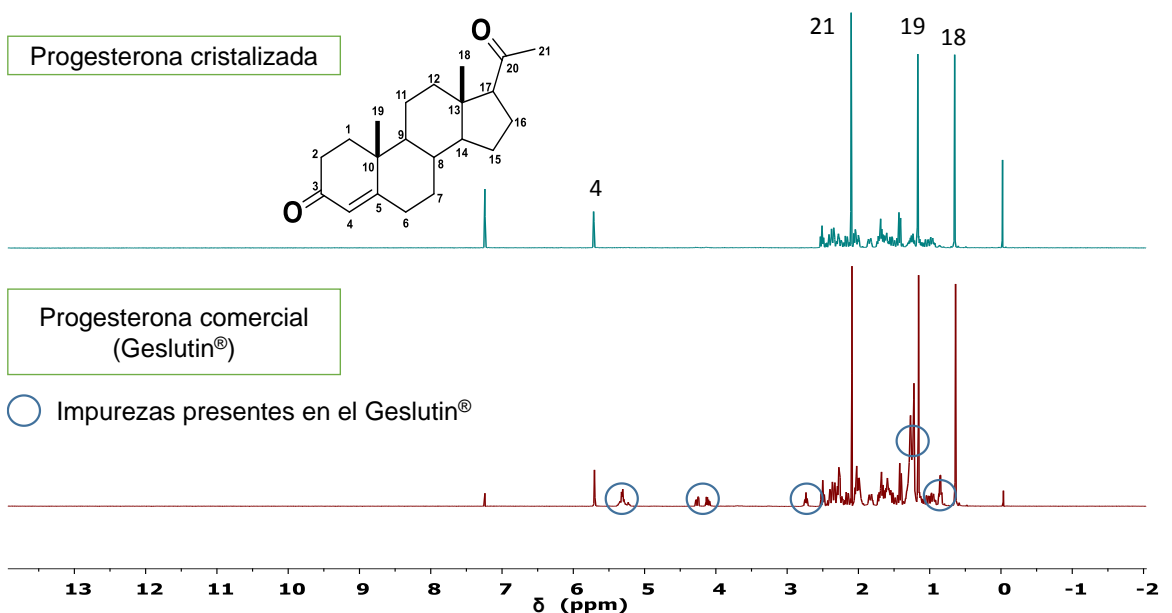


Figura 30. RMN de ^1H de la progesterona comercial (Gestlutin[®]) y la primera cristalización.

En el espectro de RMN de ^1H para la progesterona se observa una señal simple en 5.71 ppm, mediante HMBC se pudo observar la correlación de ésta con las señales en 38.56 ppm (C-10) y 32.77 (C-6) y en HSQC la correlación con la señal de CH en 123.93 ppm (análisis por DEPT); asignándola como el protón vinílico H-4. En 2.10 ppm se encuentra una señal simple que integra para tres protones y que pertenece a los protones del metilo 21. Las señales simples que integran para tres protones en 1.16 y 0.64 ppm corresponden a los protones de los metilos 19 y 18 respectivamente.

En la figura 31 se observan los espectros de RMN de ^1H de las seis muestras recristalizadas pgt1, pgt2, pgt3, pgt4, pgt5 y pgt6. En ninguno de los espectros se observa la presencia de contaminantes ni de cambios estructurales que pudieron haberse presentado durante el proceso de cristalización.

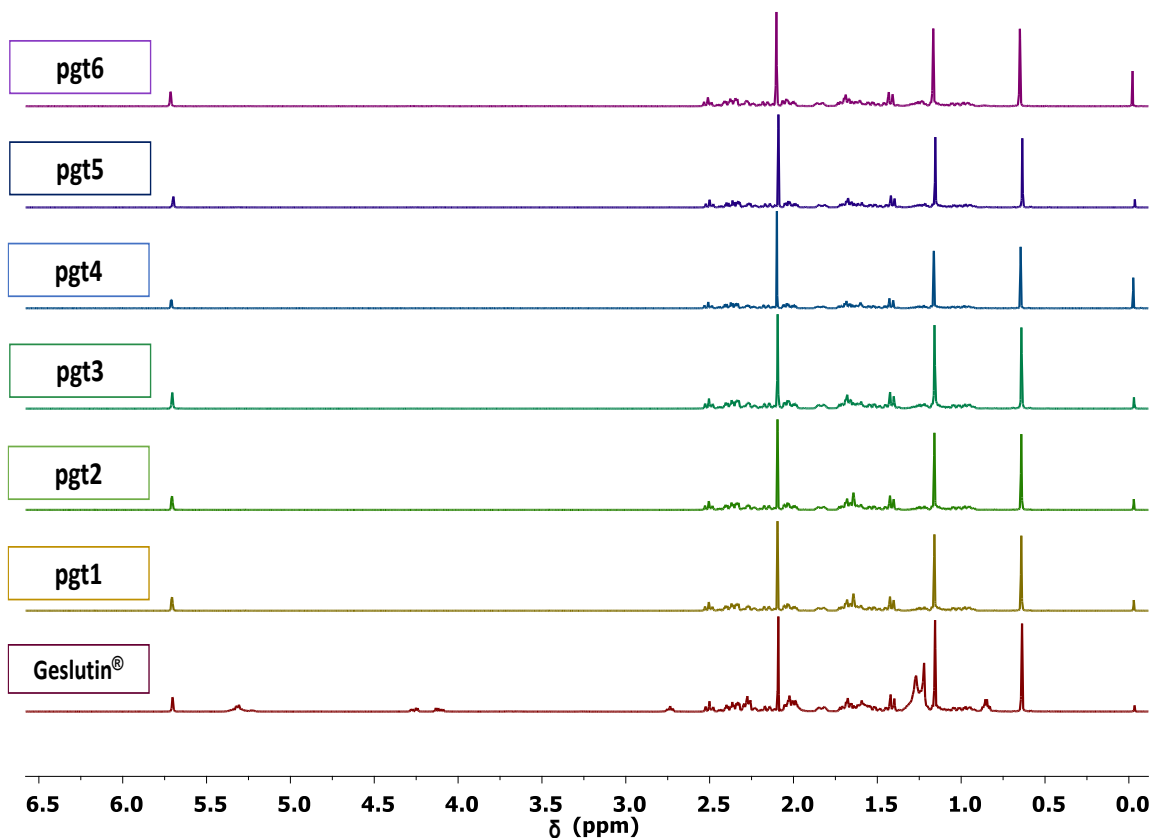


Figura 31. RMN de ^1H de las muestras obtenidas de la progesterona.

En el espectro de ^{13}C de la progesterona existen 21 señales que corresponden con el número de carbonos presentes en la molécula destacando los siguientes desplazamientos: en 209.25 ppm la señal del carbono de cetona C-20, en 199.41 ppm se encuentra la señal para el carbono del carbonilo de la cetona α,β -insaturada C-3, en 170.88 y 123.93 ppm las señales para los carbonos vinílicos C-5 y C-4, todas las demás señales se asignaron con la ayuda de los experimentos DEPT, HSQC y HMBC.

En los espectros de RMN de ^{13}C al igual que en el de ^1H , se observa que las señales extras que presenta el Geslutin[®] desaparecen en las muestras cristalizadas y tampoco se aprecian señales asociadas a contaminantes o de cambios estructurales en la molécula (Figura 32).

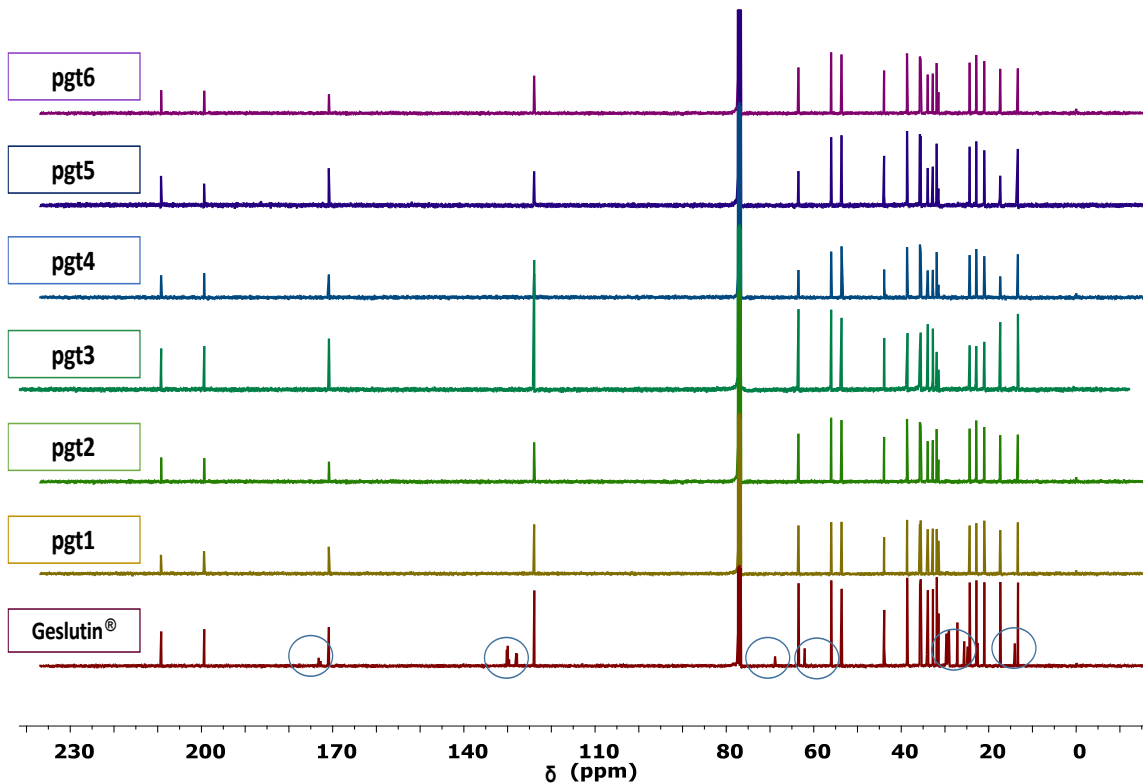


Figura 32. RMN de ¹³C de las muestras obtenidas de la progesterona.

En el espectro de infrarrojo de la progesterona, se tienen las siguientes bandas de absorción: 2931-2854 cm^{-1} correspondientes a enlaces carbono-hidrógeno (C-H) de tensión (simétricos y asimétricos) tanto de metilos como de metilenos presentes. En 1699 cm^{-1} banda característica para carbonilos de cetonas (C=O) unidas a ciclos de cinco carbonos mientras que en 1664 cm^{-1} se encuentra otra banda perteneciente a carbonilos de cetonas (C=O) α , β -insaturados. En 1614 cm^{-1} la banda de carbonos sp^2 (C=C), una extensión de la banda de absorción del doble enlace sobre el plano en 1356 cm^{-1} (=C-H) y una banda en 870 cm^{-1} para la flexión del enlace carbono-hidrógeno (C-H) fuera del plano. En el análisis por RTA-IR de la progesterona, según lo reportado por Lancaster³⁴ se tienen bandas características para las formas I y II en 870 cm^{-1} y 864 cm^{-1} respectivamente.

En los espectros de infrarrojo mostrados a continuación tanto el Geslutin® como las muestras recristalizadas, presentan variaciones en la región de 1550 a 1750 cm^{-1} y

en la región de 820 a 870 cm^{-1} (Figura 33). De igual manera, existen diferencias en las intensidades siendo la más notable con la muestra pgt4.

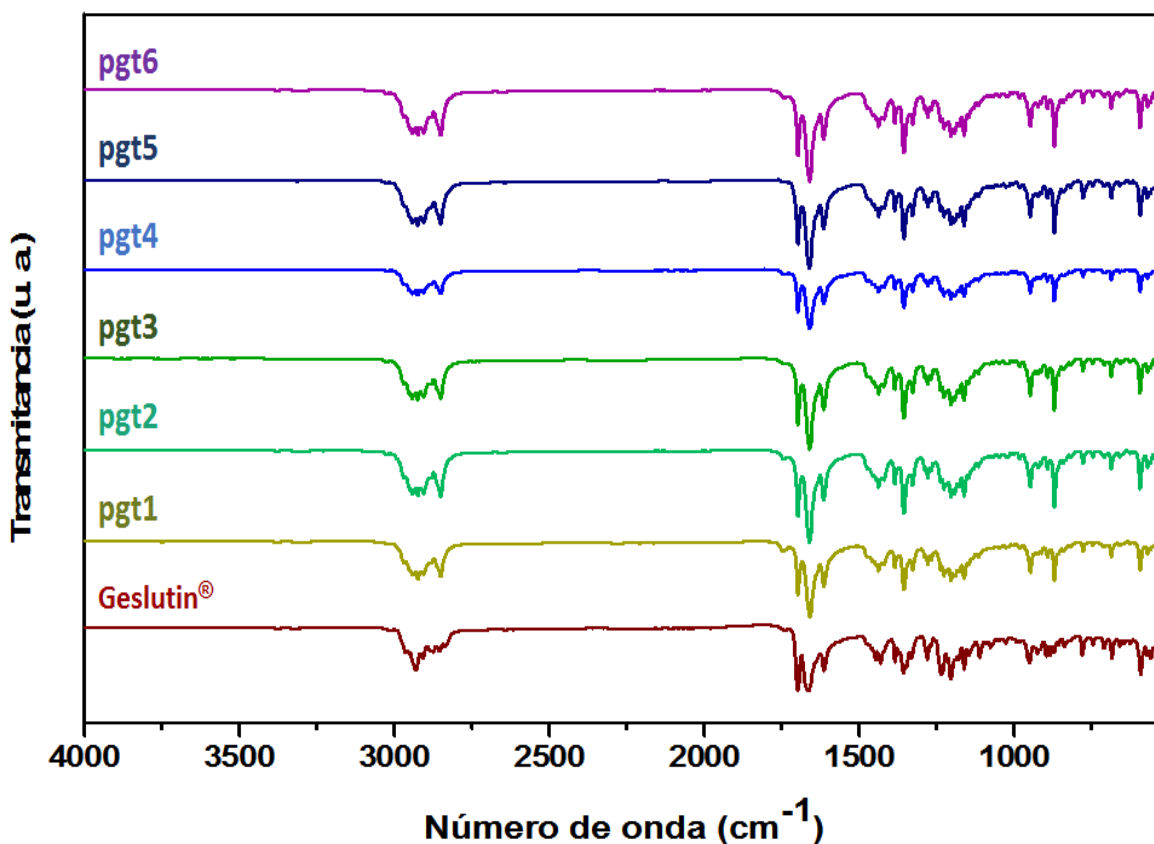


Figura 33. Espectros de IR de las muestras de la progesterona.

Una ampliación en las bandas de absorción, en las regiones de los carbonilos y de la región de enlaces C-H, permite observar cambios en las bandas tanto de la muestra inicial como de las muestras cristalizadas. Presentando bandas para el Geslutin® en 1699 cm^{-1} , 1664 cm^{-1} y 1615 cm^{-1} ; mientras que para el resto de las muestras se observaron bandas en 1698 cm^{-1} ; 1660 a 1661 cm^{-1} y 1615 cm^{-1} . En la región de 820 a 890 cm^{-1} la muestra Geslutin® se observa una banda en 871 cm^{-1} mientras que, en las muestras pgt1, pgt2, pgt3, pgt5 y pgt6 la misma banda se observa a 870 cm^{-1} . La única muestra con un cambio en la frecuencia evidente fue pgt4 con una longitud de onda de 864 cm^{-1} , concordando con lo descrito para el polimorfo II (Figura 34).

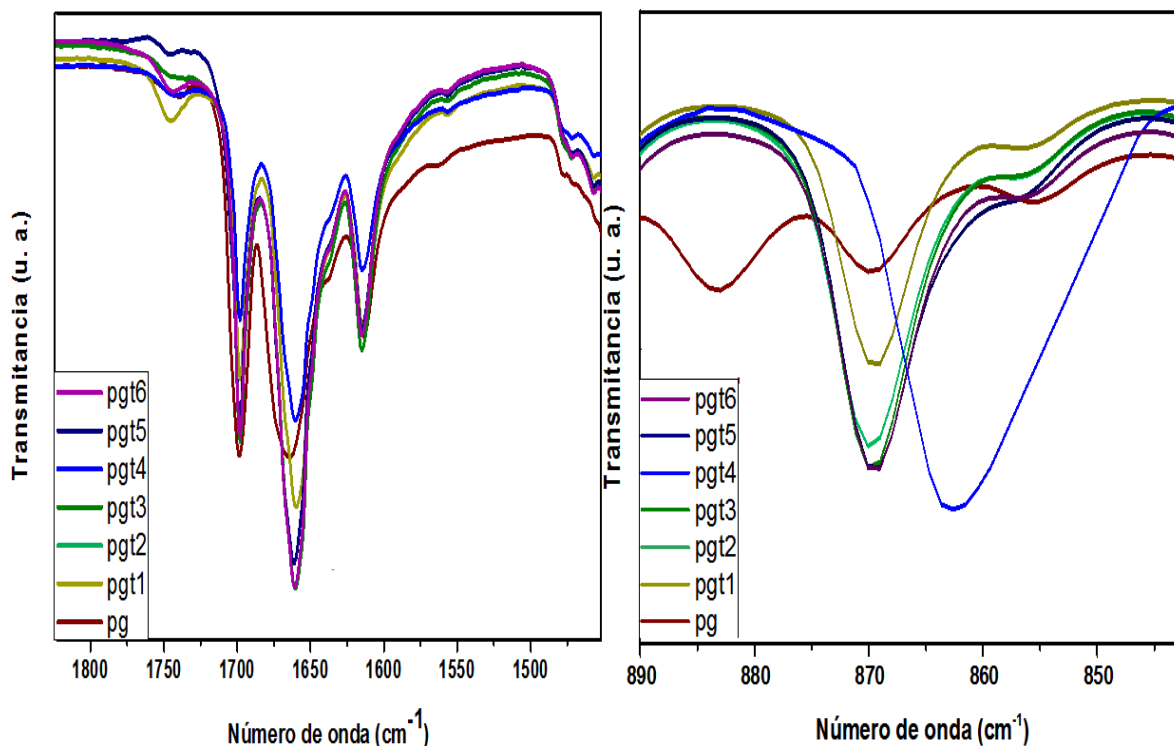


Figura 34. Ampliación de los espectros de IR de las muestras de la progesterona. **Nota:** la muestra de Geslutin® se abrevia pg en estas figuras.

En los datos de DRX obtenidos se logran apreciar los seis patrones de difracción correspondientes a las seis muestras, luciendo diferentes entre cada una de ellas. En específico, las muestras pgt1, pgt2, pgt3, pgt5 y pgt6 poseen patrones que lucen distintos entre sí, debido a que las intensidades entre cada uno de ellos es diferente. Sin embargo, poseen picos muy similares en los mismos ángulos denotando que se trata de la misma estructura cristalina. Mientras que, pgt4 posee un pico a un ángulo de 13.6° (2θ) y otro a un ángulo de 16° (2θ) aproximadamente, siendo ésta la única que posee dichos picos (Figura 35).

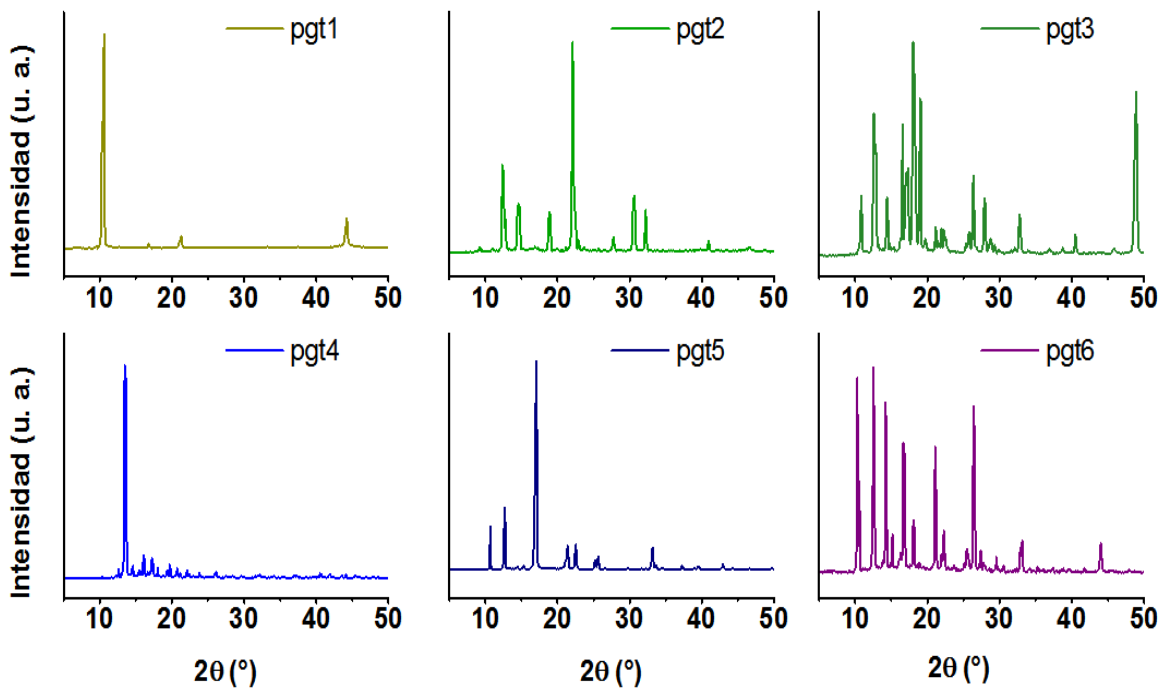


Figura 35. Difractogramas de rayos X de polvos de las muestras obtenidas de la progesterona.

La difracción de rayos X da lugar a difractogramas únicos siendo posible la identificación de fases por medio de la comparación de picos característicos de un difractograma experimental con los reportados de fases puras (medidos o calculados) de una base de datos. La base de datos empleada fue el Centro internacional para datos de difracción (ICDD, por sus siglas en inglés); encontrando dos de los polimorfos descritos para la progesterona (Figura 36). Se procedió a comparar los difractogramas de los cristales obtenidos con los difractogramas referidos a los polimorfos conocidos de la progesterona. Se determinó que las muestras que corresponden con la forma I son pgt1, pgt2, pgt3, pgt5 y pgt6 teniendo similitud en los patrones aunque no en las intensidades. La muestra pgt4 por el contrario, corresponde a una mezcla de las formas I y II de la progesterona, ya que posee tanto reflexiones del polimorfo I como del polimorfo II. En las siguientes figuras se observan como ejemplo las muestras pgt4 y pgt6 (Figura 37 y 38).

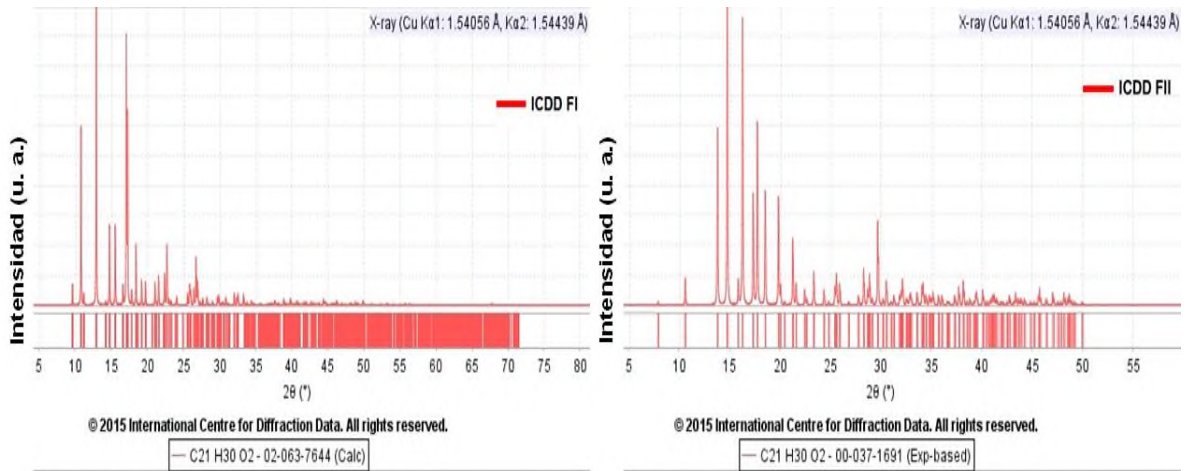


Figura 36. Polimorfos: forma I y forma II de la progesterona.

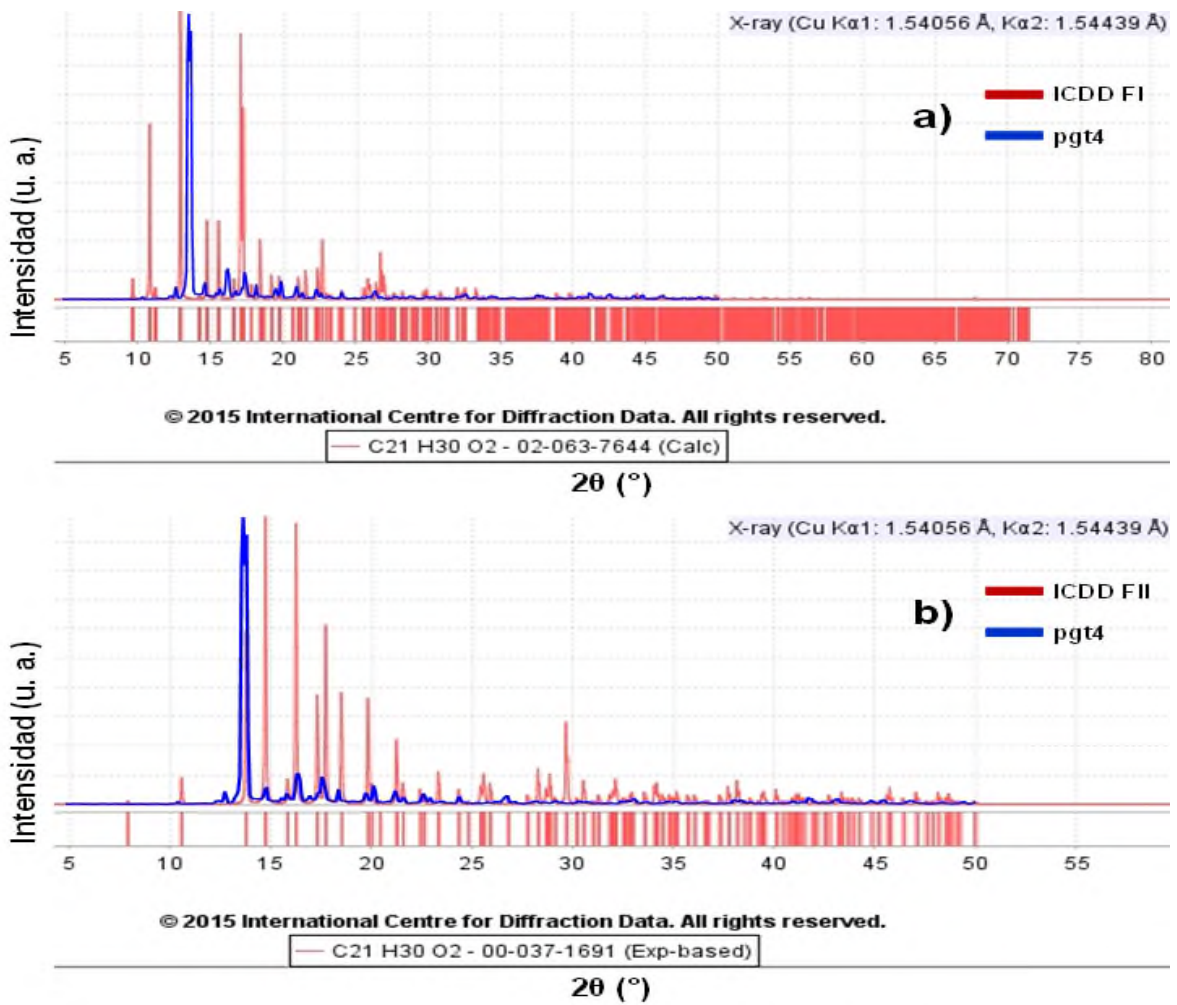


Figura 37. Comparación de las formas I (a) y II (b) de la progesterona con la muestra pgt4.

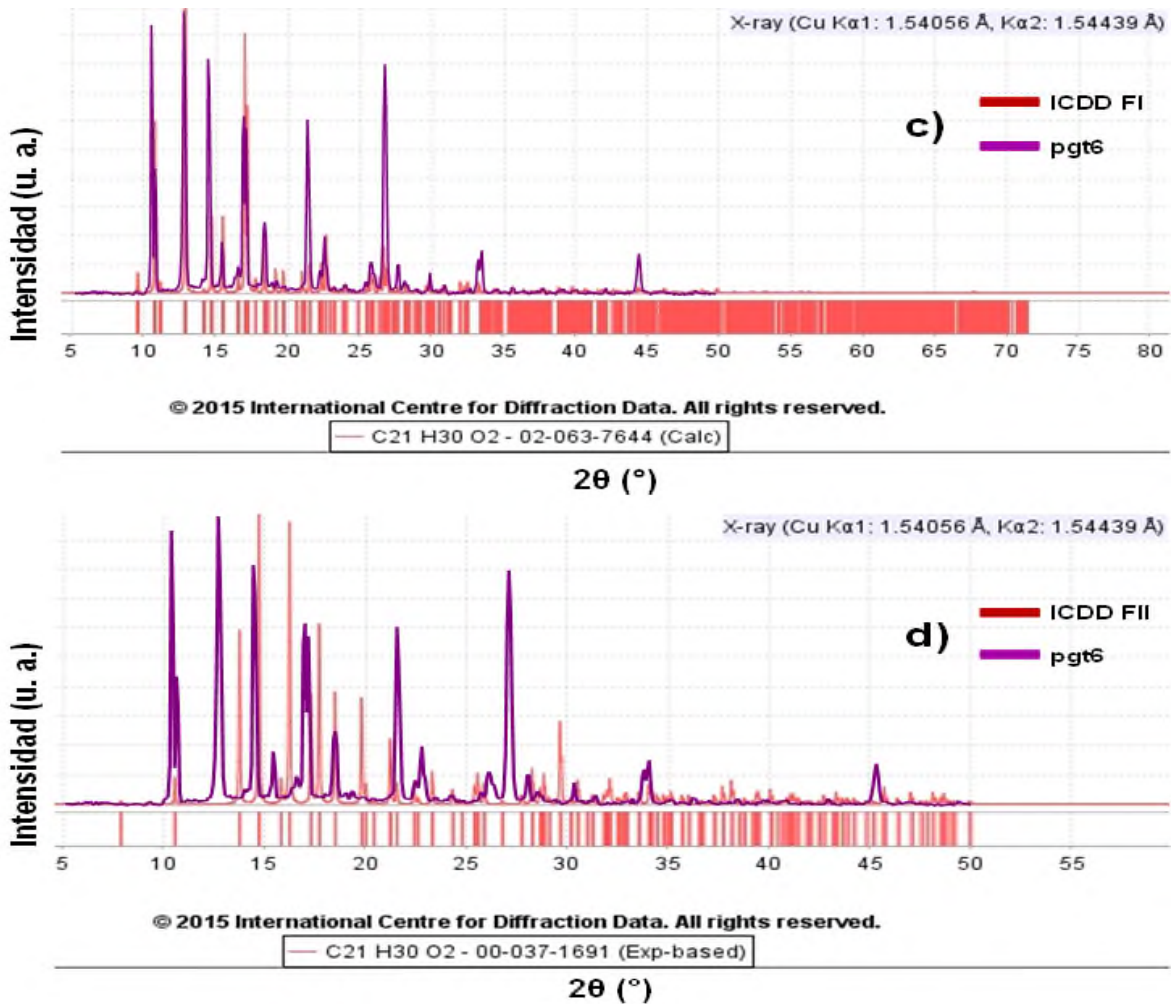


Figura 38. Comparación de las formas I (c) y II (d) de la progesterona con la muestra pgt6.

Para que una identificación por difracción de rayos X de polvos sea 100% confiable, todas las reflexiones de la muestra deben concordar con todas las reflexiones del difractograma de la base de datos. No obstante, de acuerdo a lo observado en la figura 37 y 38 esto no sucede en las muestras de la progesterona. Lo anterior se debe a que la técnica de difracción de polvos considera un gran número de cristales orientados en múltiples direcciones. Sin embargo, las muestras que se montaron en el portamuestras del difractómetro eran muchos monocristales (los mismos que se muestran en la figura 26). Lo anterior hace que en lugar de tener orientaciones al azar (lo que se tiene con el análisis de polvos) lo que tenemos en su lugar son varios cristales orientados en una misma dirección, generando con esto lo que se

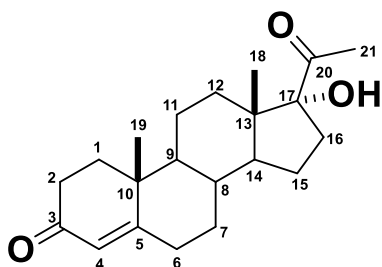
denomina como orientación preferencial. Si colocamos un monocristal en el equipo de polvos sólo deberíamos ver una sola reflexión. Por tanto, nuestra identificación se basó en la concordancia de las reflexiones observadas con las reflexiones de la base de datos. La obtención de la forma II de la progesterona, concordó con los datos descritos tanto en los puntos de fusión, forma de los cristales y análisis por RTA-IR y DRX. En el caso de la forma II, es menos estable por ende siempre será difícil su obtención completamente pura. En el caso particular de las condiciones empleadas para pgt4 solo se obtuvo la mezcla de los dos polimorfos.

9.2 Cristalización de la hidroxiprogesterona: análisis estructural

La hidroxiprogesterona fue adquirida directamente de la industria como un polvo color blanco y de acuerdo a los datos de RMN, no se detectaron señales para componentes extras.

En el experimento de RMN de ^1H para la hidroxiprogesterona se observa una señal en 5.68 ppm que corresponde al protón vinílico H-4. En 2.97 ppm aparece una señal que integra para un protón y que no tiene correlación en el experimento HSQC, es decir, se trata del protón del hidroxilo en C-17. En 2.22 ppm se encuentra una señal simple que integra para tres protones y que corresponde a los protones del metilo α al grupo carbonilo (H-21). Las señales para los protones de los metilos 18 y 19 se encuentran en 0.79 y 1.14 ppm respectivamente.

Se realizaron dieciocho cristalizaciones para la hidroxiprogesterona, de acuerdo a los espectros de RMN de ^1H ; las muestras hidpt6, hidpt7, hidpt11 y hidpt13 se detectaron trazas en 1.70 ppm de un contaminante que no pudo ser identificado y la muestra hidpt10 presentó señales en 2.11 ppm correspondiente a acetonitrilo y en 1.37 ppm posiblemente de ciclohexano ó etanol (Figura 39).



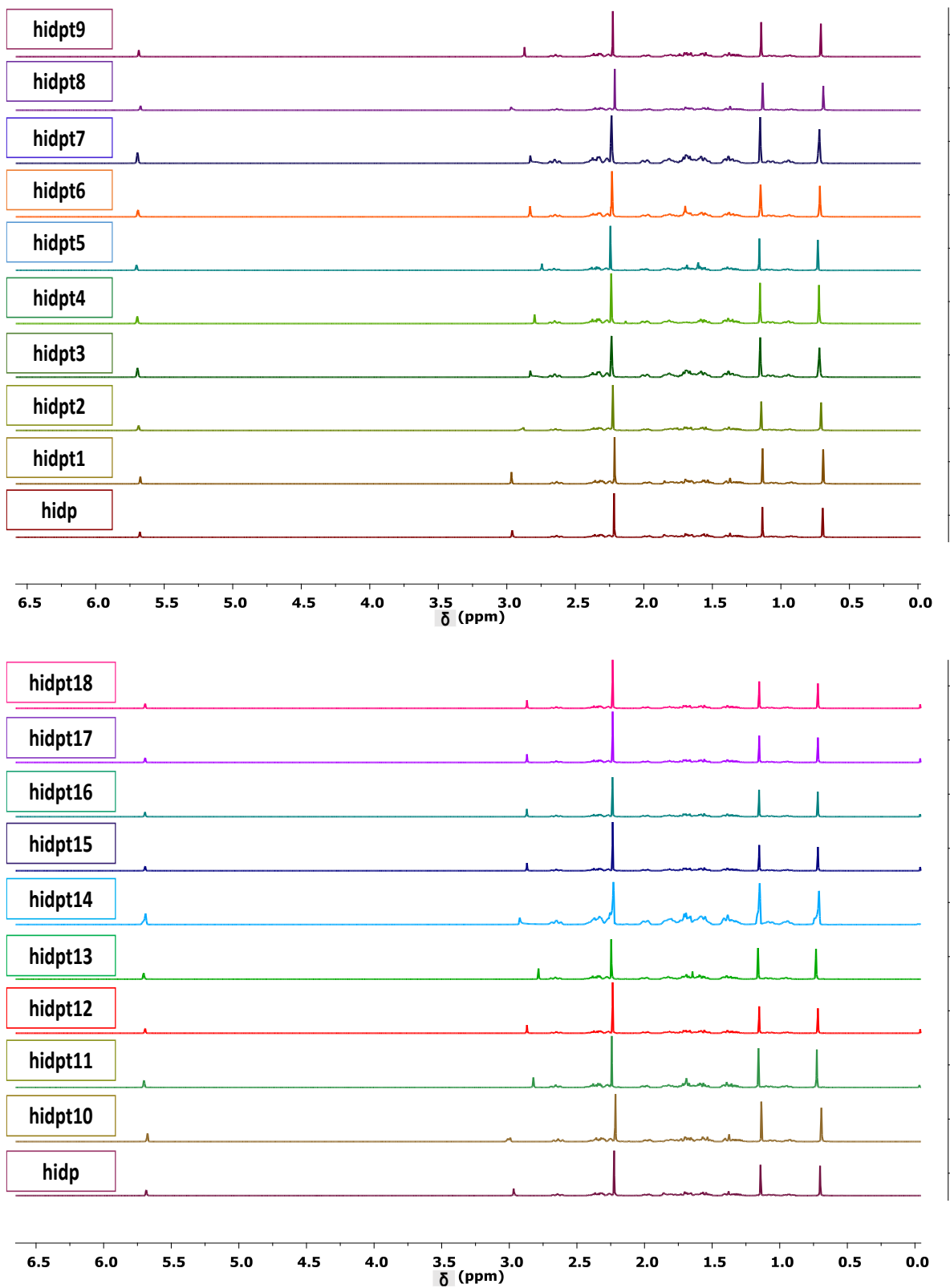
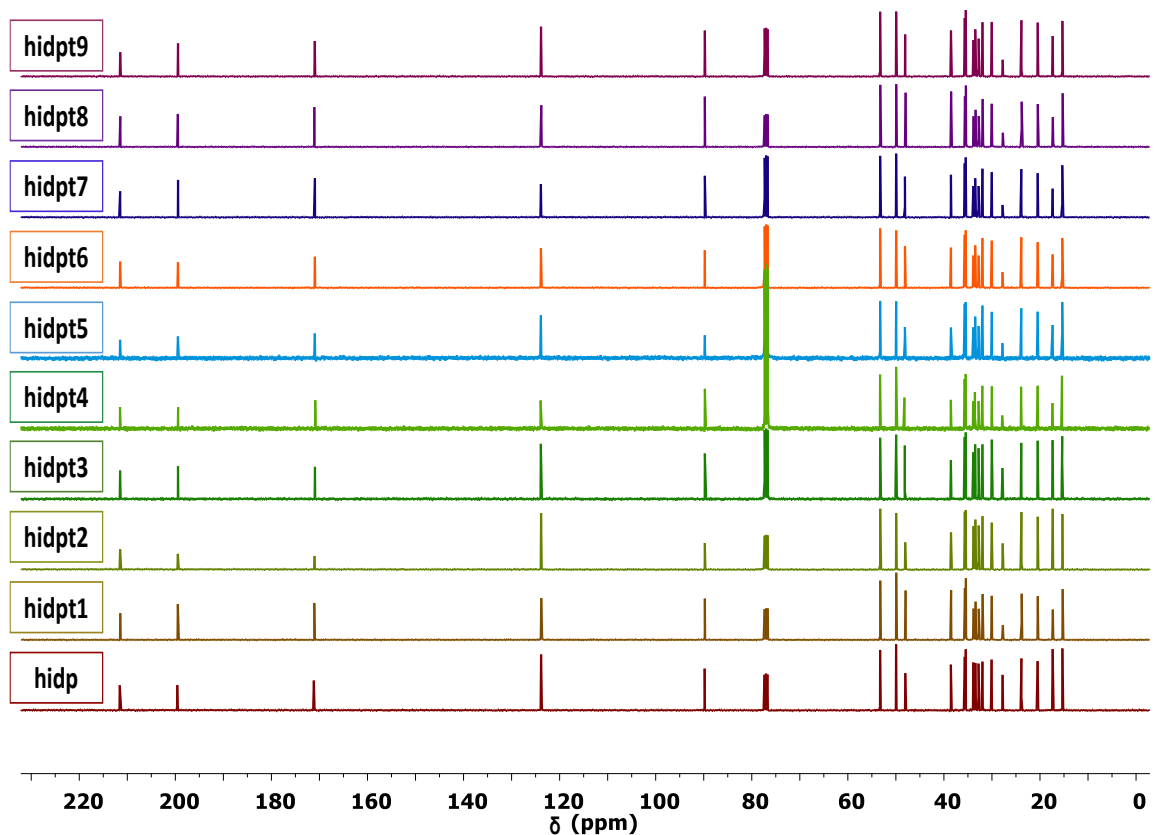


Figura39. RMN de ¹H de las muestras obtenidas de la hidroxiprogesterona.

En el experimento de RMN de ^{13}C de la hidroxiprogesterona se observan las 21 señales, destacan las señales de los carbonilos de cetona C-20 y C-3 en 211.54 ppm y 199.55 ppm, esta última señal presenta un desplazamiento característico para cetonas α, β -insaturadas. En 171.13 y 123.82 ppm se encuentran las señales de los carbonos vinílicos C-5 y C-4 respectivamente. Las señales fueron identificadas gracias a los experimentos bidimensionales DEPT, HSQC y HMBC. Cabe destacar, que no se logran apreciar señales de carbono ajenas a la molécula (Figura 40) a pesar de que en el experimento de ^1H se observan trazas de disolvente. Una de las razones por el cual no se logran apreciar las señales de los disolventes, es que el equipo de resonancia magnética nuclear posee una mayor sensibilidad en el análisis de ^1H , esto es debido a su abundancia isotópica y dado que el ^{13}C es menos abundante; el equipo necesita mayor tiempo de adquisición para poder observar las señales de carbono correspondientes a trazas de una muestra.



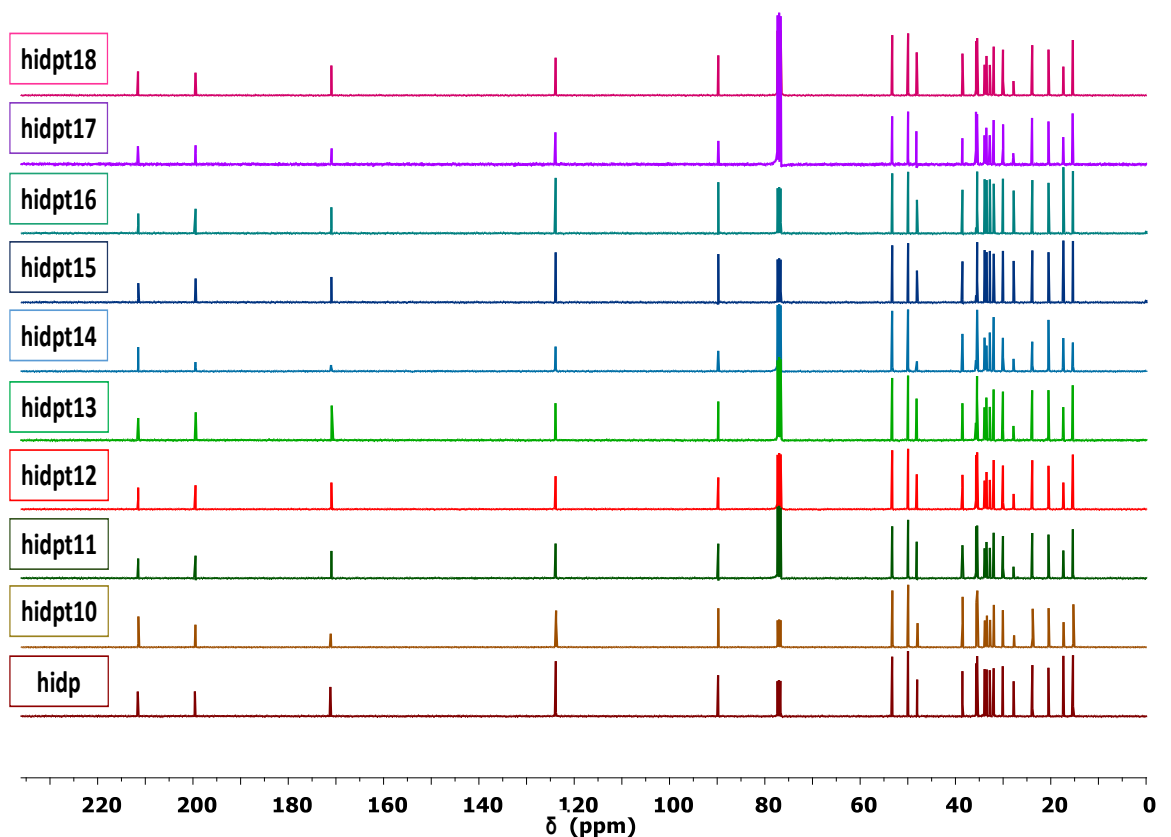


Figura 40. RMN de ^{13}C de las muestras obtenidas de la hidroxiprogesterona.

El experimento DEPT es el método usado para determinar e identificar los carbonos protonados, mientras que los carbonos cuaternarios se asignan sustrayendo las señales del espectro DEPT a las señales del espectro de ^{13}C normal. Mediante este experimento, es posible distinguir si un carbono es CH , CH_2 o CH_3 .

En el experimento DEPT realizado para la hidroxiprogesterona se observan 7 señales para metilos y/o señales de carbonos metínicos, las cuales fueron identificadas y agrupadas como CH_3 y CH gracias a sus correlaciones en el experimento de HSQC. Por lo tanto, existen 3 señales para metilos (18, 19 y 21), 8 señales para carbono de metileno (1, 2, 6, 7, 11, 12, 15 y 16) y 4 señales para carbonos metínicos (4, 8, 9 y 14); las 6 señales restantes corresponden a los carbonos cuaternarios (3, 5, 10, 13, 17 y 20) (Figura 41).

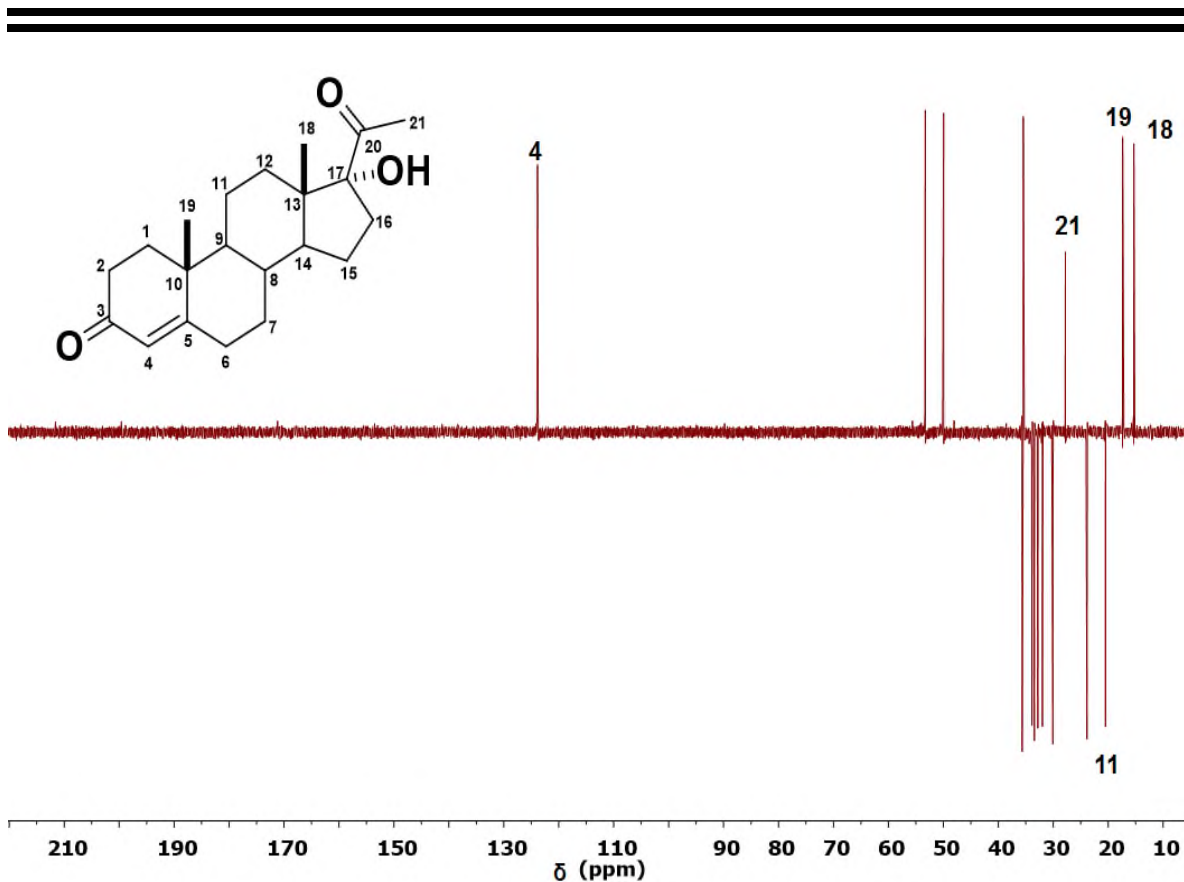


Figura 41. Experimento DEPT de la hidroxiprogesterona.

En el experimento bidimensional homonuclear COSY, se determinan las vecindades $^1\text{H}/^1\text{H}$ a través de interacciones escalares (a través de enlaces). La interpretación de este tipo de espectros se logra al identificar que núcleos de protón se correlacionan con otros núcleos mediante señales cruzadas.

En la siguiente figura del experimento COSY para la hidroxiprogesterona se logró identificar y corroborar que la señal en 2.69 ppm corresponde al C-16, ya que logra correlacionar con la señal en 2.97 ppm perteneciente al hidroxilo del C-17. Así también, la señal en 5.68 ppm correlaciona con las señales de protón en 2.36 y 2.38 ppm del C-2; al igual que logra correlacionar, aunque muy tenue con la señal en 1.14 ppm (C-19) (Figura 42).

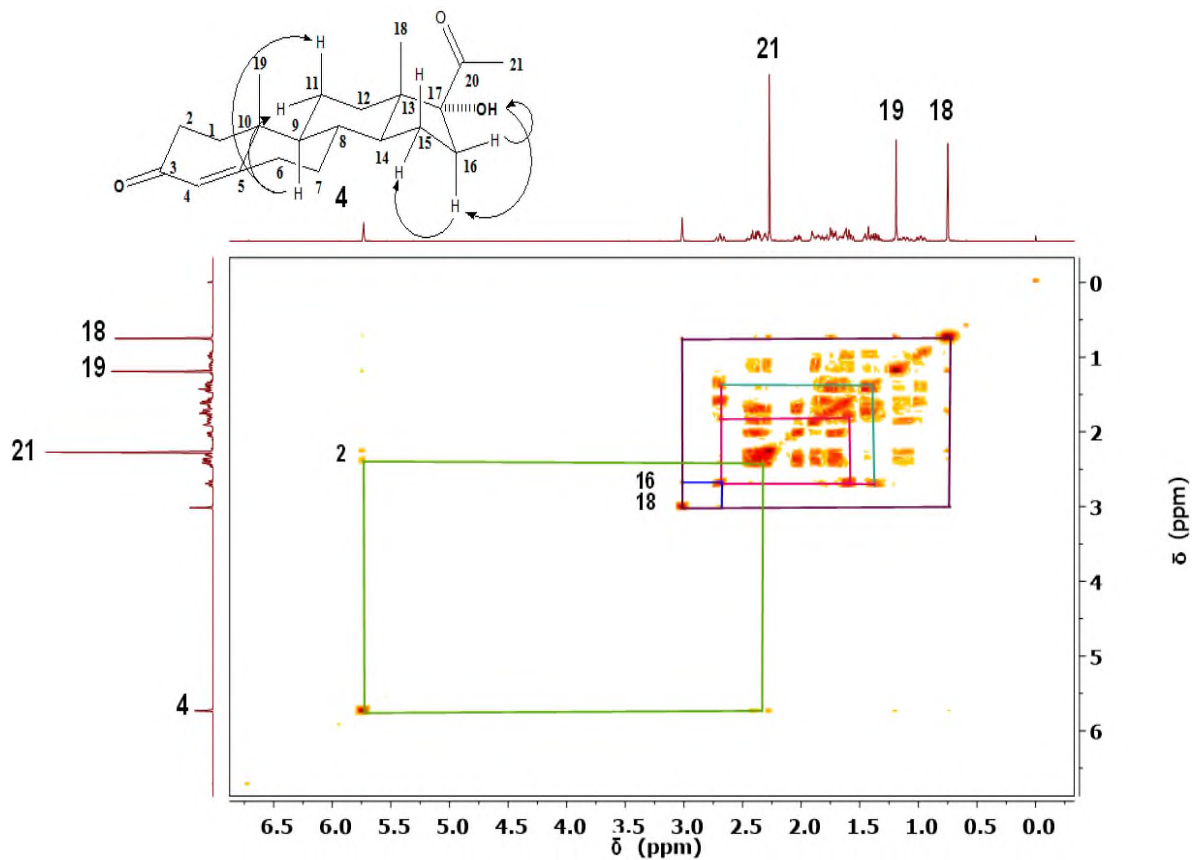


Figura 42. Experimento COSY de la hidroxiprogesterona.

El experimento bidimensional heteronuclear HSQC, es una técnica espectroscópica que proporciona información acerca de la elucidación de las estructuras hidrocarbonadas mostrando correlaciones carbono-hidrógeno a un enlace, es decir, podemos determinar que protón está unido a que carbono y viceversa.

En el experimento HSQC mostrado a continuación, se logró observar que la señal en 5.68 ppm correlaciona con la señal de ^{13}C en 123.82 ppm (determinada por DEPT como CH). La señal en 2.97 ppm no correlaciona con ninguna señal de ^{13}C , lo que indicó que ésta corresponde a la señal del hidroxilo del C-17. Las señales en 2.22 ppm que integra para tres protones correlaciona con la señal de ^{13}C en 27.75 ppm; la señal en 1.14 ppm que de igual manera integra para tres protones, correlaciona con el carbono en 17.32 ppm y por último la señal en 0.70 ppm correlaciona con la señal en 15.25 ppm (Figura 43).

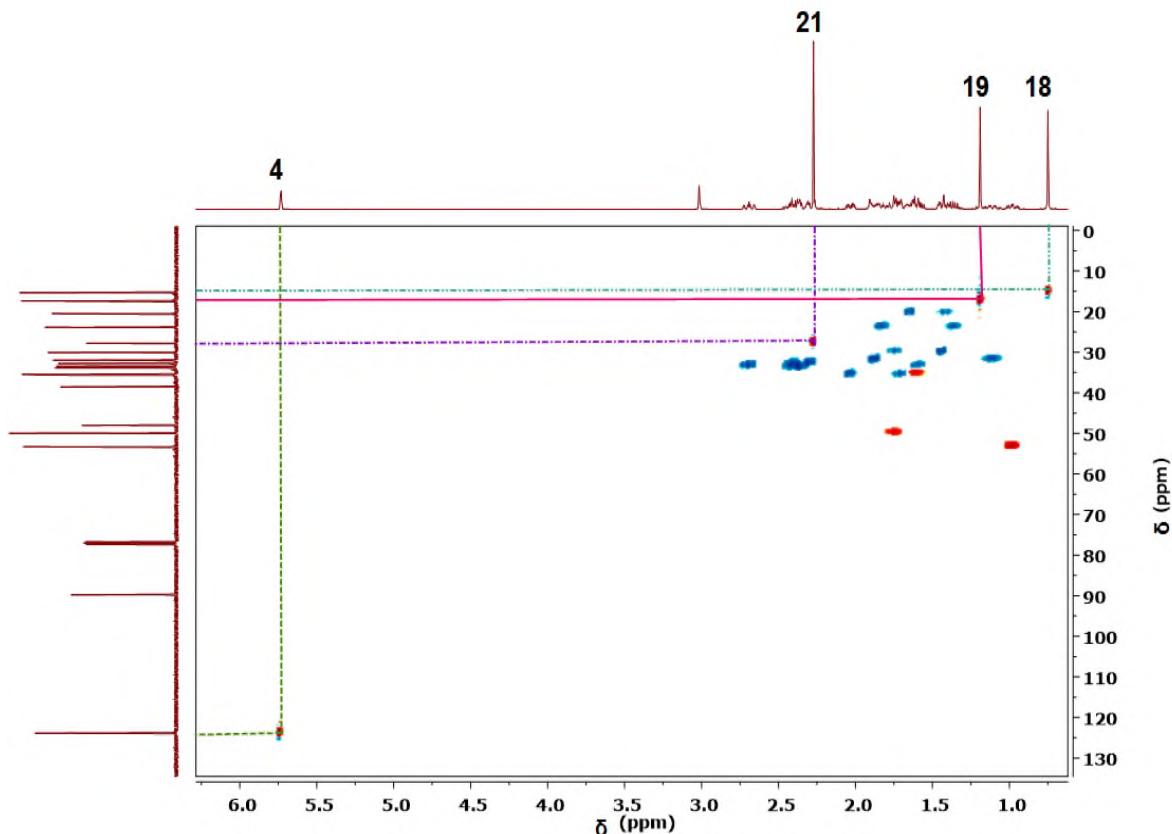


Figura 43. Experimento de HSQC de la hidroxiprogesterona.

A diferencia del experimento HSQC, el cual posee información de la conectividad a través de interacciones a un enlace, el experimento de HMBC proporciona información a través de interacciones de ^1H con núcleos de ^{13}C a larga distancia. En el experimento de HMBC mostrado a continuación, se logró designar a las señales de H-4 ya que mostró correlación con dos señales; la primera con la señal de carbono cuaternario que a su vez correlaciona con el metilo C-19, designándola como C-10 y la segunda con una señal de CH_2 en 32.76 ppm, designando a esta señal como el C-6. Debido al acoplamiento que existe entre la señal de ^1H en 2.97 ppm con las señales de ^{13}C en 211.54 ppm, 88.77 ppm, 48.00 ppm y 33.40 ppm; al igual que al experimento de DEPT y HSQC, dichos desplazamientos fueron identificados y designados a las señales de carbono C-20, C-17, C-13 y C-16 respectivamente. Gracias al experimento de HMBC se pudieron identificar todas y cada una de las señales de carbono (Figura 44).

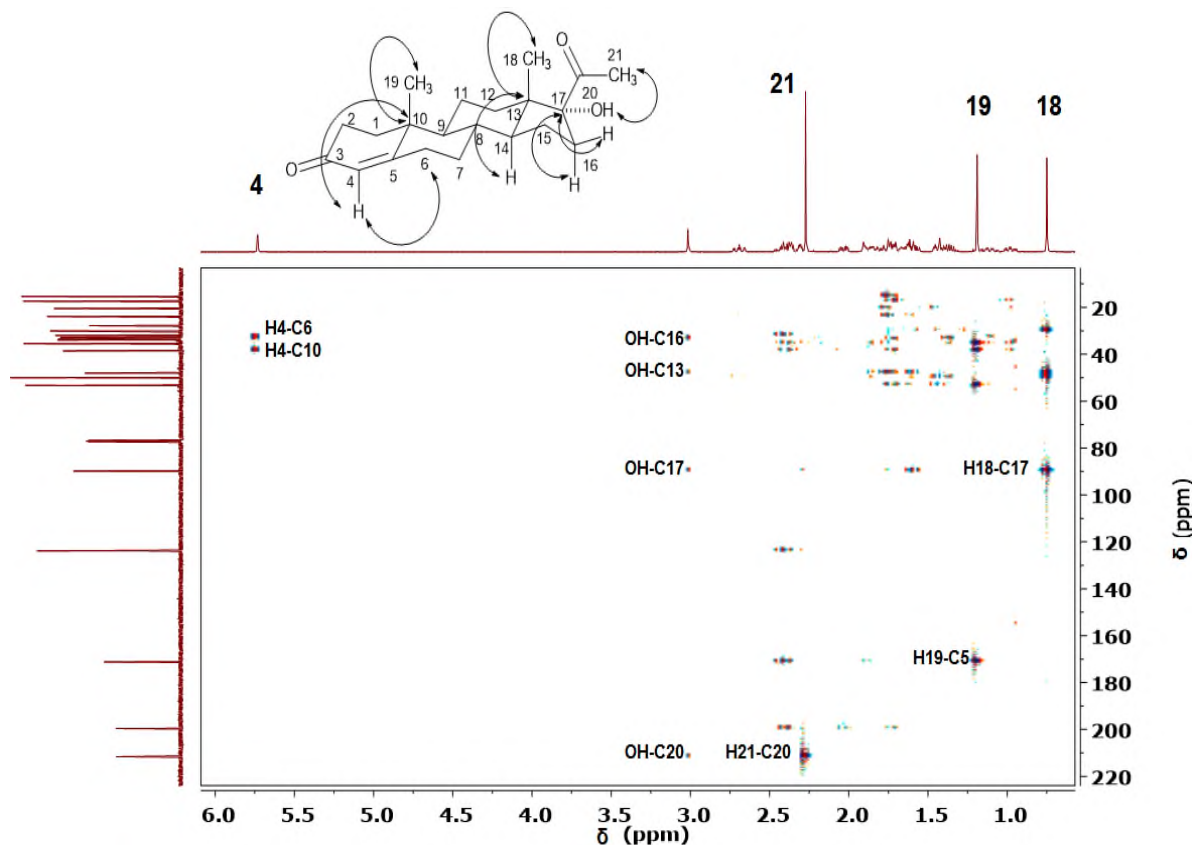


Figura 44. Experimento de HMBC de la hidroxiprogesterona.

Los espectros de infrarrojo para la hidroxiprogesterona muestran bandas de absorción con una longitud de onda de 3414 cm^{-1} debida al grupo hidroxilo (O-H) presente en el C-17. Bandas que van desde 2999 cm^{-1} hasta los 2860 cm^{-1} perteneciente a los enlaces carbono-hidrogeno (C-H) de tensión de la molécula. En 1702 cm^{-1} se encuentra la banda de tensión del grupo carbonilo de cetona (C=O) perteneciente al C-20. En 1662 cm^{-1} se encuentra de igual manera un grupo carbonilo de cetona (C=O) α, β -insaturada, dicha conjugación hace que la absorción de energía sea diferente identificando a la banda como el C-3 y en 1613 cm^{-1} se encuentra el doble enlace carbono-carbono (C=C) perteneciente al C-4 y C-5 (Figura 45).

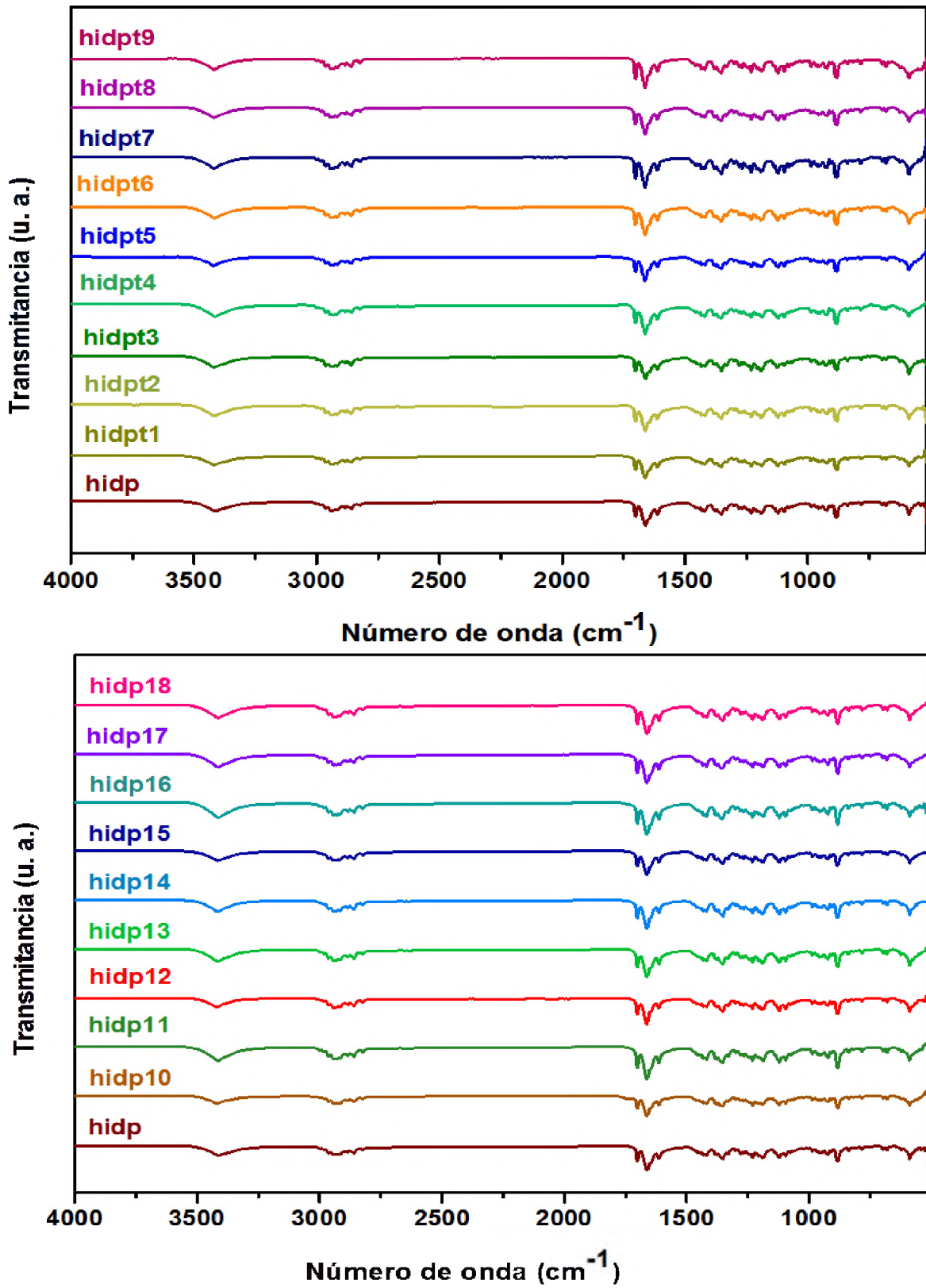


Figura 45. Espectros de IR de las muestras de la hidroxiprogesterona.

Una ampliación de las bandas características para carbonilos, permitió observar que las bandas de carbonilo C-3 y C-20 no mostraron diferencias ya que estas se ubican a una frecuencia de 1702 cm^{-1} y 1663 cm^{-1} en la mayoría de las muestras. Para hidpt10 se presenta una pequeña banda en 1739 cm^{-1} ; debido posiblemente a la interacción de las bandas de vibración C-H de disolventes como el acetonitrilo ó etanol/ciclohexano con la muestra (Figura 46), dado que hidpt10 proviene de las aguas madres.

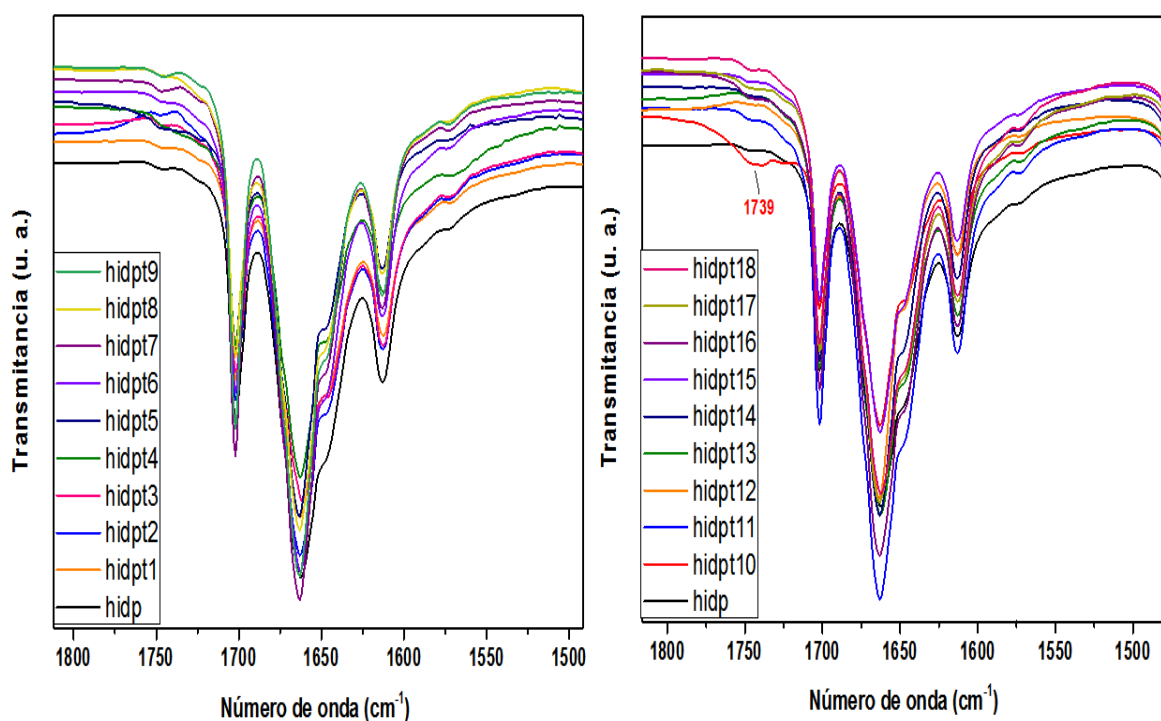


Figura 46. Ampliación de los espectros de IR de las muestras de la hidroxiprogesterona.

En los difractogramas presentados a continuación se observan los 18 patrones de difracción para las muestras cristalizadas de la hidroxiprogesterona. A pesar de que en la base de datos del ICDD solo se encuentra descrita una forma cristalina para esta molécula, en la figura 47 se pueden distinguir al menos dos tipos de estructuras cristalinas definidos y diferentes entre sí. La mayoría de las muestras presentan reflexiones similares; sin embargo, las muestras hidpt9 y hidpt14 se pueden observar reflexiones que no pertenecen a la estructura inicial aunque por RMN e RTA-IR no se observan señales de disolventes o cambios vibracionales.

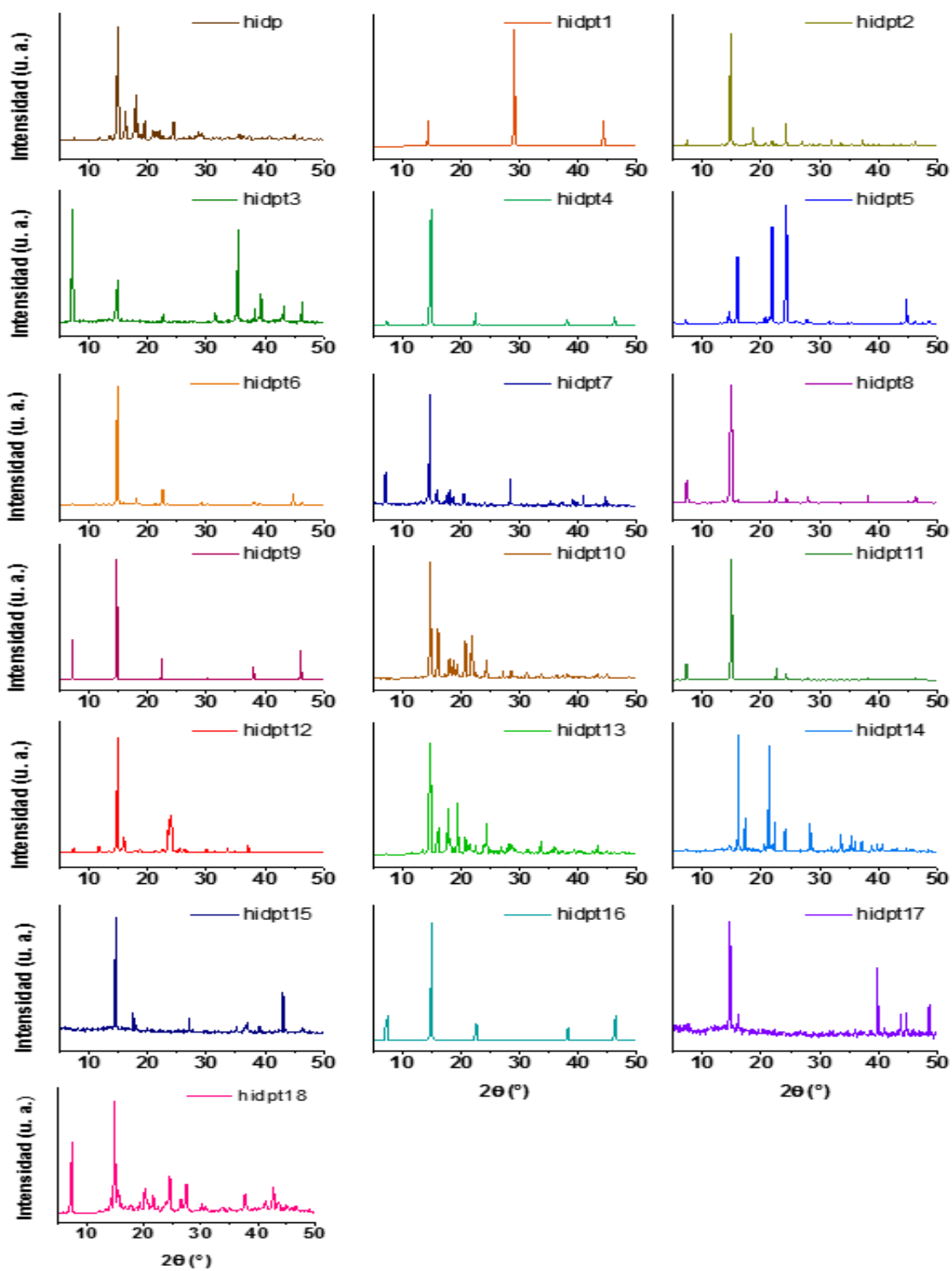


Figura 47. Difractogramas de rayos X de polvos de las muestras obtenidas de la hidroxiprogesterona.

En la ICDD se encontró una sola estructura cristalina de la hidroxiprogesterona con su respectivo difractograma (Figura 48).

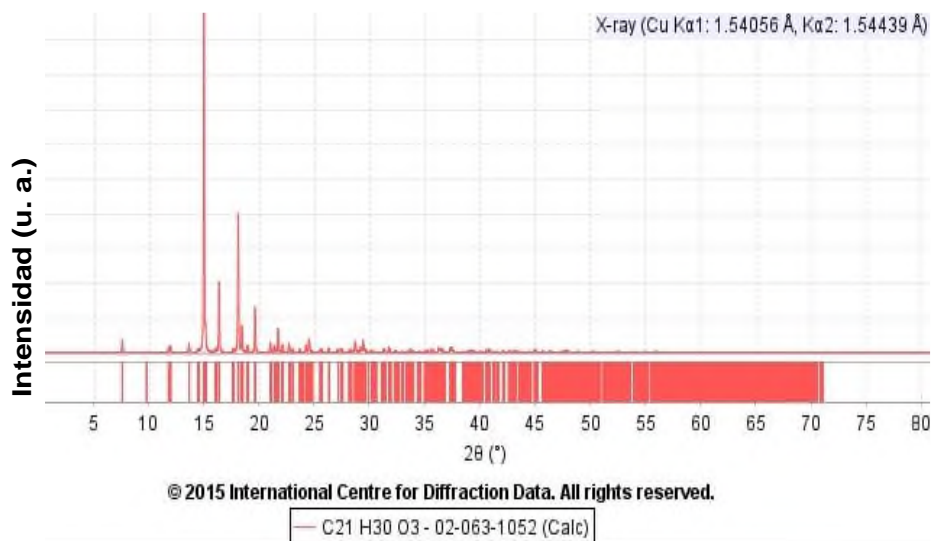


Figura 48. Difractograma de rayos X descrito de la hidroxiprogesterona.

Teniendo un difractograma descrito para la hidroxiprogesterona, se realizó la comparación de las 18 muestras obtenidas en los procesos de cristalización. Cada una de las muestras se comparó con dicho difractograma. Aquellas en donde las similitudes y diferencias son más notables se seleccionaron y se muestran como ejemplos. En la figura 49 se observan los difractogramas de las muestras hidp y hidp1. El difractograma de la muestra hidp corresponde con el difractograma de la base de datos para la hidroxiprogesterona, corroborando con ello que la muestra original es la estructura cristalina descrita. La muestra hidp1 presenta una mayor cristalinidad; a pesar de que el difractograma no parece tan similar al difractograma reportado, las reflexiones presentes si concuerdan con la estructura descrita. La ausencia del resto de las reflexiones se debe a la orientación preferencial de la muestra (varios monocristales).

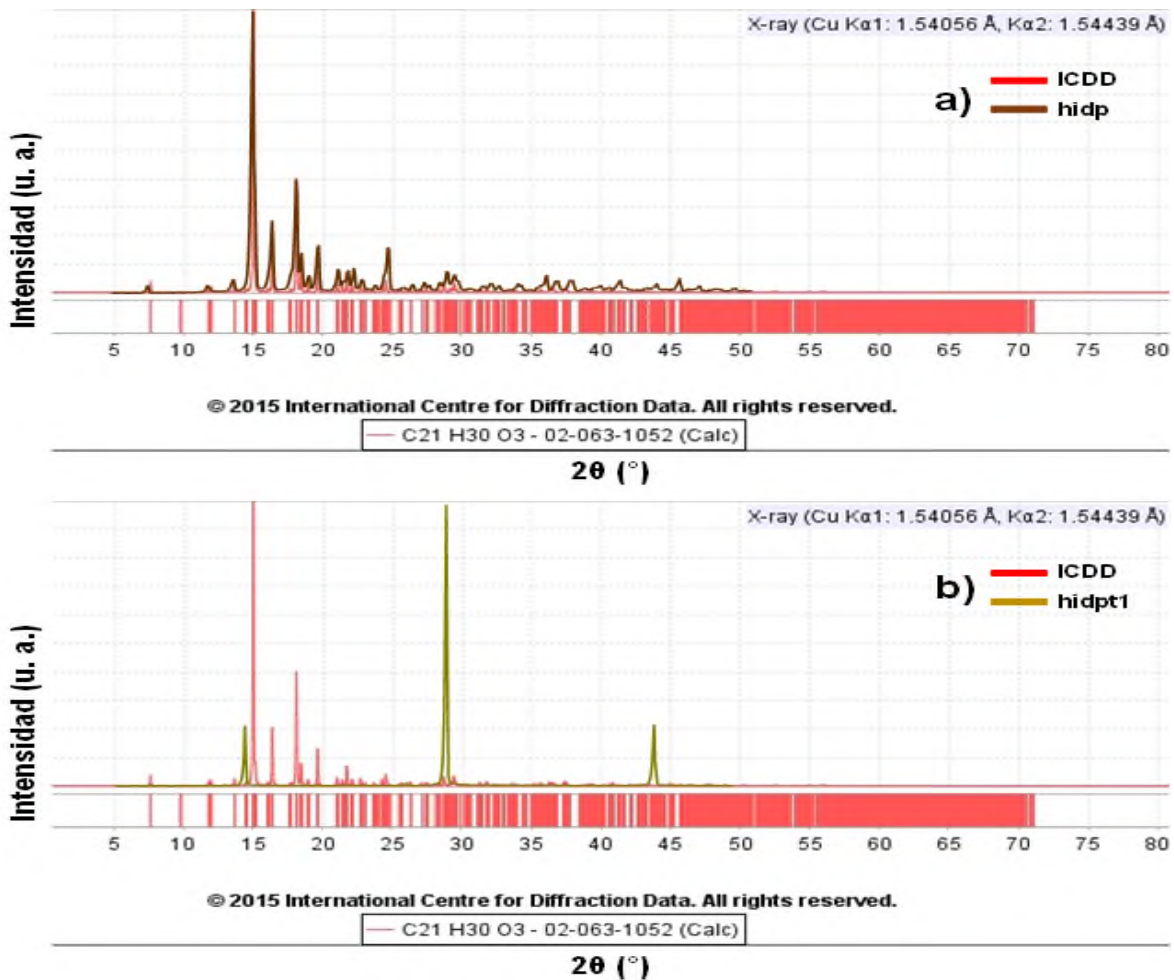


Figura 49. Comparación de las muestras hidp (a) y hidpt1 (b) con el difractograma descrito de la hidroxiprogesterona.

En la figura 50 se observan los difractogramas de las muestras hidpt9 y hidpt14, en dichos difractogramas ciertas reflexiones no concuerdan con el difractograma descrito; por ejemplo, a 7.3 y 38° (2θ) para el caso de hidpt9 y 16 y 17° (2θ) para el caso de hidpt14. Por RMN y por RTA-IR estas muestras se identifican como muestras puras de la hidroxiprogesterona. Por tanto, los cambios observados en difracción de rayos X de polvos se podrían deber o explicar a un cambio en la celda unidad de la hidroxiprogesterona durante el proceso de cristalización. Lo anterior se podrá corroborar con difracción de rayos X de monocristal.

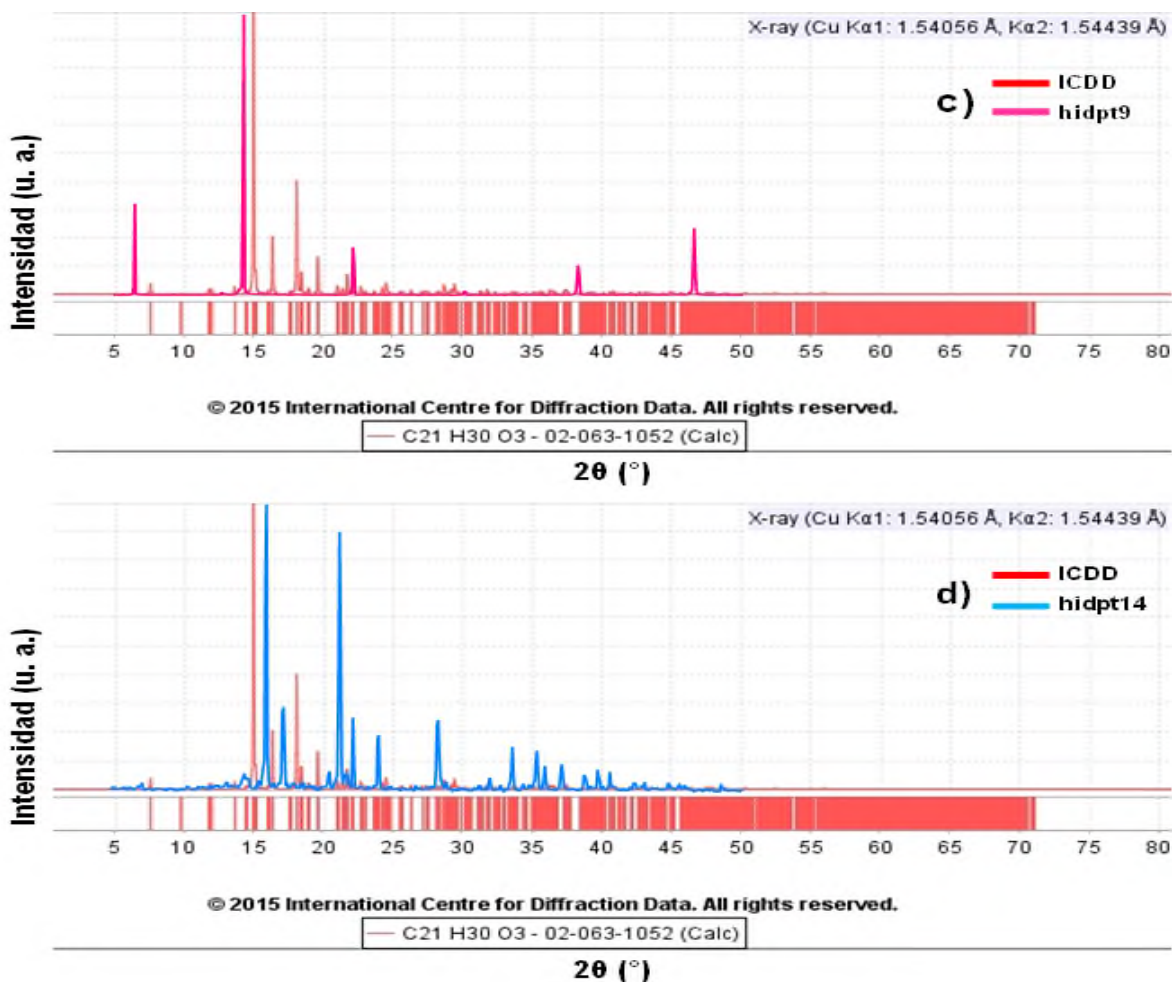


Figura 50. Comparación de las muestras hidpt9 (c) y hidpt14 (d) con el difractograma descrito de la hidroxiprogesterona.

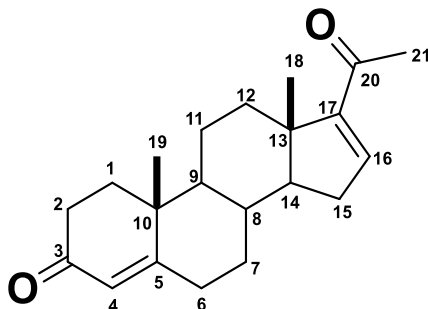
Las 18 muestras de hidroxiprogesterona empleadas para este estudio, mostraron notables diferencias macroscópicas entre sí. Es decir, diferencias en la forma y en el aspecto de los cristales (Figura 27) así como variaciones en los puntos de fusión. Todo lo anterior nos hace suponer que la hidroxiprogesterona posee diferencias en la estructura cristalina siendo los ejemplos más notables el de hidpt9 y hidpt14. Cabe destacar que las muestras que emplearon los mismos disolventes pero diferente forma de cristalización; como es el caso de hidpt9 con hidpt6 y hidpt13 con hidpt14, se observan diferencias en los difractogramas y en algunos casos en los puntos de fusión.

9.3 Cristalización de la 16-dehidroprogesterona: análisis estructural

La 16-dehidroprogesterona al igual que las anteriores pertenece al grupo de los progestágenos, el lote de aproximadamente 16 gramos de 16-dehidroprogesterona fue obtenido en forma de polvo color blanco. La 16-dehidroprogesterona como su nombre lo indica posee un doble enlace extra en el C-16.

En el experimento de RMN de ^1H para dicha molécula se presentan al menos 5 señales características: una señal doble de dobles con un desplazamiento en 6.61 ppm, característica para un protón vinílico y aunado a que esta señal correlaciona en HMBC con una de las señales de carbonilos que a su vez correlaciona con la señal en 2.16 ppm correspondiente a una metilcetona, esta señal es designada como H-16. En 5.62 ppm se encuentra el protón vinílico restante, correspondiente a H-4. Se observan tres señales simples que integran para tres protones en 2.16, 1.12 y 0.84 ppm que corresponden a CH_3 -21, CH_3 -19 y CH_3 -18 respectivamente.

En los espectros de RMN de ^1H de las 12 muestras cristalizadas para 16-dehidroprogesterona, hubo muestras que presentaron señales de disolventes; dando a conocer que en el proceso de cristalización el disolvente estuvo en contacto con la molécula. Las muestras que presentaron señales de disolventes son: d16pt6 con una señal de trazas de benceno en 7.33 ppm, d16pt7 con señal de diclorometano en 5.27 ppm, d16pt9 con una señal en 2.14 ppm correspondiente a trazas de acetona (dado que la muestra no utilizó acetona como disolvente, este pudo haberse puesto en contacto mediante la manipulación durante el proceso), d16pt10 con señales de diclorometano y acetona en 5.27 y 2.14 ppm respectivamente y d16pt12 con desplazamiento de 2.13 ppm; dado que los disolventes empleados para esta muestra fueron mezcla de MeOH/acetona, posiblemente se trate de acetona (Figura 51).



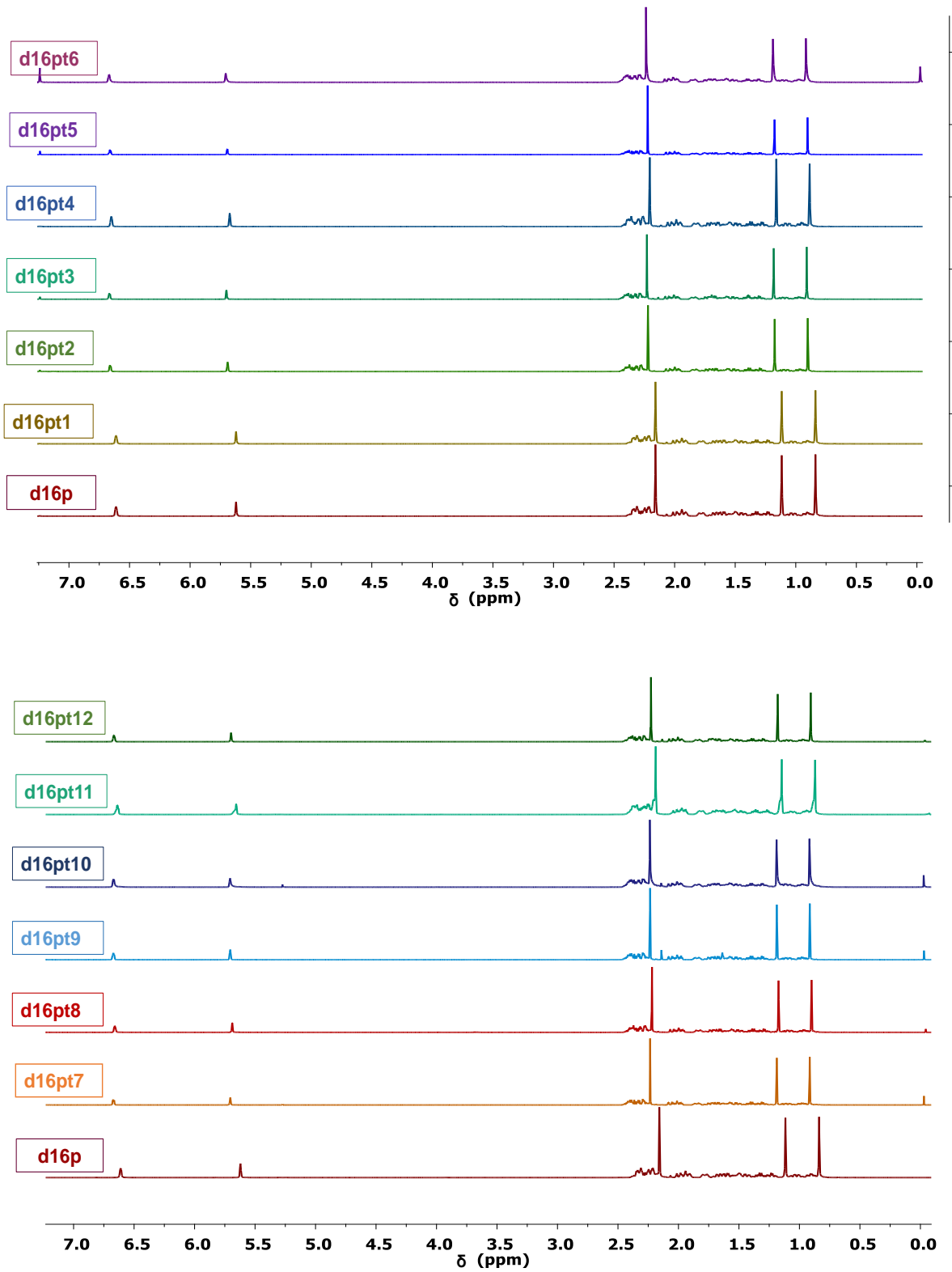
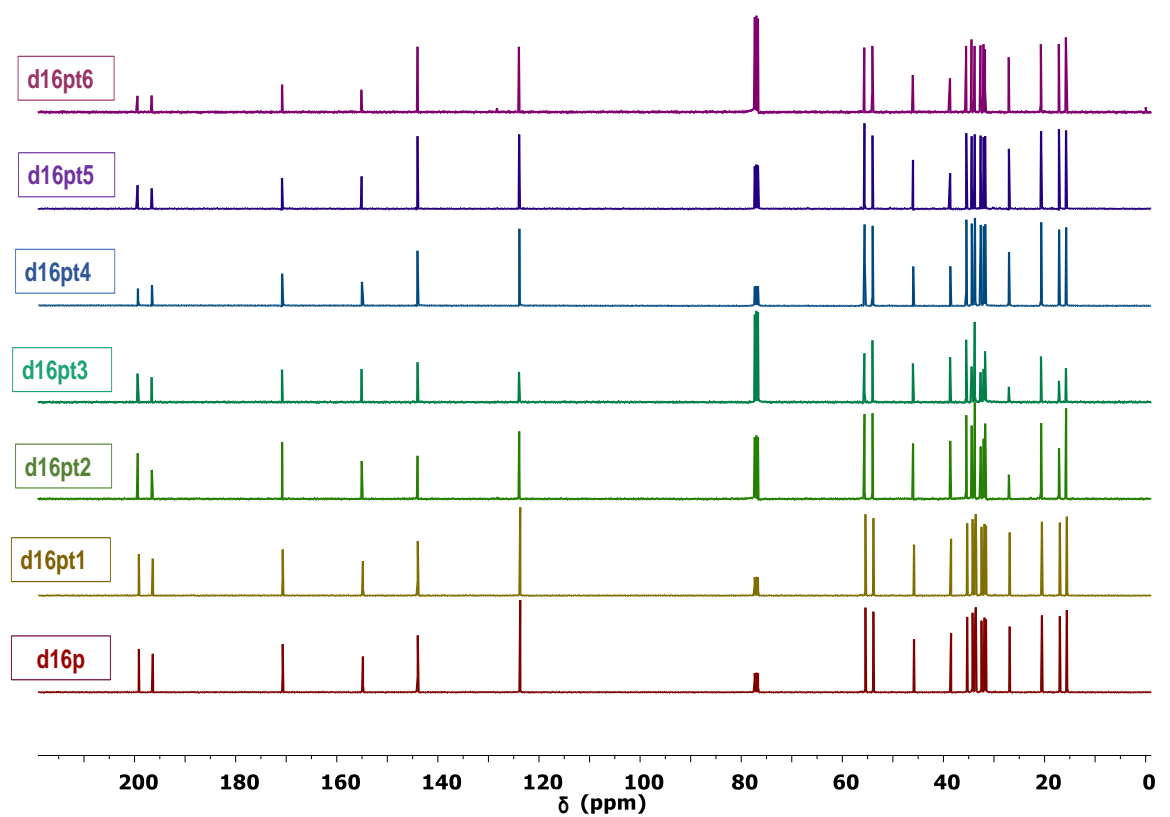


Figura 51. RMN de ¹H de las muestras obtenidas de la 16-dehidroprogesterona.

En el espectro de RMN de ^{13}C se observan 21 señales, este dato corresponde con el número de carbonos presentes en la molécula de 16-dehidroprogesterona, las señales que más destacan para d16p son: 199.13 ppm y 196.39 para los carbonilos de cetona C-3 y C-20 respectivamente. Señales de los carbonos vinílicos con un desplazamiento en 170.70 ppm para el C-5, 154.82 ppm para el C-17, 143.98 ppm para el C-16 y en 123.71 para el C-4. Todas las señales fueron designadas con la ayuda de los experimentos de DEPT, HMBC y HSQC.

En la figura mostrada a continuación de los espectros de RMN de ^{13}C para las cristalizaciones, no se observan señales adicionales a las ya esperadas (21 señales) para dicho compuesto; a pesar de que en el experimento de protón se observan señales de disolvente. Sin embargo, ya que el experimento de carbono es menos sensible que el experimento de protón; es posible que por ello no se aprecien las señales de carbono correspondientes a los disolventes observados en RMN de ^1H (Figura 52).



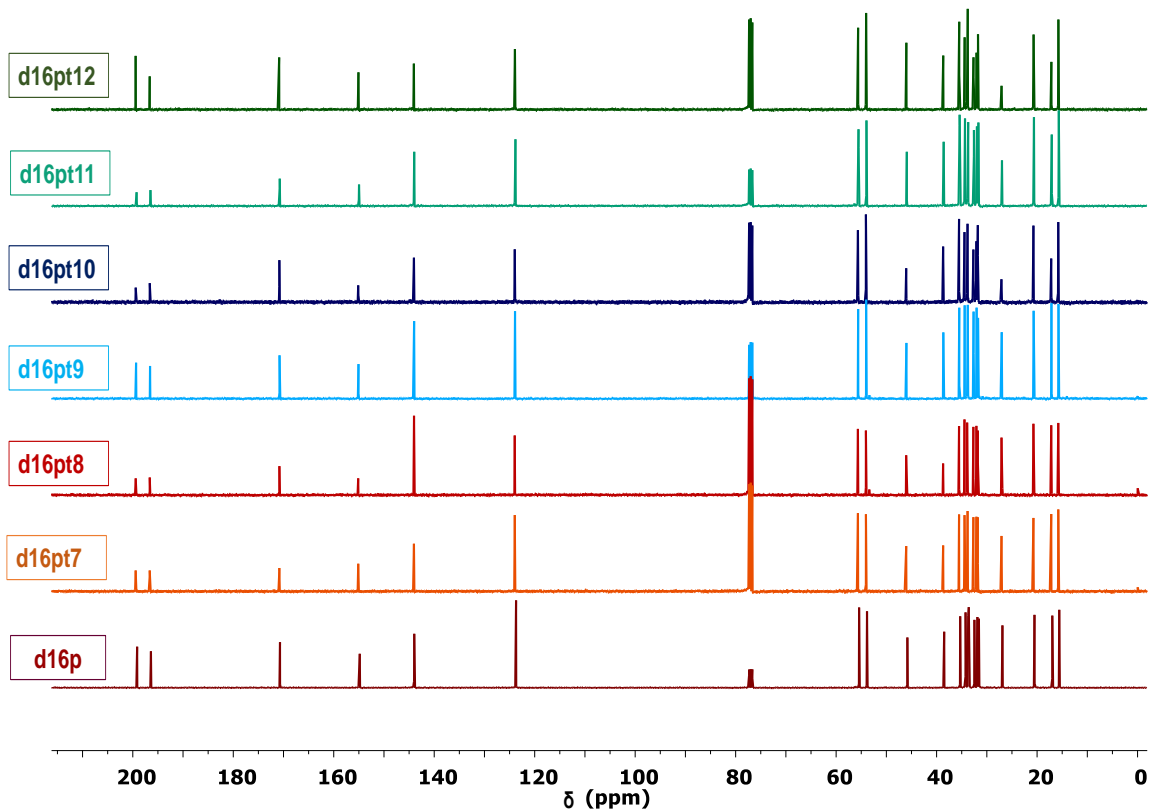


Figura 52. RMN de ¹³C de las muestras obtenidas de la 16-dehidroprogesterona.

En el espectro de infrarrojo de 16-dehidroprogesterona, se observan las siguientes bandas de absorción correspondientes a dicha molécula: bandas que van desde 2937 cm^{-1} hasta 2861 cm^{-1} características de la tensión de los enlaces (C-H). En 1678 cm^{-1} y 1659 cm^{-1} correspondientes a grupos carbonilos (C=O) propios de cetonas α , β -insaturadas y bandas en 1615 cm^{-1} y 1586 cm^{-1} correspondientes a carbonos con hibridación sp^2 (C=C).

En la figura mostrada a continuación de los espectros de infrarrojo de las muestras cristalizadas, se observan pequeñas diferencias en las intensidades de las bandas y variaciones en las frecuencias, siendo menos evidente la región de los carbonilos. La región de 720 a 820 cm^{-1} es aquella donde se pudo observar una mayor variación tanto en intensidad como en frecuencia en las muestras d16pt7 y d16pt9 (Figura 53).

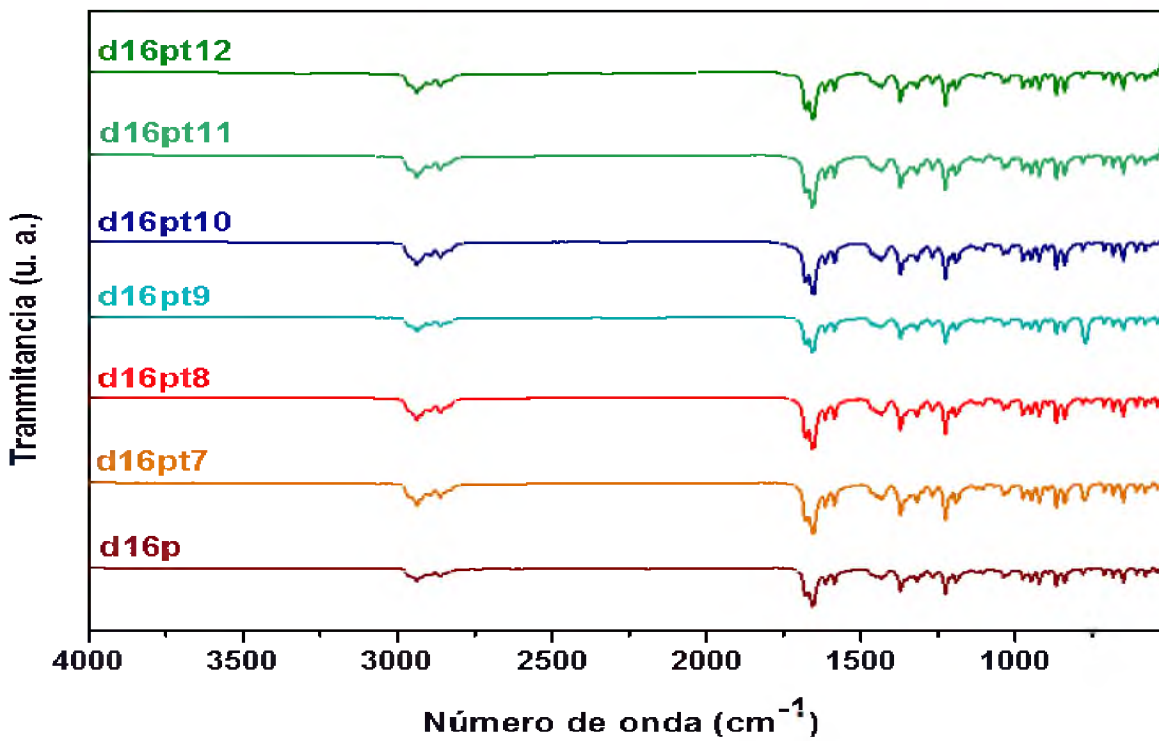
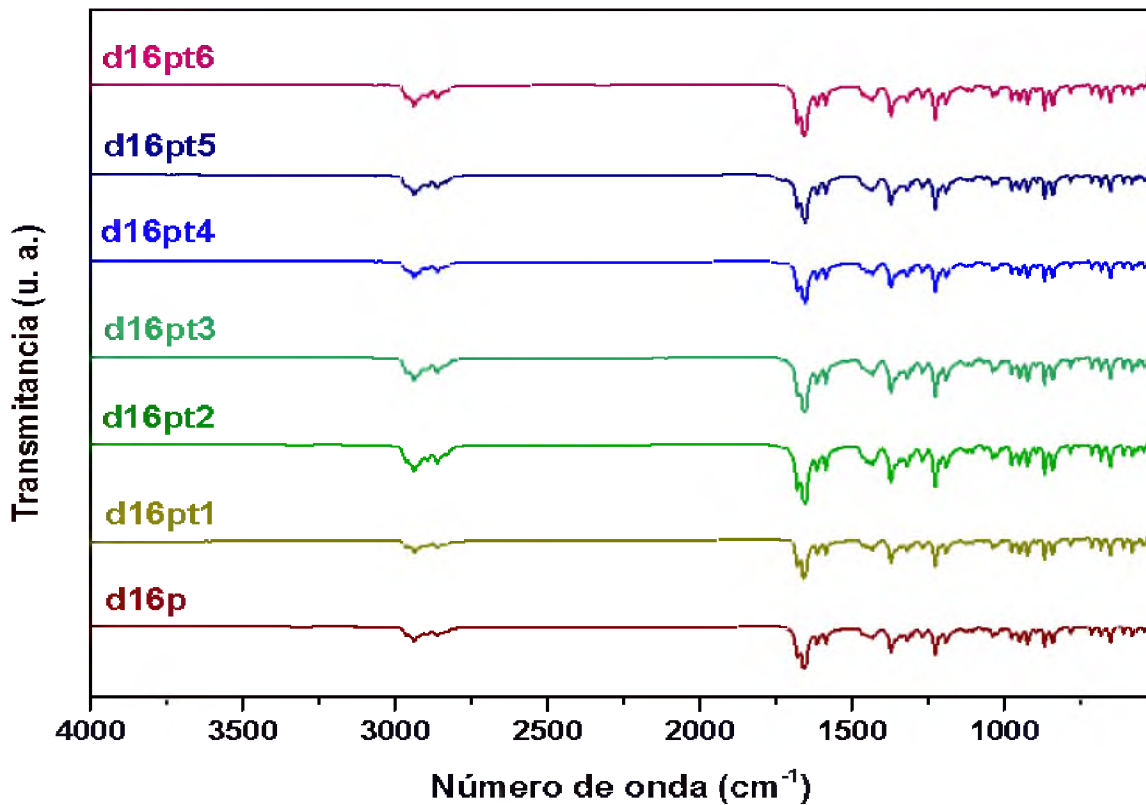


Figura 53. Espectros de IR de las muestras de la 16-dehidroprogesterona.

En la ampliación de la región de 720 a 820 cm^{-1} mostrada a continuación, se aprecian variaciones de las muestras d16pt7 y d16pt9 que presentan una banda en 776 y 774 cm^{-1} respectivamente, perteneciente a las vibraciones de flexión de los enlaces carbono-carbono (C-C), siendo que para el resto de las muestras dicha banda se encuentra a una frecuencia de 781 y/o 782 cm^{-1} (Figura 54). Los cambios presentados en las bandas de las muestras de 16-dehidroprogesterona, posiblemente sean debido a la presencia de trazas de disolventes o interacciones en los modos vibracionales, los cuales pueden estar influyendo más en esta región del espectro. A pesar de que d16pt7y d16pt9 no son las únicas en presentar contaminación por RMN, son las únicas en presentar cambios en RTA-IR.

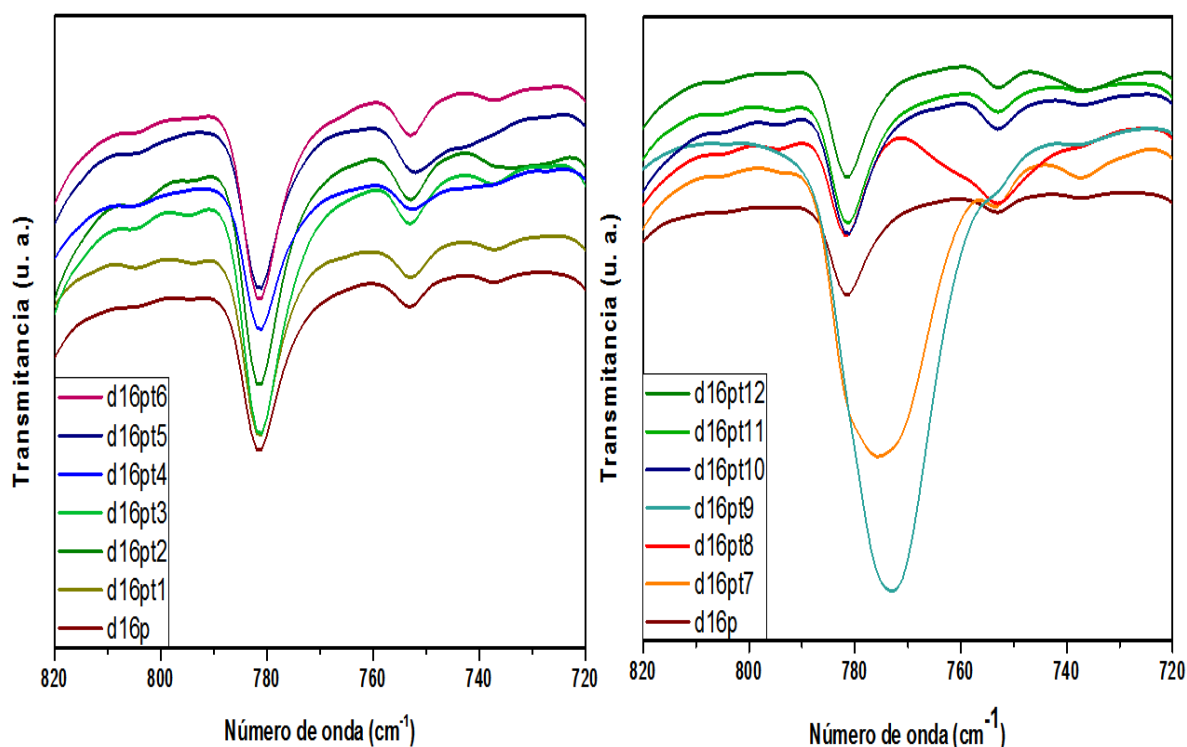


Figura 54. Ampliación de los espectros de IR de las muestras de la 16-dehidroprogesterona.

En los difractogramas presentados a continuación para los 12 procesos de cristalización, se observan que tanto las intensidades como la cantidad de picos presentes en los difractogramas difieren (aunque en menor proporción que los

casos anteriores) en algunas muestras (Figura 55). No obstante, se logran distinguir similitudes en cada uno de los ángulos; comparando con la muestra d16p.

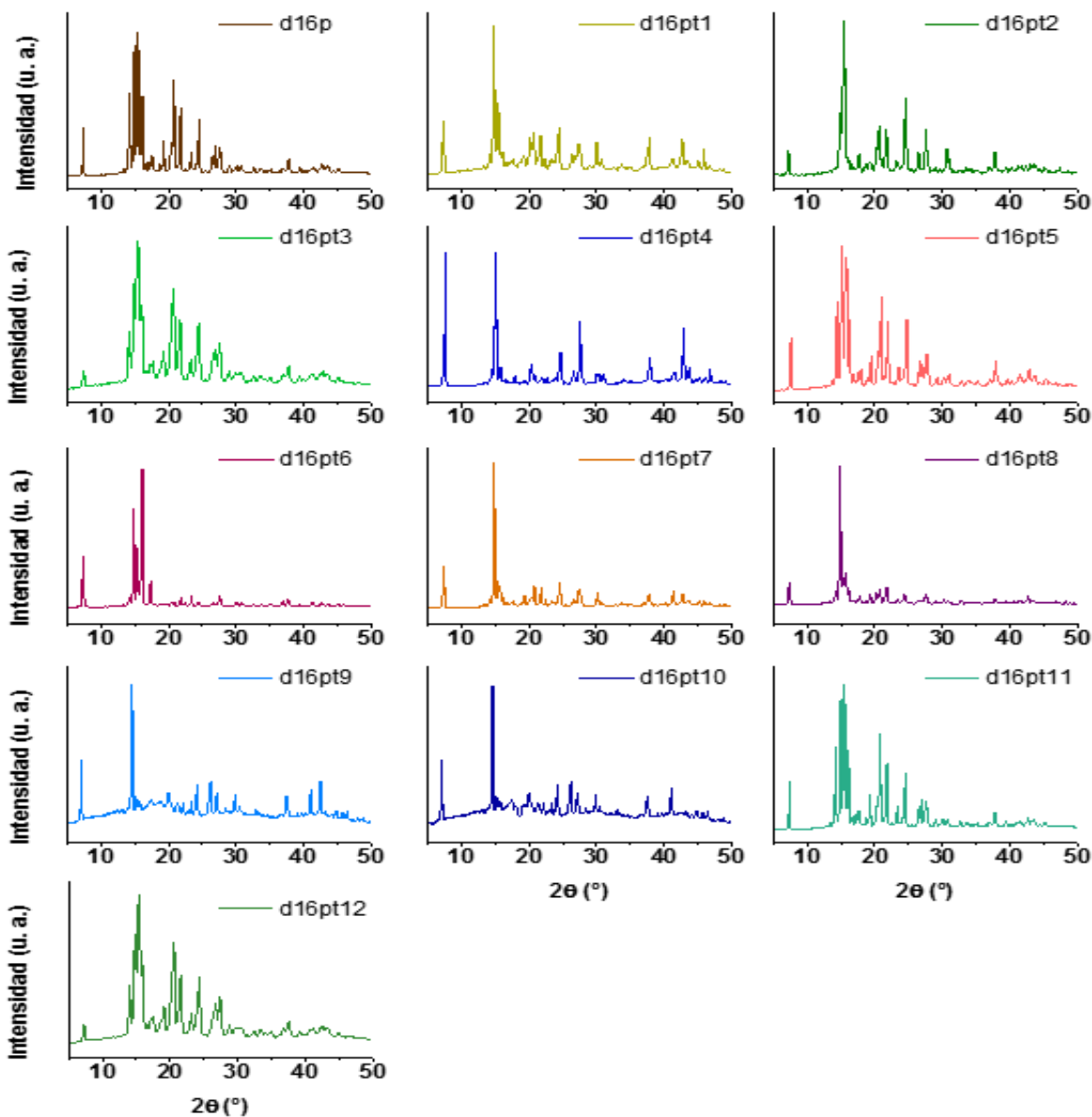


Figura 55. Difractogramas de rayos X de polvos de las muestras obtenidas de la 16-dehidroprogesterona.

En la base del ICDD se encontró una sola estructura cristalina reportada para la 16-dehidroprogesterona; por tanto, se tiene un solo difractograma correspondiente a dicha estructura (Figura 56).

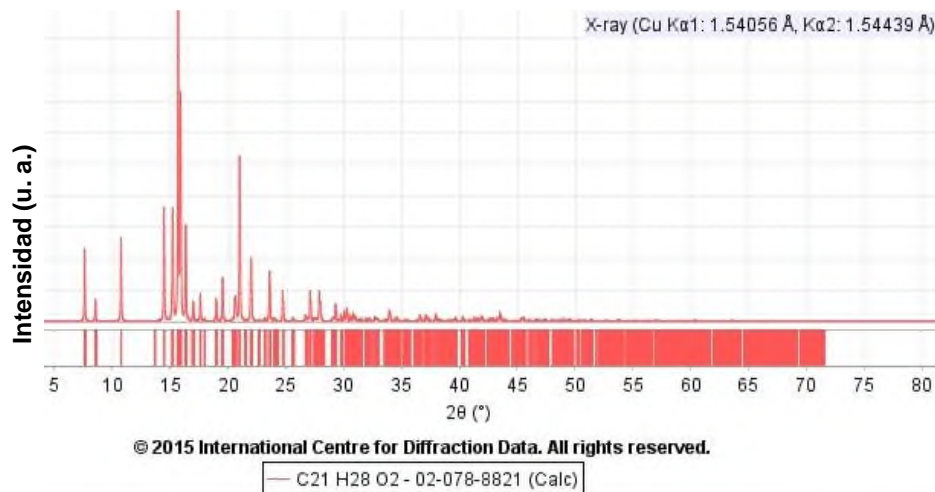


Figura 56. Difractograma de rayos X descrito de la 16-dehidroprogesterona.

Se procedió a hacer la comparación de los difractogramas de la muestra inicial así como de las 12 muestras obtenidas por cristalización con el difractograma de la estructura cristalina de la 16-dehidroprogesterona descrita. En casos como d16pt3, d16pt9, d16pt10 y d16pt12, fue evidente que las muestras presentaron picos cristalinos más anchos superpuestos sobre otro pico más ancho o línea base curva con forma similar al presentado por los materiales amorfos. Es por ello, que para tener una imagen clara de dicha comparación se toman como ejemplo las muestras d16p, d16pt4 y d16pt12 (Figura 57 y 58).

En la muestra d16p presentó un patrón de difracción muy similar al difractograma de la base de datos, debido a que la muestra se presentó en forma de polvo blanco, esto hizo que el análisis de difracción de rayos X de polvos fuera mucho más precisa tanto en los ángulos como en las intensidades. Por tanto, la muestra inicial presenta la estructura cristalina de la 16-dehidroprogesterona descrita. En el caso de la d16pt4, como se observa en la figura 57, presenta ligeras variaciones en las intensidades al igual que el número de reflexiones presentes. Por lo anterior, la d16pt4 posee orientaciones de planos cristalinos no tan al azar, es decir, al poseer una estructura sólida más cristalina y no tanto de polvo; sus planos difractan en menos direcciones y es por ello que solo se tienen picos asociados a ciertas direcciones esto se observa notablemente en el aspecto de las muestras obtenidas d16pt4, d16pt6, d16pt7 y d16pt8 (Figura 28).

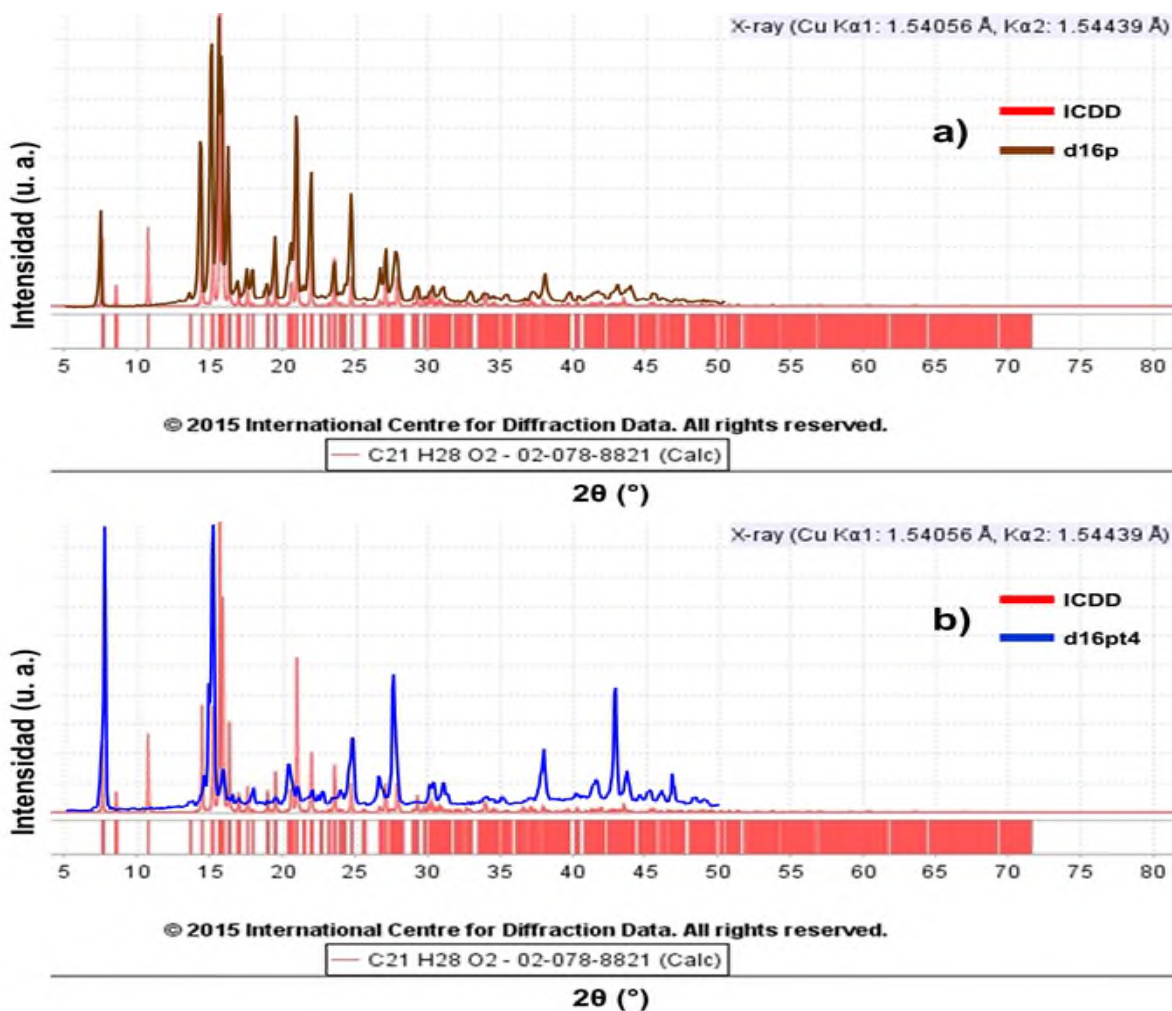


Figura 57. Comparación de las muestras d16p (a) y d16pt4 (b) con el difractograma descrito de la 16-dehidroprogesterona.

En la figura 58, el difractograma de la muestra d16pt12 es similar al de la estructura descrita. Sin embargo, se observa en el fondo del difractograma la presencia de zonas amorfas, lo cual es debido al aspecto del sólido obtenido, siendo que este presento un crecimiento tanto cristalino como amorfo en el mismo vial (Figura 28).

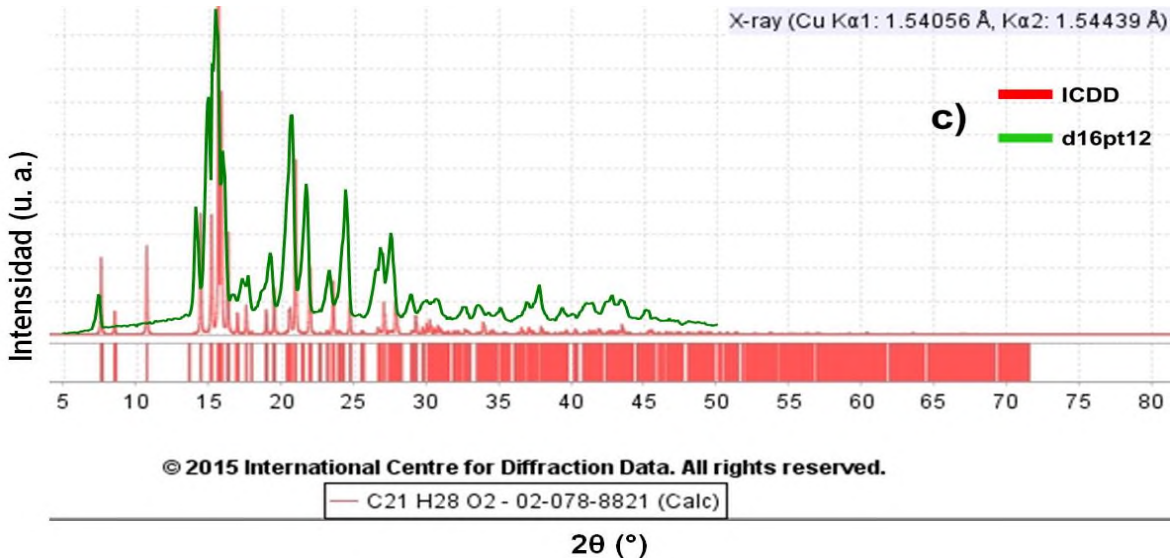


Figura 58. Comparación de la muestra d16pt12 (c) con el difractograma descrito para la 16-dehidroprogesterona.

Las muestras de 16-dehidroprogesterona, al no ser monocristales como en los casos anteriores, fueron mejor caracterizadas por difracción de rayos X de polvos. Consecuencia de lo anterior no existió un efecto tan marcado de orientación preferencial y la posición-intensidad de las reflexiones de las muestras fueron prácticamente idénticas a las reflexiones de la estructura descrita.

En específico, las muestras d16pt9 y d16pt10 exhibieron en RMN de ^1H una mayor cantidad de disolvente con respecto a las demás, presentaron en DRX zonas amorfas (Figura 55) con apariencia de polvo opaco, como si la muestra tan solo hubiera precipitado y no cristalizado (Figura 28).

Con respecto a los puntos de fusión, no hubo gran diferencia ya que en la mayoría de las muestras rondan los 191°C . Por lo antes descrito, la molécula de 16-dehidroprogesterona no presentó cambios en la estructura cristalina. No obstante, la apariencia de zonas amorfas describe que los métodos de cristalización empleados así como los disolventes fueron suficientes para exhibir un desorden en la formación del sólido.

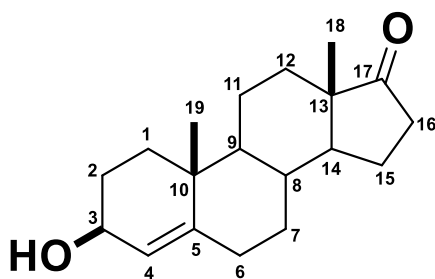
9.4 Cristalización de la Prasterona: análisis estructural

La prasterona es sintetizada por nuestro organismo alcanzando niveles máximos en la etapa de crecimiento y decayendo en la vejez. Además, es un medicamento indicado como un suplemento alimenticio y como un potenciador en la actividad física tanto de hombre como de mujeres.

La prasterona se obtuvo de la industria en forma de aglomerados blancos, al igual que las demás muestras, se le realizaron experimentos de RMN en una y dos dimensiones para su completa caracterización, los datos más relevantes se describen a continuación.

En el espectro de RMN de ^1H para la molécula de prasterona, se tienen los siguientes desplazamientos: una señal doble de dobles con un desplazamiento de 5.36 ppm que corresponde al protón vinílico H-6, en 3.51 ppm, una señal múltiple que integra para un protón y que corresponde al H-3. La señal doble de doble de dobles en 2.44 ppm del H-7 con un desplazamiento característico para protones alílicos. Las dos señales simples que integran para tres protones con desplazamientos de 1.02 y 0.87 ppm para los protones de los metilos CH_3 -19 y CH_3 -18 respectivamente. Sin embargo, la muestra de prasterona contenía señales de contaminantes en 5.27 ppm proveniente de diclorometano, señal de acetona en 2.14 ppm y en una señal no identificada en 1.72 ppm, siendo que dicha señal por HSQC y HMBC no muestra correlación con ninguna señal de carbono.

Cabe mencionar que las muestras cristalizadas prast1, prast2 y prast4 se observan trazas de diclorometano en 5.27 ppm y de acetona en 2.14 ppm. Por otro lado, la muestra prast3 a pesar de que no presenta señal de diclorometano; si presenta una señal de acetona en menor proporción que las otras muestras (Figura 59).



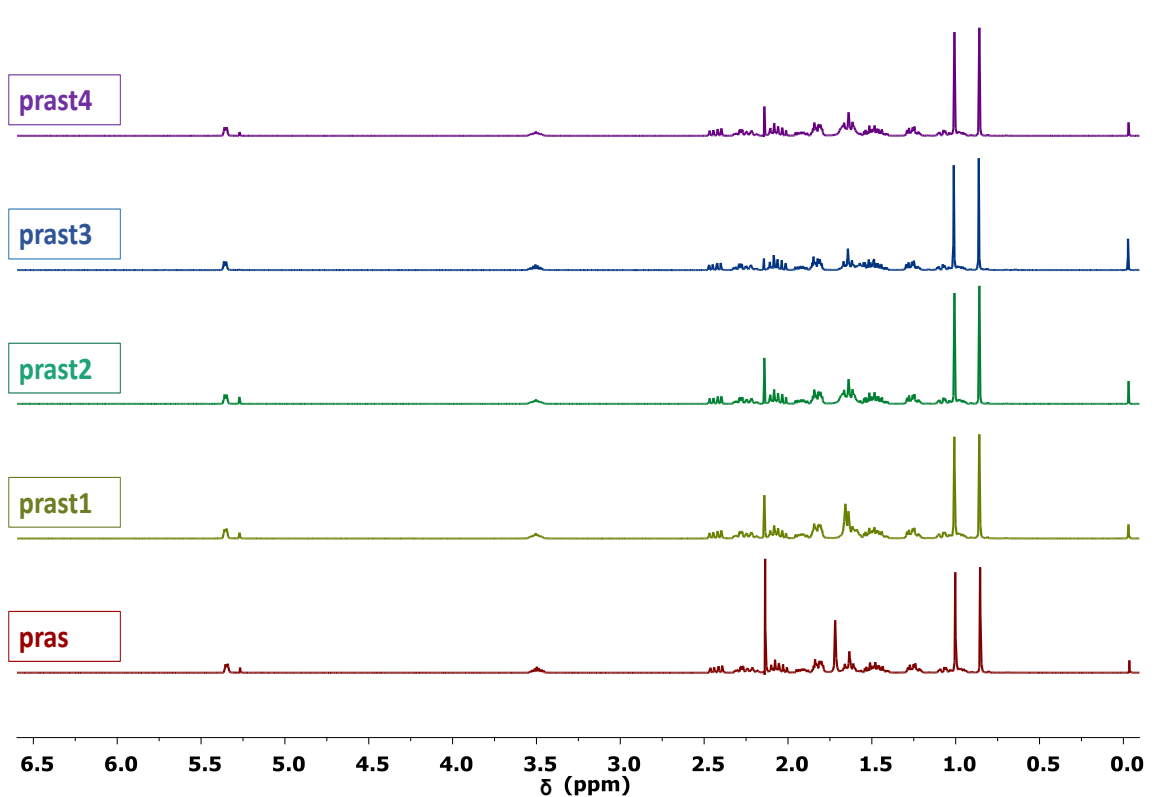


Figura 59. RMN de ^1H de las muestras obtenidas de la prasterona.

En el espectro de RMN de ^{13}C para la prasterona, se observan las 19 señales concordando con el número de carbonos presentes en la molécula, destacando la señal en 221.12 ppm desplazamiento propio de cetonas unidas a ciclos de cinco carbonos, la señal en 141.01 ppm correspondiente al carbono vinílico cuaternario C-5, la señal de carbono vinílico con un desplazamiento de 120.93 ppm del C-6 y 71.62 ppm, desplazamiento correspondiente a carbonos unidos a un grupo hidroxilo, asignando al C-3 para dicha señal.

En los espectros de ^{13}C de las muestras cristalizadas, no se observan señales extras a las esperadas (Figura 60). Los datos espectroscópicos de RMN se presentaron diferencias en los desplazamientos de la mayoría de las señales debido posiblemente variaciones del campo magnético.

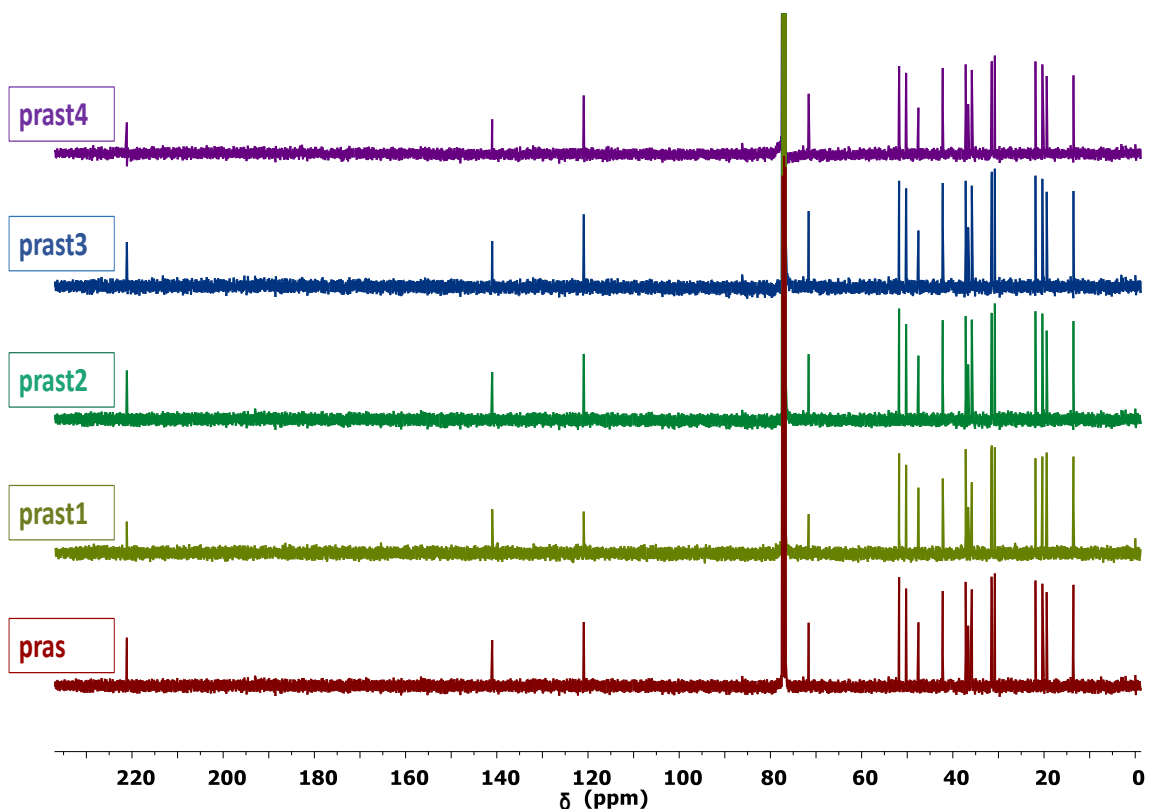


Figura 60. RMN de ^{13}C de las muestras obtenidas de la prasterona.

En el espectro de IR para la molécula de prasterona aparece una banda ancha desde 3400 a 3600 cm^{-1} característica del grupo hidroxilo (C-3), señales que van desde 2862 hasta 2947 cm^{-1} los cuales se refieren a la tensión de los enlaces (C-H) en la molécula. En 1726 cm^{-1} se encuentra el enlace del carbonilo (C=O); mientras que en 1641 cm^{-1} se encuentran las bandas generadas por dobles enlaces (C=C) perteneciente al C-5 y C-6. En 1060 cm^{-1} se encuentra la tensión del enlace (C-O) del C-3 y en 1029 cm^{-1} se encuentra el enlace fuera del plano formado por dobles enlaces presentes (=C-H) para todas las muestras analizadas.

En los espectros de infrarrojo para las muestras cristalizadas mostrados a continuación, se logra apreciar diferencias notables entre el grupo pras, prast1 y prast2 del grupo prast3 y prast4, observando dichas diferencias en las regiones de $3600\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ y de $850\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ (Figura 60).

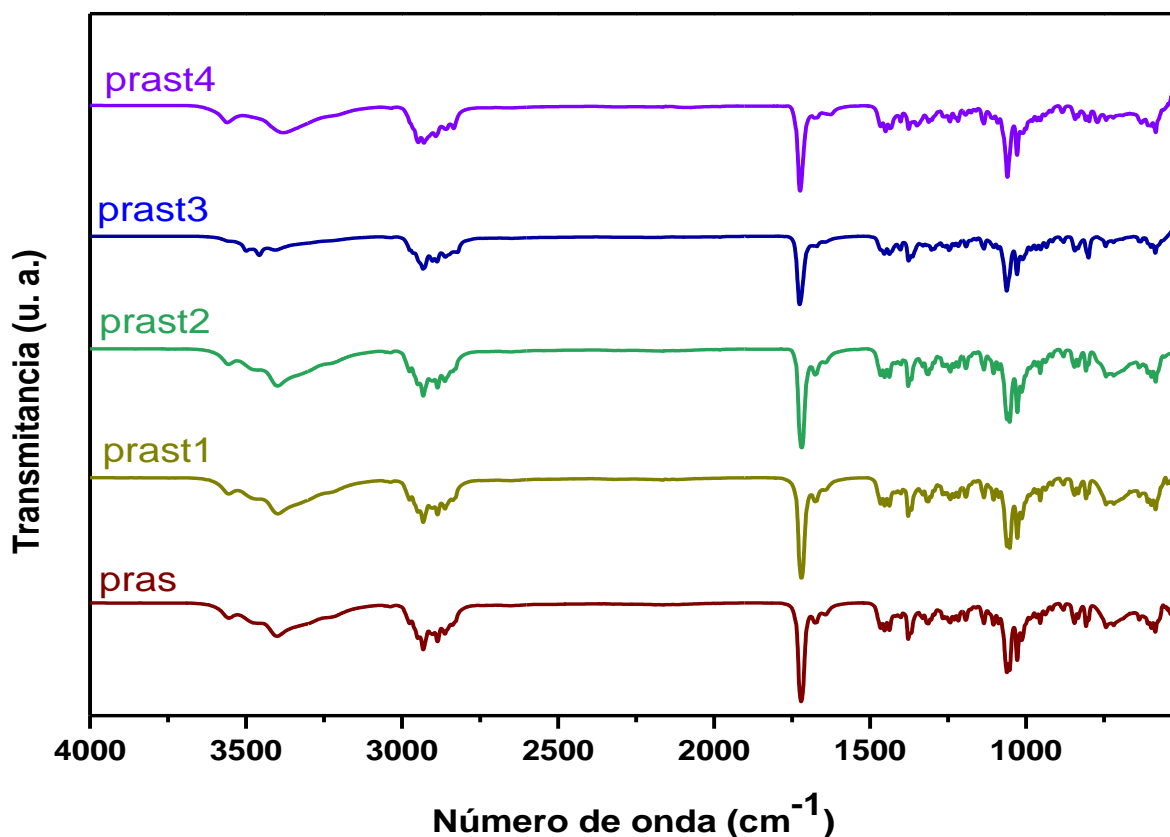


Figura 61. Espectros de IR de las muestras de la prasterona.

En la ampliación de los espectros en las regiones de 3200 a 3600 cm^{-1} y en la de 600 a 850 cm^{-1} , se logró observar que las muestras que presentaban mayores cambios en las bandas fueron prast3 y prast4. La muestra prast3 mostró en la banda del hidroxilo, dos picos uno en 3499 cm^{-1} y otro en 3459 cm^{-1} ; indicando posiblemente algún tipo de interacción o cambio y/o diferencias en la cantidad de moléculas que contribuyen a ese modo vibracional. En la región de 550 a 850 cm^{-1} conocida como la huella dactilar en RTA-IR fue donde se presentó una mayor variación ya que, las bandas pertenecientes a las muestras prast3 y prast4 no concordaban ni en intensidad, ni en frecuencias y tampoco en el número de bandas presentes (Figura 62). Esto nos lleva a suponer que las diferencias observadas son debidas tanto a la morfología de los sólidos obtenidos como a la presencia de contaminantes. En el caso de prast4 mostró un carácter amorfo ya que el aspecto de la muestra es un sólido opaco de color blanco en forma de agujas o hilos y en cambio, prast3 es un sólido cristalino con caras definidas (Figura 29). Además, por

RMN sabemos que mientras prast4 contiene impurezas acarreadas de la muestra pras y por el contrario, prast3 no presentó señales de disolventes o al menos que fueran apreciables en el equipo. No dejando de mencionar a las muestras prast1 y prast2, los cuales mostraron espectros de RTA-IR muy similares, debido de igual manera a que las muestras morfológicamente son muy parecidas y en RMN presentaron las mismas señales de disolvente aunque en diferentes proporciones.

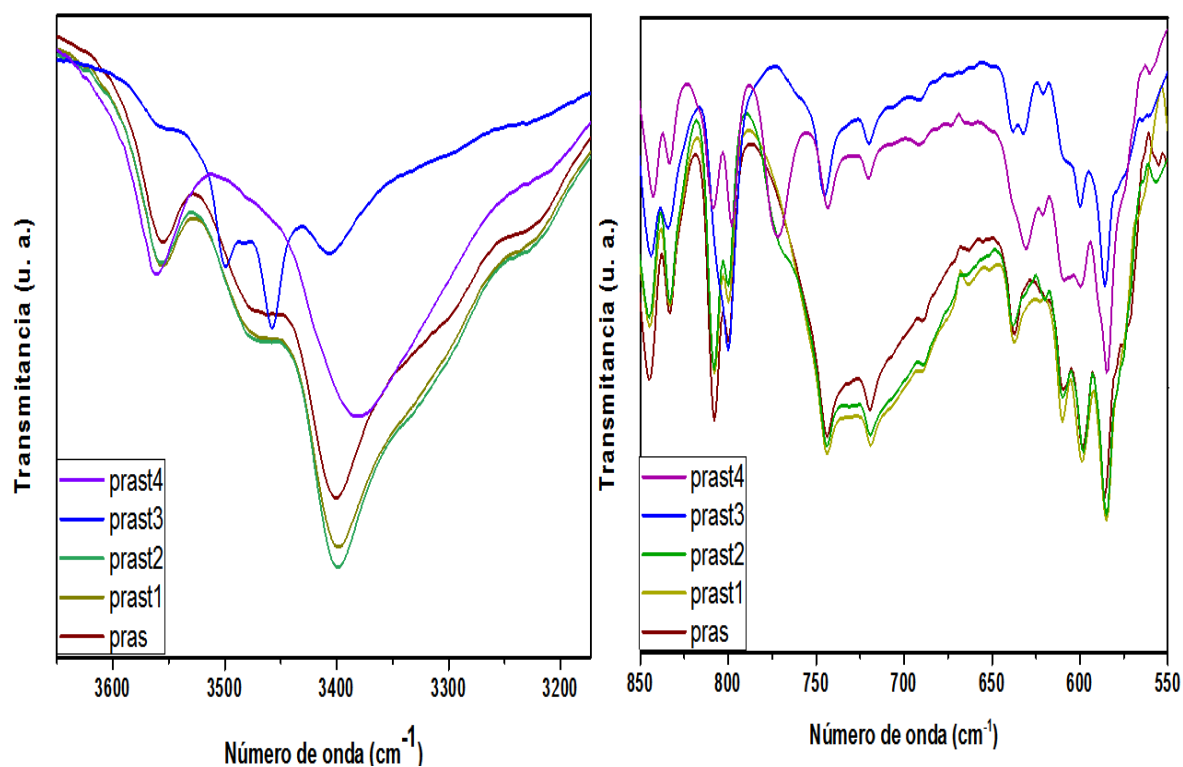


Figura 62. Ampliación de los espectros de IR de las muestras de prasterona.

Los difractogramas mostrados a continuación son de las muestras de prasterona, los cuales se observa que las muestras prast1, prast2 y prast4 presentan difractogramas similares a la muestra pras. Mientras que la muestra prast3 presenta picos muy intensos a 8.2° y 40° (2θ) que no se observan en los demás difractogramas (Figura 63).

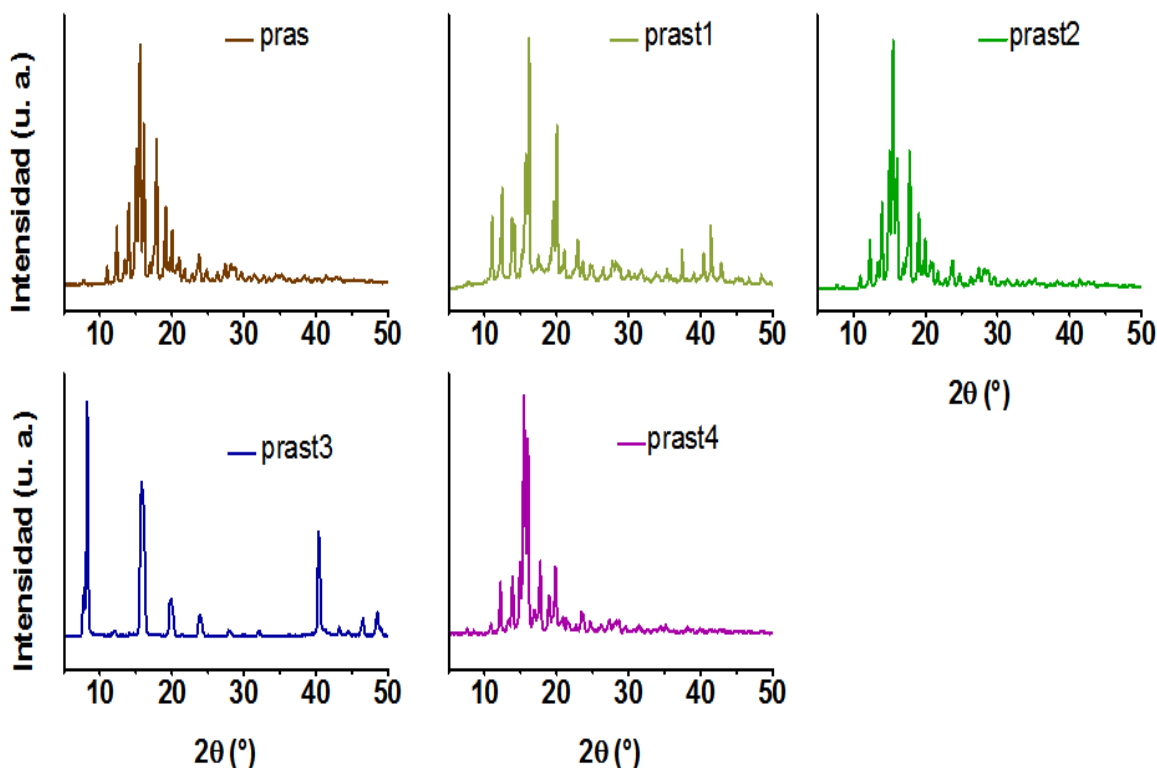


Figura 63. Difractogramas de rayos X de polvos de las muestras de la prasterona.

Existen al menos siete transiciones polimórficas de la prasterona, basado en diferentes propiedades, distinto grado de solvatación y distintos puntos de fusión. Sin embargo, sólo se encontraron en la bibliografía tres formas cristalinas descritas por difracción.⁴⁰ Por lo anterior, se procedió a realizar la comparación de los difractogramas de las muestras cristalizadas con los difractogramas de las tres formas polimórficas de la prasterona. Mediante la comparación de los picos característicos de lo descrito y los difractogramas obtenidos se determinó que las muestras prast1, prast2 y prast4 presentan mezcla de las formas I y II de la prasterona con otras reflexiones que no concuerdan con ninguna de las estructuras referidas (Figura 64). Por otro lado, la muestra prast3 corresponde en todas las reflexiones con la forma I y además también posee pequeñas reflexiones que no corresponden a ninguno de los polimorfos encontrados (por ejemplo en 5° (2θ) (Figura 65).

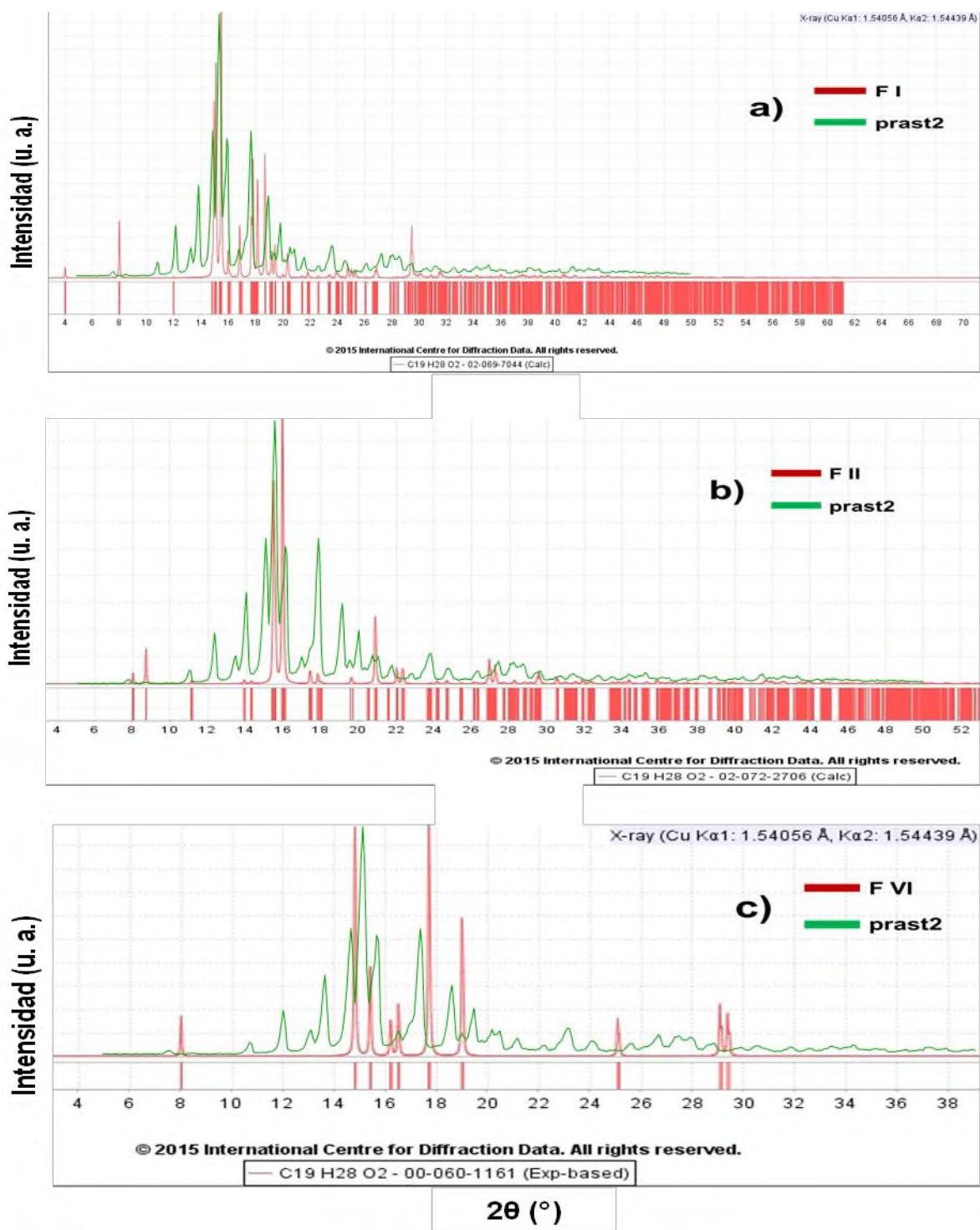


Figura 64. Comparación de la muestra prast2 con los polimorfos I (a), II (b) y VI (c) de la prasterona.⁴⁰

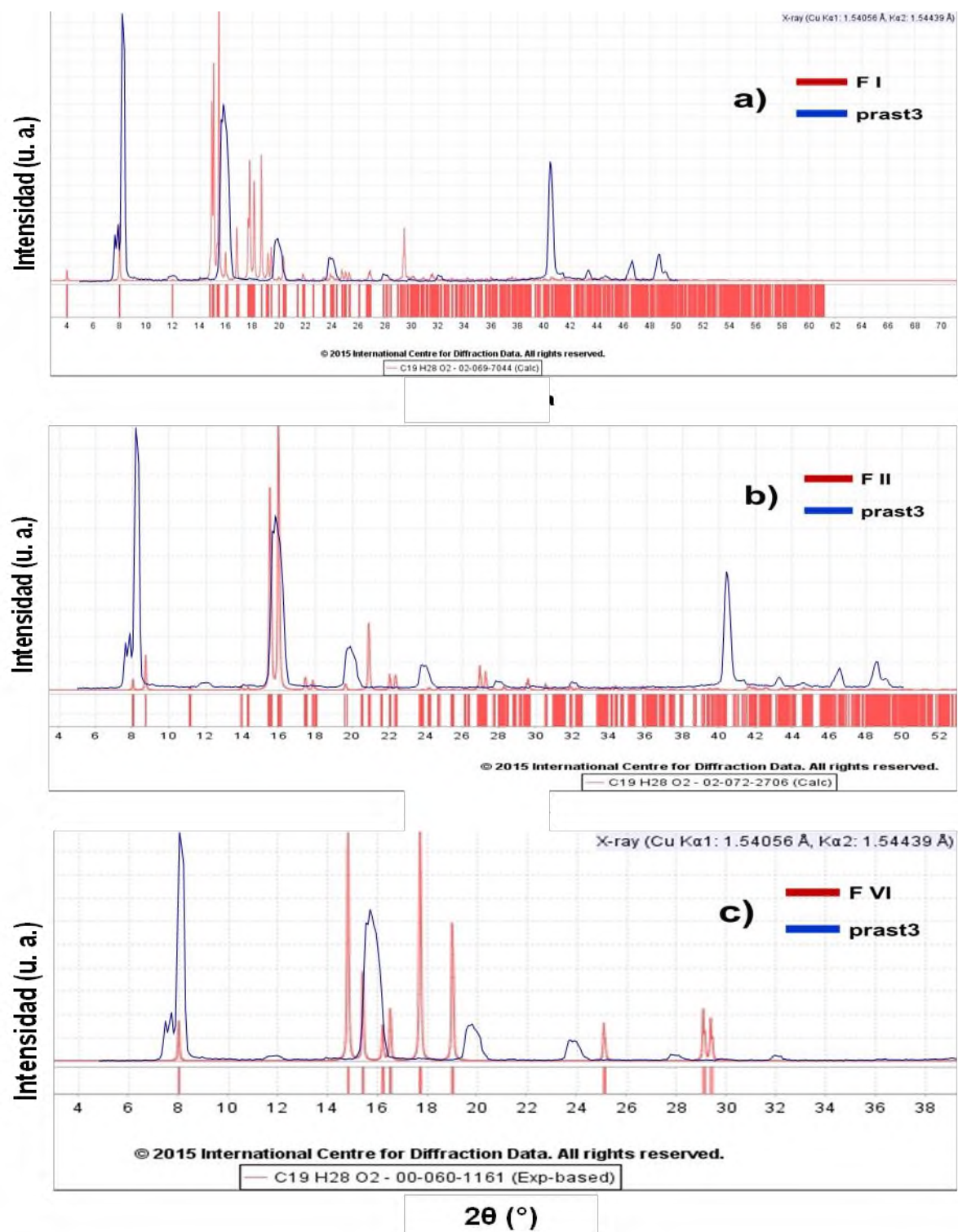


Figura 65. Comparación de la muestra prast3 con los polimorfos I (a), II (b) y VI (c) de la prasterona.⁴⁰

Para que una identificación por difracción de rayos X de polvos sea 100% confiable, como ya se mencionó en los casos anteriores, todas las reflexiones de la muestra deben coincidir con todas las reflexiones del difractograma descrito. Sin embargo, para el caso de la prasterona tanto en la muestra obtenida de la industria como de las cristalizaciones no pasa esto. En RMN se identificaron las señales correspondientes a diclorometano y acetona en las muestras pras, prast1, prast2 y prast4 con desplazamientos en 5.27 ppm y otra en 2.14 ppm, prast3 mostró una señal pequeña de acetona en 2.14 ppm y además una posible contaminación con agua residual de la muestra original (Figura 59). Por espectroscopia infrarroja se identificaron que las muestras prast3 y prast4 tenían bandas distintas a las muestras pras, prast1 y prast2 (Figura 62). Culminando el análisis con difracción de rayos X, que mostró que tanto el aspecto de la muestra obtenida por cristalización, así como el grado de disolvente presente puede afectar la estructura cristalina de un compuesto. Por lo anterior, se puede establecer que al tener residuos de disolvente en la molécula de prasterona y en las muestras cristalizadas prast1, prast2 y prast4 esto influyó en los difractogramas. Por otro lado, al comparar los puntos de fusión con los ya conocidos para las estructuras cristalinas de la prasterona, en las muestras prast1 y prast4 el valor en el punto de fusión coincide con la forma I mayormente. La muestra prast2 con punto de fusión de 145.3 °C; aunque no corresponde a los valores ya conocidos, la variación puede deberse a los contaminantes presentes. La muestra prast3, con punto de fusión de 146.3 °C parece coincidir a la forma V; pero ya que el difractograma de esta forma no se conoce, entonces no se puede determinar con exactitud. Por tanto, en base a los picos presentados en los difractogramas y a las comparaciones con las formas polimórficas descritas; las muestras prast1, prast2 y prast4 parecen tener tanto picos de la forma I como de la forma II más otras reflexiones. La muestra prast3 siendo la única muestra en presentarse como un cristal regular y definido; mostrando claras diferencias en IR y un patrón de difracción distinto a las anteriores, se determinó que las reflexiones de prast3 corresponden a la forma I más otras reflexiones que pueden deberse a la presencia de una estructura cristalina diferente asociada posiblemente a una menor cantidad de disolvente (acetona).

10.- CONCLUSIONES

1. Se lograron realizar diversas metodologías de cristalización encontradas en la bibliografía, obteniendo que con la metodología por mezcla de disolvente con calentamiento se obtuvieron las muestras más cristalinas. Esto es debido a que al enfriar una disolución ésta se sobresatura formando núcleos de cristalización mucho más homogéneos. Además, al calentar y filtrar en caliente se asegura que las impurezas insolubles se eliminen por completo.
2. Se logran establecer métodos de cristalización que no han sido reportados para la obtención de la forma I de la progesterona: n-hexano/acetona, ciclohexano/etanol con calentamiento a evaporación lenta, CADIEL utilizando como disolvente acetona y el método de DISCAEL utilizando como disolvente al diclorometano. Así también, se determinó una posible ruta de obtención de la forma II en mezcla con la forma I, utilizando el método de MDISCAEL y empleando como disolventes n-hexano/diclorometano. A pesar de que no se logra obtener la forma II de la progesterona, dado que es una forma metaestable y a la poca información de los métodos de obtención, resulta de gran valor el haber obtenido la mezcla de los dos polimorfos. Cabe señalar que la metodología CAMDIER nombrada como pgt7 no formo ningún cristal ni precipitado, es decir, que en el caso de la progesterona la cristalización por evaporación lenta resultó primordial para un buen crecimiento cristalino sin la presencia de contaminantes.
3. En el caso de a hidroxiprogesterona los cambios observados en RTA-IR y DRX al igual que las señales de contaminantes determinadas por RMN llevan a pensar que, a pesar de que no existen datos de otra forma cristalina para la molécula, las metodologías empleadas en este escrito permitieron la obtención de una nueva forma cristalina. Las muestras hidpt9 (n-hexano/acetonitrilo, CAMDIER y hidpt14 (acetona, CADIEL) mostraron en DRX reflexiones distintas a las reportadas.

-
-
4. Las cristalizaciones empleadas para la 16-dehidroprogesterona arrojaron cambios tanto en la forma del sólido obtenido como en los análisis por RMN y RTA-IR. Sin embargo, a pesar de haber presentado diferencias en RTA-IR y contaminación de las muestras d16pt6, d16pt7, d16pt9, d16pt10 y d16pt13; en ninguna de ellas se presentó diferencias por DRX. Debido a esto, la molécula de 16-dehidroprogesterona solo presenta una estructura cristalina.

 5. Se lograron métodos de cristalización para la obtención de formas cristalinas de la prasterona. Las muestras prast1, prast2 y prast4 presentaron reflexiones asociadas al polimorfo I y II. Mientras que, prast3 presento reflexiones asociadas al polimorfo I más otras reflexiones asociadas posiblemente a otra estructura cristalina. Sin embargo, ya que no se contó con los difractogramas de las formas III, IV, V, S1, S2, S3 y S4; cabe la posibilidad que se trate de alguno de ellos o estructuras asociadas a la presencia de disolventes en la red cristalina. En específico para las muestras de prasterona, la presencia de trazas de disolventes fue suficiente para modificar la estructura cristalina, determinando así la versatilidad de transformación de la molécula de prasterona.

 6. En general, los compuestos empleados en este trabajo sufren en gran medida de algún tipo de transformación polimórfica o el también llamado fenómeno de pseudopolimorfismo

11.- PERSPECTIVAS

1. Realizar un análisis de las muestras por la técnica de DSC/TGA con la finalidad de observar las transiciones de fases polimórficas que pudieran presentar las muestras, teniendo así la temperatura exacta de transición para cada una de ellas.
2. Estudio de DRX de monocristal determinando así los parámetros de celda de cada uno de los cristales obtenidos y así poder despejar dudas acerca de las mediciones, ya que en dicha técnica basta con solo micras de la muestra para obtener un análisis detallado de su estructura.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Plascencia, G. M. La industria farmacéutica en México. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **2009**, 3: 30-31.
2. Urbán, M. G.; Aceves, P. P. Leopoldo Río de la Loza en la institucionalización de la química mexicana. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **2001**, 45: 35-39.
3. Miramontes, L. E. La industria de esteroides en México y un descubrimiento que cambiaría el mundo. *Rev. Soc. Quím. Méx.* **2002**, 5: 20-24.
4. An international historic chemical landmark. The "Marker Degradation" and creation of the mexican steroid hormone industry 1938-1945. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 43: 1-4.
5. León, O. F. El origen de Syntex, una enseñanza histórica en la ciencia mexicana. Facultad de química, Universidad Nacional Autónoma de México. **2000**.
6. Pérez, C. P. Síntesis de ácidos carboxílicos como precursores de compuestos azaesteroidales. Tesis de licenciatura. Facultad de ciencias químicas, Universidad Veracruzana. **2011**.
7. Moss, G. P. Nomenclature of steroids. *Pure & Appl. Chem.* **1989**, 61: 1783-1822.
8. González, A. F. Nomenclatura de química orgánica. Facultad de química, Instituto Politécnico Nacional. **1991**.
9. Dewick, M. P. Medicinal natural products a biosynthetic approach. 2nd. Edition, *John Wiley & Sons, Ltd.* **2002**.
10. Serra, H. A.; Roganovich, J. M.; Rizzo, L. F. Glucocorticoides: paradigma de medicina traslacional de lo molecular al uso clínico. *Rev. Med.* **2012**, 72: 158-170.
11. Villalobos, C. G. Glucocorticoides. Facultad de farmacia, Universidad de Costa Rica. **2003**.
12. Velázquez, D. J. Biosíntesis de la aldosterona y sus efectos en ventrículo izquierdo en los individuos con insuficiencia renal crónica. *J. Clin. Endocrinol. & Metab.* **2010**, 3: 46-47.

-
-
13. Bagatell, C. J. Androgens in men. Uses and abuses. *N. Engl. J. Med.* **1996**, *334*: 707-713.
 14. Ibáñez, T. L.; Potau, V. N. Ovario: estrógenos, gestágenos, andrógenos, globulina fijadora de hormonas sexuales, inhibinas y cariotipo. *Endocrinol. Nutri.* **2007**, *54*: 174-81.
 15. Amado, J. A.; Flórez, J. Hormonas sexuales: estrógenos, gestágenos, andrógenos y anticonceptivos hormonales. *Farm. hum.* **2000**, *50*: 867-890.
 16. Osorio, E. Rol de los progestágenos y su clasificación. *Bol. Soc. Chile. Climat.* **2004**, *9*: 29-34.
 17. McMurry, J. Química orgánica. 7th. Edition, *Cengage Learning Edit.* **2008**.
 18. Prohens, R.; Puigjaner, C. Polimorfismo en la industria farmacéutica. *Polymorphs A and B. Cryst. Growth Des.* **2007**, *373*: 58-68.
 19. Sánchez, G. E.; Jung, C. H.; Yépez, M. L.; Hernández, A. V. Relevancia del polimorfismo en el área farmacéutica. *Rev. Mex. Cien. Farm.* **2007**, *38*: 57-77.
 20. Vasileiadis, M.; Pantelides, C. C.; Adjiman, S. C. Prediction of the crystal structures of axitinib, a polymorphic pharmaceutical molecule. *Eng. Chem Sci.* **2015**, *121*: 60-76.
 21. Martín, I. A.; Molina, M. E. Polimorfismo farmacéutico. Repercusiones industriales y farmacocinéticas. *J. Pharm. Biopharm.* **2006**, *25*: 94-100.
 22. Schneegans, S. La cristalografía sí importa. International union of crystallography & united nations educational, scientific and cultural organization. **2014**.
 23. Qiu, J.; Li, G.; Sheng, Y.; Zhu, M. Quantification of febuxostat polymorphs using powder X-ray diffraction technique. *J. Pharm. & Biomed. Anal.* **2015**, *107*: 298-303.
 24. Domínguez, G. H.; Martín, S. A. Avances en tecnología farmacéutica. *Comprehen. Med. Chem.* **1990**, *4*: 241-94.
 25. Bernstein, J. Polymorphism in drug design and delivery. *Prog. Clin. Biol. Res.* **1989**, *289*: 203-15.

-
-
26. Pisegna, L. G.; Gilson, D. F.; Butler, S. I. High-pressure infrared and Raman studies of polymorphism in pharmaceutical compounds: spironolactone, forms I and II. *J. Mol. Struct.* **2014**, *108*: 146-150.
27. Orizaba, C. B.; Alba, J. G.; Ocharán, H. M. Farmacocinética de la progesterone. *Rev. Hosp. Jua. Mex.* **2013**, *80*: 59-66.
28. Brandstätter-Kuhnert, M.; Kofler, A. Polymorphs of progesterone: forms I and II. *Oesterr. Apoth.-Ztg.* **1959**, 297-300.
29. Tripathi, R.; Biradar, V.; Mishra, B.; Paradkar, A. Study of polymorphs of progesterone by novel melt sonocrystallization technique. *Pharm. Sci. Tech.* **2010**, *11*: 1493-1498.
30. Muramatsu, M.; Iwahashi, M.; Takeuchi, U. Thermodynamic relationship between α - and β -forms of crystalline progesterone. *J. Pharma. Sci.* **1979**, *68*: 175-177.
31. Wang, F.; Wachter, A. J.; Antosz, J. F.; Berglund, A. K. An investigation of solvent-mediated polymorphic transformation of progesterone using in situ Raman spectroscopy. *Org. Proc. Res. & Dev.* **2000**, *4*: 391-395.
32. Araya, S. A. Estudio físico-químico dos polimorfos da progesterona e estabilização da forma metaestável sobre matrizes poliméricas. Tesis de maestría. Centro de ciencias farmacéuticas, Universidad federal de Santa Catarina. **2012**.
33. Payne, R. S.; Roberts, R. J.; Rowe, R. C.; Docherty, R. Examples of successful crystal structure prediction: polymorphs of primidone and progesterone. *Int. J. Pharma.* **1999**, *177*: 231-245.
34. Lancaster, W. R.; Karamertzanis, G. P.; Hulme, T. A.; Tocher, A. D.; Lewis, C. T.; Price, L. S. The polymorphism of progesterone: stabilization of a 'disappearing' polymorph by co-crystallization. *J. Pharm. Sci.* **2007**, *96*: 3419-3431.
35. Cassorla, F. 17α -Hidroxiprogesterona en el diagnóstico y tratamiento del síndrome adrenogenital. *Dev. Endocrinol.* **1980**, *35*: 295-304.
36. Volovel'skii, L.; Skachek, I.; Selichenko, A.; Kuz'menko, I. Síntesis y estudio de las hidrazonas a partir de la 17α -hidroxiprogesterona y 17α -

-
-
- hidroxipregnen-4,6-dien-3,20-diona y sus derivados 17α -acetilados. *Res. Inst. of Endocrinol. & Horm. Chem.* **1980**, 4: 501-509.
37. DellaGreca, M.; Monaco, P.; Previtiera, L. Solid-state photodimerization of 16-dehydroprogesterone. *J. Org. Chem.* **1999**, 64: 8976-8978.
38. López, M. A.; Boullosa, O.; Illa, G.; Vieitez, A.; Willis, P.; Márquez, C. Dehidroepiandrosterona: aspectos psiconeuroinmunoendocrinológicos. *Psiquiatr. Neoclas.* **1992**, 5: 47-70.
39. Kuhnert-Brandstätter, M. Thermomicroscopy in the analysis of pharmaceuticals. 1st. Edition, *Oxford Pergamon Press.* **1971**.
40. Stahly, P.; Bates, S.; Andres, M.; Cowans, B. Discovery of a new polymorph of dehydroepiandrosterone (prasterone) and solution of its crystal structure from X-ray powder diffraction data. *Cryst. Growth Des.* **2006**, 6: 925-932.
41. Chang, R. Química orgánica. 10ed. Edition, *The McGraw-Hill Companies, Inc.* **2010**.
42. Carey, A. F. Química orgánica. 6th. Edition, *The McGraw-Hill Companies, Inc.* **1987**.
43. Atkins, P. W. Química-física. 6th. Edition, *Oxford University Press.* **1999**.
44. Calvo, I. N.; Kaufman, S. T.; Maggio, M. R. PCA-based chemometrics-assisted ATR-FTIR approach for the classification of polymorphs of cimetidine: application to physical mixtures and tablets. *J. Pharm. & Biomed Anal.* **2015**, 7: 419-425.
45. Stuart, B. Infrared spectroscopy: fundamentals and applications. 3rd. Edition, *John Wiley & Sons, Ltd.* **2004**.
46. Pavia, L. D.; Lampman, G.; Kriz, S. G. Introduction to spectroscopy: a guide for students of organic chemistry. 3rd. Edition, *Thompson Learning, Inc.* **2001**.
47. Lima, M. E. Materiales avanzados: La cristalografía en nuestra vida cotidiana. Instituto de investigaciones en materiales, Universidad Autónoma de México. **2015**.
48. Sánchez, B.; Hernández, J. A. Ordenamiento atómico de los sólidos. Facultad de Ciencias e Ingeniería de los Materiales, Universidad Autónoma de México. **2013**.

-
-
49. Martínez, G. A. Efecto de la molienda mecánica en compuestos base Mg con impurificaciones de MnO₂ y B como posibles materiales almacenadores de hidrógeno. Tesis de maestría, Universidad del Papaloapan, **2014**.
50. Carter, W. C.; Sweet, M. R. Methods in enzymology. *Mol. Cryst.* **1997**, 276: 4-38.
51. Woolfson, M. M. An introduction to X-ray crystallography. 2nd. Edition, *Cambridge University Press*. **1997**.
52. Giacovazzo, C.; Monaco, H. L.; Viterbo, D.; Scordari, F.; Gilli, G.; Zanotti, G.; Catti, M. Fundamentals of crystallography. 1st. Edition, *Oxford University Press*. **1992**.

13. ANEXOS

13.1 Anexo A

13.1.1 Conceptos básicos de Cristalografía

Los cristales son compuestos sólidos cuyos elementos constitutivos (átomos, iones o moléculas) se repiten de manera ordenada y paralela, con distancias específicas formando una red cristalina que se pueden encontrar en todas o casi todas las partes de la naturaleza. Se puede observar cómo es que están presentes en la vida diaria, como por ejemplo, las formaciones rocosas (piedras preciosas, grafito, etc.), pero también se pueden encontrar de las formas más sencillas, siendo ejemplos característicos los copos de nieve, hielo y los granos de sal.⁴⁹

El ser humano al observar las formas o arreglos cristalinos, se dio cuenta que no era suficiente solo con ver su exterior sino que debía conocer más sobre el interior de los materiales y así, a principios de siglo XX, se descubrió que los rayos X podían ser utilizados para analizar y/o “ver” la estructura de la materia de una manera no destructiva, marcando el comienzo de la cristalografía moderna.

La cristalografía es la ciencia que se ocupa del estudio de los arreglos cristalinos, de las leyes que rigen su formación, así como de sus propiedades geométricas. Siendo una de las partes más importantes de este ramo, la simetría, tanto la que se encuentra a nivel atómico (simetría espacial) como la que aparece a nivel macroscópico en la morfología de los cristales (simetría puntual), así también las propiedades químicas, físicas y la resolución de las estructuras cristalinas.⁴⁸ La cristalografía suele dividirse en diferentes áreas dependiendo lo que se desea analizar en el material; siendo las siguientes clasificaciones:

- Cristalografía geométrica.
- Cristalografía química o cristalografía química.
- Cristalografía física o cristalografía física.

Cada una de estas ramas de la cristalografía nos ayuda a entender el comportamiento cristalino y como para cada material o compuesto este cambia en ocasiones de forma inesperada.⁵⁰

13.1.1.1 Celda unidad

La celda unitaria es una porción del espacio cristalino en la red, es la forma fundamental del cristal y para determinar la estructura y formas de enlaces o interacciones entre los átomos es indispensable su estudio (Figura 66).

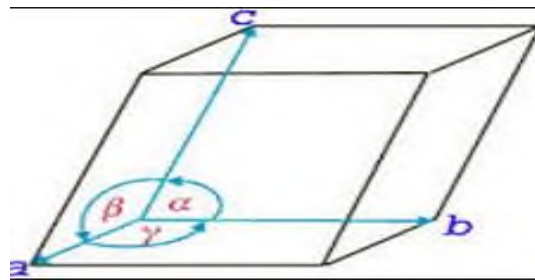


Figura 66. Representación de una celda unidad donde se muestran traslaciones (x, y, z) y ángulos (α , β , γ).

En una red cristalina existen siempre tres traslaciones no coplanarias que tienen las dimensiones mínimas en todas las traslaciones posibles en la red, que denominamos ejes reticulares. Cada uno de estos pasara a formar parte de un cristal, las caras de dicho cristal o celda unidad se agrupan según conjuntos equivalentes por simetría; y estos se denominan comúnmente formas cristalinas y se simbolizan por {hkl}.

13.1.1.2 Parámetros de red

Bravais demostró que solo son posibles 14 redes de traslación tridimensionales y homogéneas, compatibles con las características de simetría de cada sistema cristalino, o sea, que solo hay 14 posibilidades diferentes de asociar átomos, iones o moléculas para formar un cristal denominadas redes de Bravais (Figura 67).

Los parámetros de la red que describen el tamaño y la forma de la celda unitaria, incluyen las dimensiones de los costados de la celda y los ángulos entre sus

costados al igual que el número de átomos por celda que estará definida por un número específico de puntos de red.⁵¹

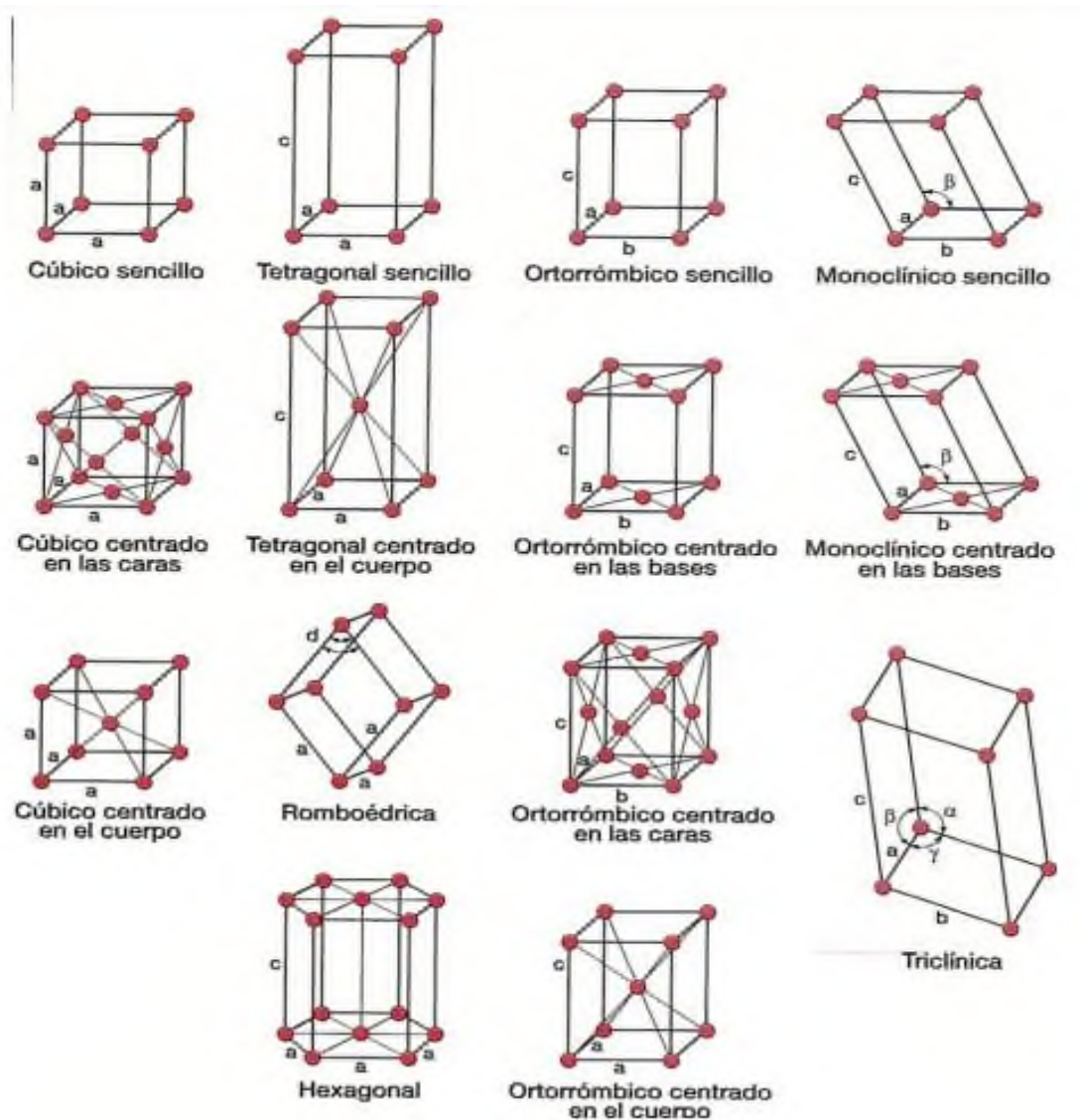


Figura 67. Redes de Bravais.

Las catorce redes de Bravais se agrupan en 7 sistemas cristalinos que dan las características principales a cada uno de estos siete sistemas y con ello se puede determinar que arreglo cristalino es cada material al analizar cómo están sus átomos distribuidos (Tabla 10). Sin embargo el arreglo de estos átomos no siempre es ordenada, existen casos en donde en el proceso de obtención de un sólido suele presentarse desorden de los átomos; llamando a este sólido amorfo.

Tabla 10. Características de los sistemas cristalinos dependiendo sus dimensiones y ángulos.

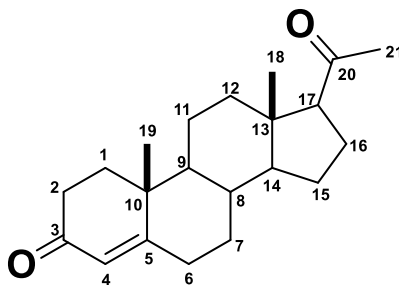
Estructura	Ejes	Ángulos entre ejes
Cúbica	$a = b = c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Tetragonal	$a = b \neq c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Ortorrómbica	$a \neq b \neq c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Hexagonal	$a = b \neq c$	$\alpha = \beta = 90^\circ, \gamma = 120^\circ$
Romboédrica	$a = b = c$	$\alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ$
Monoclínica	$a \neq b \neq c$	$\alpha = \gamma = 90^\circ, \beta \neq 90^\circ$
Triclínica	$a \neq b \neq c$	$\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$

13.1.1.3 Índices de Miller

Los puntos de la red que muestran la simetría traslacional de una estructura pueden ser conectados mediante los planos de red. Cada plano pertenece a un conjunto de planos equiespaciados que contienen todos los puntos de la red. Estos planos se nombran usando exactamente los índices de Miller. Estos se designan como h, k y l escribiéndose dentro de paréntesis o en su defecto llaves, siendo enteros (positivos, negativos o cero). Lo que nos sirve para identificar o determinar los planos específicos en la estructura del cristal calculando las intersecciones (H, K, L) con los ejes fundamentales de la celda; posteriormente se invierten y se multiplica por el menor número que los convierta en enteros o también se puede hacer intersectando los ejes, invirtiendo y reduciendo fracciones quitando denominadores. Logrando así tener los índices de Miller o los planos en la celda unidad.⁵⁰ Todos estos datos, al hablar de una estructura polimórfica cambian con respecto a la molécula principal, los arreglos cristalinos (su estructura interna) se modifica dependiendo a los factores como temperatura, pH, solubilidad, disolvente empleado, etc.⁵²

13.2 Anexo B: datos espectroscópicos de la progesterona

Los datos espectroscópicos tanto del Geslutin[®] como de la progesterona se muestran a continuación: nombrando con letra E al vehículo empleado y con letra I a las impurezas presentes.



PROGESTERONA EN GESLUTIN[®]

IR (cm⁻¹): 2931 (C-H), 2854 (C-H), 1699 (C=O, C-20), 1664 (C=O, C-3), 1614 (C=C), 1357 (=C-H), 871 (C-H).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 5.74 (1H, s, H-4), 5.37 (1H, m, E), 4.22 (2H, ddd, E), 2.12 (3H, s, CH₃-21), 1.19 (3H, s, CH₃-19), 0.67 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 209.20 (C-20), 199.36 (C-3), 173.18 (COOH-E), 172.77 (COOH-E), 170.86 (C-5), 130.17-127.85 (E), 123.89 (C-4), 63.47 (C-17), 55.99 (C-14), 53.63 (C-9), 43.88 (C-13), 38.64 (C-10), 38.54 (C-12), 35.69 (C-8), 35.52 (C-1), 33.91 (C-2), 32.74 (C-6), 31.87 (C-7), 31.44 (C-15), 29.60-29.04 (E), 27.16 (E), 25.39 (E), 24.80 (E), 24.33 (C-21), 22.81 (C-16), 22.64 (E), 22.53 (E), 20.99 (C-11), 17.34 (C-19), 14.07 (E), 14.03 (E), 13.29 (C-18).

PGT1

p.f = 129.5 °C

Rendimiento: 82.5%

IR (cm⁻¹): 2924 (C-H), 2850 (C-H), 1698 (C=O; C-20), 1660 (C=O; C-3), 1615 (C=C), 1356 (=C-H), 870 (C-H).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 5.74 (1H, s, H-4), 2.13 (3H, s, CH₃-21), 1.19 (3H, s, CH₃-19), 0.67 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 209.25 (C-20), 199.41 (C-3), 170.88 (C-5), 123.93 (C-4), 63.50 (C-17), 56.02 (C-14), 53.64 (C-9), 43.91 (C-13), 38.66 (C-12), 38.56 (C-10), 35.72 (C-1), 35.55 (C-8), 33.94 (C-2), 32.77 (C-6), 31.89 (C-7), 31.48 (C-21), 24.35 (C-15), 22.83 (C-16), 21.01 (C-11), 17.36 (C-19), 13.32 (C-18).

PGT2

p.f = 130-130.2 °C

Rendimiento: 21.28%

IR (cm⁻¹): 2945 (C-H), 2851 (C-H), 1698 (C=O, C-20), 1660 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1356 (=C-H), 871 (C-H).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 5.71 (1H, s, H-4), 2.10 (3H, s, CH₃-21), 1.16 (3H, s, CH₃-19), 0.64 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 209.20 (C-20), 199.36 (C-3), 170.84 (C-5), 123.94 (C-4), 63.51 (C-17), 56.04 (C-14), 53.66 (C-9), 43.92 (C-13), 38.68 (C-12), 38.57 (C-10), 35.74 (C-1), 35.57 (C-8), 33.95 (C-2), 32.77 (C-6), 31.90 (C-7), 31.47 (C-21), 24.36 (C-15), 22.86 (C-16), 21.03 (C-11), 17.38 (C-19), 13.33 (C-18).

PGT3

p.f = 130.5-131.2 °C

Rendimiento: 45.3%

IR (cm⁻¹): 2925 (C-H), 2851 (C-H), 1698 (C=O, C-20), 1661 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1356 (=C-H), 871 (C-H).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 5.71 (1H, s, H-4), 2.10 (3H, s, CH₃-21), 1.16 (3H, s, CH₃-19), 0.65 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 209.25 (C-20), 199.40 (C-3), 170.88 (C-5), 123.93 (C-4), 63.50 (C-17), 56.02 (C-14), 53.64 (C-9), 43.91 (C-13), 38.66 (C-12), 38.56 (C-10), 35.72 (C-1), 35.55 (C-8), 33.94 (C-2), 32.77 (C-6), 31.89 (C-7), 31.48 (C-21), 24.35 (C-15), 22.83 (C-16), 21.01 (C-11), 17.36 (C-19), 13.32 (C-18).

PGT4

p.f = 130.2-130.6 °C

Rendimiento: 2.14%

IR (cm⁻¹): 2924 (C-H), 2850 (C-H), 1698 (C=O, C-20), 1660 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1356 (=C-H), 864 (C-H).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes.

δ (ppm): 5.71 (1H, s, H-4), 2.10 (3H, s, CH₃-21), 1.16 (3H, s, CH₃-19), 0.65 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 209.25 (C-20), 199.41 (C-3), 170.88 (C-5), 123.93 (C-4), 63.50 (C-17), 56.02 (C-14), 53.64 (C-9), 43.91 (C-13), 38.66 (C-12), 38.56 (C-10), 35.72 (C-1),

35.55 (C-8), 33.94 (C-2), 32.77 (C-6), 31.89 (C-7), 31.48 (C-21), 24.35 (C-15), 22.83 (C-16), 21.01 (C-11), 17.36 (C-19), 13.32 (C-18).

PGT5

p.f = 128.9-129.6 °C

Rendimiento: 62.51%

IR (cm⁻¹): 2925 (C-H), 2851 (C-H), 1698 (C=O, C-20), 1661 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1356 (=C-H), 870 (C-H).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes.

δ (ppm): 5.71 (1H, s, H-4), 2.10 (3H, s, CH₃-21), 1.17 (3H, s, CH₃-19), 0.65 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 209.25 (C-20), 199.40 (C-3), 170.89 (C-5), 123.93 (C-4), 63.51 (C-17), 56.03 (C-14), 53.65 (C-9), 43.92 (C-13), 38.67 (C-12), 38.57 (C-10), 35.73 (C-1), 35.56 (C-8), 33.94 (C-2), 32.77 (C-6), 31.90 (C-7), 31.48 (C-21), 24.36 (C-15), 22.85 (C-16), 21.02 (C-11), 17.38 (C-19), 13.33 (C-18).

PGT6

p.f = 129.4-130 °C

Rendimiento: 74.85%

IR (cm⁻¹): 2925 (C-H), 2851 (C-H), 1698 (C=O, C-20), 1660 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1356 (=C-H), 870 (C-H).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

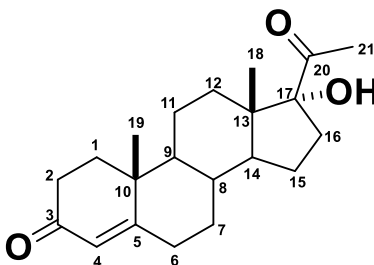
δ (ppm): 5.72 (1H, s, H-4), 2.10 (3H, s, CH₃-21), 1.17 (3H, s, CH₃-19), 0.65 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3)

δ (ppm): 209.20 (C-20), 199.36 (C-3), 170.84 (C-5), 123.94 (C-4), 63.51 (C-17), 56.04 (C-14), 53.66 (C-9), 43.92 (C-13), 38.68 (C-12), 38.57 (C-10), 35.74 (C-1), 35.57 (C-8), 33.95 (C-2), 32.77 (C-6), 31.90 (C-7), 31.47 (C-21), 24.36 (C-15), 22.86 (C-16), 21.03 (C-11), 17.38 (C-19), 13.33 (C-18).

13.3 Anexo C: datos espectroscópicos de la hidroxiprogesterona

Los datos espectroscópicos de la hidroxiprogesterona se muestran a continuación: nombrando como letra I a las impurezas presentes.



HIDP

p.f = 217.3 °C

IR (cm^{-1}): 3414 (O-H), 2944 (C-H), 2860 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1662 (C=O, C-3), 1613 (C=C), 883 (CH_3).

RMN de ^1H (CDCl_3) de la hidroxiprogesterona

Datos de los protones más relevantes:

δ (ppm): 5.68 (1H, s, H-4), 2.97 (1H, s, C-17-OH), 2.22 (3H, s, CH_3 -21), 1.14 (3H, s, CH_3 -19), 0.70 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3) de la hidroxiprogesterona

δ (ppm): 211.54 (C-20), 199.55 (C-3), 171.13 (C-5), 123.82 (C-4), 89.77 (C-17), 53.24 (C-9), 49.92 (C-14), 48.00 (C-13), 38.51 (C-10), 35.62 (C-1), 35.41 (C-8), 33.84 (C-2), 33.40 (C-16), 32.76 (C-6), 31.94 (C-7), 30.03 (C-12), 27.75 (C-21), 23.82 (C-15), 20.45 (C-11), 17.32 (C-19), 15.25 (C-18).

HIDPT1

p.f = 217.9 °C

Rendimiento: 95.77%

IR (cm⁻¹): 3418 (O-H), 2944 (C-H), 2959 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1663 (C=O, C-3), 1612 (C=C), 882 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

δ (ppm): 5.68 (1H, s, H-4), 2.97 (1H, s, C-17-OH), 2.22 (3H, s, CH₃-21), 1.14 (3H, s, CH₃-19), 0.70 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 211.46 (C-20), 199.48 (C-3), 171.07 (C-5), 123.82 (C-4), 89.77 (C-17), 53.25 (C-9), 49.92 (C-14), 47.97 (C-13), 38.50 (C-10), 35.62 (C-1), 35.42 (C-8), 33.83 (C-2), 33.41 (C-16), 32.75 (C-6), 31.94 (C-7), 30.04 (C-12), 27.71 (C-21), 23.81 (C-15), 20.45 (C-11), 17.32 (C-19), 15.28 (C-18).

HIDPT2

p.f = 217.1 °C

Rendimiento: 50.38%

IR (cm⁻¹): 3417 (O-H), 2944 (C-H), 2859 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1663 (C=O, C-3), 1613 (C=C), 882 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

δ (ppm): 5.69 (1H, s, H-4), 2.88 (1H, s, C-17-OH), 2.23 (3H, s, CH₃-21), 1.15 (3H, s, CH₃-19), 0.71 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 211.49 (C-20), 199.48 (C-3), 171.02 (C-5), 123.86 (C-4), 89.77 (C-17), 53.26 (C-9), 49.93 (C-14), 48.05 (C-13), 38.52 (C-10), 35.65 (C-1), 35.44 (C-8), 33.86 (C-2), 33.45 (C-16), 32.77 (C-6), 31.96 (C-7), 30.03 (C-12), 27.77 (C-21), 23.85 (C-15), 20.47 (C-11), 17.35 (C-19), 15.32 (C-18).

HIDPT3

p.f = 219.1 °C

Rendimiento: 49.25%

IR (cm⁻¹): 3418 (O-H), 2943 (C-H), 2859 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1662 (C=O, C-3), 1612 (C=C), 882 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

δ (ppm): 5.70 (1H, s, H-4), 2.83 (1H, s, C-17-OH), 2.24 (3H, s, CH₃-21), 1.16 (3H, s, CH₃-19), 0.73 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 211.50 (C-20), 199.44 (C-3), 170.93 (C-5), 123.91 (C-4), 89.77 (C-17), 53.28 (C-9), 49.94 (C-14), 48.13 (C-13), 38.54 (C-10), 35.68 (C-1), 35.46 (C-8), 33.89 (C-2), 33.50 (C-16), 32.78 (C-6), 31.98 (C-7), 30.03 (C-12), 27.82 (C-21), 23.90 (C-15), 20.48 (C-11), 17.37 (C-19), 15.37 (C-18).

HIDPT4

p.f = 219.8-220 °C

Rendimiento: 56.76%

IR (cm⁻¹): 3417 (O-H), 2944 (C-H), 2859 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1662 (C=O, C-3), 1613 (C=C), 881 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

δ (ppm): 5.70 (1H, s, H-4), 2.80 (1H, s, C-17-OH), 2.24 (3H, s, CH₃-21), 1.16 (3H, s, CH₃-19), 0.73 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 211.52 (C-20), 199.43 (C-3), 170.87 (C-5), 123.96 (C-4), 89.77 (C-17), 53.29 (C-9), 49.95 (C-14), 48.21 (C-13), 38.55 (C-10), 35.70 (C-1), 35.47 (C-8), 33.99 (C-2), 33.54 (C-16), 32.80 (C-6), 31.99 (C-7), 30.02 (C-12), 27.86 (C-21), 23.94 (C-15), 20.49 (C-11), 17.40 (C-19), 15.41 (C-18).

HIDPT5

p.f = 217.5 °C

Rendimiento: 69.26%

IR (cm⁻¹): 3421 (O-H), 2944 (C-H), 2860 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1664 (C=O, C-3), 1613 (C=C), 882 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

δ (ppm): 5.71 (1H, s, H-4), 5.27 (1H, s, l), 2.75 (1H, s, C-17-OH), 2.25 (3H, s, CH₃-21), 1.16 (3H, s, CH₃-19), 0.74 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 211.51 (C-20), 199.47 (C-3), 170.97 (C-5), 123.90 (C-4), 89.77 (C-17), 53.28 (C-9), 49.94 (C-14), 48.12 (C-13), 38.54 (C-10), 35.67 (C-1), 35.45 (C-8), 33.88 (C-2), 33.49 (C-16), 32.78 (C-6), 31.98 (C-7), 30.03 (C-12), 27.82 (C-21), 23.89 (C-15), 20.48 (C-11), 17.37 (C-19), 15.36 (C-1).

HIDPT6

p.f = 216.5 °C

Rendimiento: 70.76%

IR (cm⁻¹): 3417 (O-H), 2944 (C-H), 2860 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1663 (C=O, C-3), 1613 (C=C), 883 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

δ (ppm): 5.70 (1H, s, H-4), 2.84 (1H, s, C-17-OH), 2.24 (3H, s, CH₃-21), 1.69 (1H, s, l), 1.15 (3H, s, CH₃-19), 0.72 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 211.50 (C-20), 199.45 (C-3), 170.96 (C-5), 123.90 (C-4), 89.77 (C-17), 53.28 (C-9), 49.94 (C-14), 48.11 (C-13), 38.54 (C-10), 35.67 (C-1), 35.45 (C-8), 33.88 (C-2), 33.48 (C-16), 32.78 (C-6), 31.97 (C-7), 30.03 (C-12), 27.81 (C-21), 23.89 (C-15), 20.48 (C-11), 17.37 (C-19), 15.36 (C-18).

HIDPT7

p.f = 215-215.2 °C

Rendimiento: 60.08%

IR (cm⁻¹): 3421 (O-H), 2944 (C-H), 2860 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1663 (C=O, C-3), 1613 (C=C), 882 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

δ (ppm): 5.70 (1H, s, H-4), 2.83 (1H, s, C-17-OH), 2.24 (3H, s, CH₃-21), 1.16 (3H, s, CH₃-19), 0.73 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 211.49 (C-20), 199.44 (C-3), 170.94 (C-5), 123.90 (C-4), 89.77 (C-17), 53.28 (C-9), 49.94 (C-14), 48.11 (C-13), 38.53 (C-10), 35.67 (C-1), 35.45 (C-8), 33.88 (C-2), 33.48 (C-16), 32.78 (C-6), 31.97 (C-7), 30.03 (C-12), 27.79 (C-21), 23.88 (C-15), 20.47 (C-11), 17.37 (C-19), 15.36 (C-18).

HIDPT8

p.f = 217.8 °C

Rendimiento: 96.86%

IR (cm⁻¹): 3421 (O-H), 2944 (C-H), 2860 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1663 (C=O, C-3), 1613 (C=C), 882 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 5.68 (1H, s, H-4), 2.98 (1H, s, C-17-OH), 2.22 (3H, s, CH₃-21), 1.14 (3H, s, CH₃-19), 0.70 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 211.46 (C-20), 199.48 (C-3), 171.07 (C-5), 123.82 (C-4), 89.77 (C-17), 53.25 (C-9), 49.92 (C-14), 47.97 (C-13), 38.50 (C-10), 35.62 (C-1), 35.42 (C-8),

33.83 (C-2), 33.40 (C-16), 32.75 (C-6), 31.94 (C-7), 30.04 (C-12), 27.72 (C-21), 23.81 (C-15), 20.45 (C-11), 17.32 (C-19), 15.27 (C-18).

HIDPT9

p.f = 219.8 °C

Rendimiento: 92.19%

IR (cm⁻¹): 3420 (O-H), 2944 (C-H), 2860 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1664 (C=O, C-3), 1613 (C=C), 882 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 5.69 (1H, s, H-4), 2.88 (1H, s, C-17-OH), 2.23 (3H, s, CH₃-21), 1.15 (3H, s, CH₃-19), 0.71 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 211.47 (C-20), 199.44 (C-3), 170.97 (C-5), 123.87 (C-4), 89.77 (C-17), 53.27 (C-9), 49.94 (C-14), 48.06 (C-13), 38.53 (C-10), 35.66 (C-1), 35.45 (C-8), 33.87 (C-2), 33.46 (C-16), 32.77 (C-6), 31.97 (C-7), 30.04 (C-12), 27.76 (C-21), 23.86 (C-15), 20.47 (C-11), 17.35 (C-19), 15.33 (C-18).

HIDPT10

p.f = 217.8 °C

IR (cm⁻¹): 3420 (O-H), 2945 (C-H), 2859 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1663 (C=O, C-3), 1613 (C=O, C-3), 882 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 5.67 (1H, s, H-4), 2.99 (1H, d, C-17-OH), 2.21 (3H, s, CH₃-21), 1.37 (1H, s, l), 1.13 (3H, s, CH₃-19), 0.69 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3)

δ (ppm): 211.45 (C-20), 199.48 (C-3), 170.08 (C-5), 123.80 (C-4), 89.76 (C-17), 53.24 (C-9), 49.92 (C-14), 47.94 (C-13), 38.49 (C-10), 35.61 (C-1), 35.41 (C-8), 33.82 (C-2), 33.39 (C-16), 32.74 (C-6), 31.93 (C-7), 30.05 (C-12), 27.70 (C-21), 23.79 (C-15), 20.45 (C-11), 17.31 (C-19), 15.26 (C-18).

HIDPT11

p.f = 217.7 °C

Rendimiento: 47.78%

IR (cm^{-1}): 3419 (O-H), 2944 (C-H), 2860 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1663 (C=O, C-3), 1613 (C=C), 882 (CH_3).

RMN de ^1H (CDCl_3)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 5.70 (1H, s, H-4), 2.82 (1H, d, C-17-OH), 2.24 (3H, s, CH_3 -21), 1.69 (1H, s, l), 1.16 (3H, s, CH_3 -19), 0.72 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3)

δ (ppm): 211.50 (C-20), 199.45 (C-3), 170.95 (C-5), 123.91 (C-4), 89.77 (C-17), 53.28 (C-9), 49.94 (C-14), 48.12 (C-13), 38.54 (C-10), 35.67 (C-1), 35.45 (C-8), 33.88 (C-2), 33.49 (C-16), 32.78 (C-6), 31.97 (C-7), 30.03 (C-12), 27.82 (C-21), 23.89 (C-15), 20.48 (C-11), 17.36 (C-19), 15.36 (C-18).

HIDPT12

p.f = 216.6 °C

Rendimiento: 72.75%

IR (cm^{-1}): 3419 (O-H), 2944 (C-H), 2860 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1663 (C=O, C-3), 1613 (C=C), 882 (CH_3).

RMN de ^1H (CDCl_3)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 5.69 (1H, s, H-4), 2.87 (1H, s, C-17-OH), 2.23 (3H, s, CH_3 -21), 1.15 (3H, s, CH_3 -19), 0.72 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3)

δ (ppm): 211.50 (C-20), 199.45 (C-3), 170.95 (C-5), 123.91 (C-4), 89.77 (C-17), 53.28 (C-9), 49.94 (C-14), 48.11 (C-13), 38.54 (C-10), 35.67 (C-1), 35.45 (C-8), 33.88 (C-2), 33.48 (C-16), 32.78 (C-6), 31.97 (C-7), 30.03 (C-12), 27.82 (C-21), 23.89 (C-15), 20.48 (C-11), 17.36 (C-19), 15.36 (C-18).

HIDPT13

p.f = 216.8 °C

Rendimiento: 34.39%

IR (cm^{-1}): 3419 (O-H), 2944 (C-H), 2860 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1663 (C=O, C-3), 1612 (C=C), 883 (CH_3).

RMN de ^1H (CDCl_3)

δ (ppm): 5.70 (1H, s, H-4), 2.78 (1H, s, C-17-OH), 2.25 (3H, s, CH_3 -21), 1.64 (1H, s, l), 1.16 (3H, s, CH_3 -19), 0.73 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3)

δ (ppm): 211.49 (C-20), 199.41 (C-3), 170.89 (C-5), 123.93 (C-4), 89.77 (C-17), 53.29 (C-9), 49.95 (C-14), 48.16 (C-13), 38.55 (C-10), 35.69 (C-1), 35.47 (C-8), 33.90 (C-2), 33.52 (C-16), 32.79 (C-6), 31.99 (C-7), 30.03 (C-12), 27.84 (C-21), 23.91 (C-15), 20.49 (C-11), 17.38 (C-19), 15.38 (C-18).

HIDPT14

p.f = 220.3 °C

Rendimiento: 34.12%

IR (cm⁻¹): 3416 (O-H), 2944 (C-H), 2860 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1663 (C=O, C-3), 1613 (C=C), 886 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 5.69 (1H, s, H-4), 2.92 (1H, s, C-17-OH), 2.23 (3H, s, CH₃-21), 1.15 (3H, s, CH₃-19), 0.71 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 211.50 (C-20), 199.48 (C-3), 171.03 (C-5), 123.90 (C-4), 89.78 (C-17), 53.29 (C-9), 49.95 (C-14), 48.08 (C-13), 38.54 (C-10), 35.68 (C-1), 35.46 (C-8), 33.89 (C-2), 33.49 (C-16), 32.79 (C-6), 31.98 (C-7), 30.04 (C-12), 27.81 (C-21), 23.89 (C-15), 20.48 (C-11), 17.38 (C-19), 15.36 (C-18).

HIDPT15

p.f = 217 °C

Rendimiento: 34.10%

IR (cm⁻¹): 3415 (O-H), 2944 (C-H), 2860 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1663 (C=O, C-3), 1613 (C=C), 886 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 5.69 (1H, s, H-4), 2.87 (1H, s, C-17-OH), 2.23 (3H, s, CH₃-21), 1.15 (3H, s, CH₃-19), 0.72 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 211.48 (C-20), 199.44 (C-3), 170.96 (C-5), 123.88 (C-4), 89.77 (C-17), 53.27 (C-9), 49.94 (C-14), 48.08 (C-13), 38.53 (C-10), 35.66 (C-1), 35.44 (C-8), 33.88 (C-2), 33.47 (C-16), 32.77 (C-6), 31.97 (C-7), 30.03 (C-12), 27.79 (C-21), 23.87 (C-15), 20.47 (C-11), 17.36 (C-19), 15.34 (C-18).

HIDPT16

p.f = 221.9 °C

Rendimiento: 32.42%

IR (cm⁻¹): 3414 (O-H), 2944 (C-H), 2860 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1663 (C=O, C-3), 1613 (C=C), 883 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

δ (ppm): 5.69 (1H, s, H-4), 2.87 (1H, s, C-17-OH), 2.24 (3H, s, CH₃-21), 1.15 (3H, s, CH₃-19), 0.72 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 211.48 (C-20), 199.44 (C-3), 170.96 (C-5), 123.88 (C-4), 89.77 (C-17), 53.27 (C-9), 49.94 (C-14), 48.08 (C-13), 38.53 (C-10), 35.66 (C-1), 35.44 (C-8), 33.88 (C-2), 33.47 (C-16), 32.77 (C-6), 31.97 (C-7), 30.03 (C-12), 27.79 (C-21), 23.87 (C-15), 20.47 (C-11), 17.36 (C-19), 15.34 (C-18).

HIDPT17

p.f = 216.5-217.9 °C

Rendimiento: 34.85%

IR (cm⁻¹): 3415 (O-H), 2944 (C-H), 2860 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1663 (C=O, C-3), 1613 (C=C), 883 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

δ (ppm): 5.71 (1H, s, H-4), 2.75 (1H, s, C-17-OH), 2.25 (3H, s, CH₃-21), 1.16 (3H, s, CH₃-19), 0.74 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 211.54 (C-20), 199.44 (C-3), 170.90 (C-5), 123.94 (C-4), 89.76 (C-17), 53.28 (C-9), 49.94 (C-14), 48.20 (C-13), 38.55 (C-10), 35.69 (C-1), 35.46 (C-8), 33.91 (C-2), 33.52 (C-16), 32.79 (C-6), 31.98 (C-7), 30.01 (C-12), 27.88 (C-21), 23.93 (C-15), 20.48 (C-11), 17.38 (C-19), 15.41 (C-18).

HIDPT18

p.f = 219.2 °C

Rendimiento: 78.94%

IR (cm⁻¹): 3419 (O-H), 2963 (C-H), 2885 (C-H), 1702 (C=O, C-20), 1662 (C=O, C-3), 1612 (C=C), 883 (CH₃).

RMN de ¹H (CDCl₃)

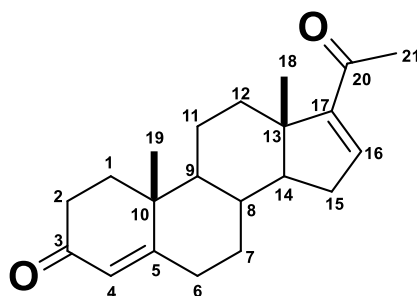
δ (ppm): 5.71 (1H, s, H-4), 2.75 (1H, s, C-17-OH), 2.25 (3H, s, CH₃-21), 1.16 (3H, s, CH₃-19), 0.74 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 211.52 (C-20), 199.47 (C-3), 170.96 (C-5), 123.90 (C-4), 89.77 (C-17), 53.27 (C-9), 49.93 (C-14), 48.12 (C-13), 38.53 (C-10), 35.69 (C-1), 35.46 (C-8), 33.91 (C-2), 33.52 (C-16), 32.79 (C-6), 31.98 (C-7), 30.01 (C-12), 27.88 (C-21), 23.93 (C-15), 20.48 (C-11), 17.38 (C-19), 15.41 (C-18).

13.4 Anexo D: datos espectroscópicos de 16-dehidroprogesterona

Los datos espectroscópicos de la 16-dehidroprogesterona se muestran a continuación: nombrando como letra I a las impurezas presentes.



D16P

p.f = 192.3 °C

IR (cm⁻¹): 2937 (C-H), 2861 (C-H), 1678 (C=O, C-3), 1659 (C=O, C-20), 1615 (C=C), 1586 (C=C), 1372 (=C-H), 1227 (=C-H), 782 (C-C).

RMN de ^1H (CDCl_3) de la muestra 16-dehidroprogesterona

δ (ppm): 6.63 (1H, dd, H-16), 5.65 (1H, s, H-4), 2.18 (3H, s, CH_3 -21), 1.14 (3H, s, CH_3 -19), 0.86 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3) de la muestra 16-dehidroprogesterona

δ (ppm): 199.21 (C-3), 196.45 (C-20), 170.73 (C-5), 154.82 (C-17), 143.98 (C-16), 123.71 (C-4), 55.43 (C-14), 53.85 (C-9), 45.82 (C-13), 38.49 (C-10), 35.41 (C-1), 34.24 (C-12), 33.71 (C-8), 33.59 (C-6), 32.47 (C-2), 31.88 (C-7), 31.58 (C-15), 26.90 (C-21), 20.51 (C-11), 16.97 (C-19), 15.59 (C-18).

D16PT1

p.f = 191.9 °C

Rendimiento: 83.38%

IR (cm^{-1}): 2938 (C-H), 2861 (C-H), 1678 (C=O, C-20), 1658 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1586 (C=C), 1372 (=C-H), 1227 (=C-H), 781 (C-C).

RMN de ^1H (CDCl_3)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 6.61 (1H, dd, H-16), 5.62 (1H, s, H-4), 2.16 (3H, s, CH_3 -21), 1.12 (3H, s, CH_3 -19), 0.84 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3)

δ (ppm): 199.13 (C-3), 196.39 (C-20), 170.70 (C-5), 154.82 (C-17), 143.98 (C-16), 123.71 (C-4), 55.43 (C-14), 53.85 (C-9), 45.82 (C-13), 38.49 (C-10), 35.31 (C-1), 34.24 (C-12), 33.71 (C-8), 33.59 (C-6), 32.47 (C-2), 31.88 (C-7), 31.58 (C-15), 26.90 (C-21), 20.51 (C-11), 16.97 (C-19), 15.59 (C-18).

D16PT2

p.f = 187.7-192 °C

Rendimiento: 35.39%

IR (cm^{-1}): 2937 (C-H), 2861 (C-H), 1679 (C=O, C-20), 1652 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1586 (C=C), 1372 (=C-H), 1227 (=C-H), 781 (C-C).

RMN de ^1H (CDCl_3)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 6.66 (1H, dd, H-16), 5.69 (1H, s, H-4), 2.22 (3H, s, CH_3 -21), 1.17 (3H, s, CH_3 -19), 0.90 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3)

δ (ppm): 199.37 (C-3), 196.58 (C-20), 170.81 (C-5), 155.07 (C-17), 144.02 (C-16), 123.91 (C-4), 55.61 (C-14), 54.03 (C-9), 46.01 (C-13), 38.66 (C-10), 35.49 (C-1), 34.41 (C-12), 33.88 (C-8), 33.79 (C-6), 32.64 (C-2), 32.04 (C-7), 31.75 (C-15), 27.05 (C-21), 20.68 (C-11), 17.14 (C-19), 15.74 (C-18).

D16PT3

p.f = 192.3 °C

Rendimiento: 71.04%

IR (cm^{-1}): 2938 (C-H), 2861 (C-H), 1678 (C=O, C-20), 1652 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1589 (C=C), 1372 (=C-H), 1226 (=C-H), 781 (C-C).

RMN de ^1H (CDCl_3)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 6.67 (1H, dd, H-16), 5.70 (1H, s, H-4), 2.23 (3H, s, CH_3 -21), 1.18 (3H, s, CH_3 -19), 0.91 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3)

δ (ppm): 199.41 (C-3), 196.62 (C-20), 170.83 (C-5), 155.10 (C-17), 144.02 (C-16), 123.95 (C-4), 55.64 (C-14), 54.05 (C-9), 46.03 (C-13), 38.69 (C-10), 35.51 (C-1), 34.43 (C-12), 33.90 (C-8), 33.82 (C-6), 32.66 (C-2), 32.06 (C-7), 31.77 (C-15), 27.05 (C-21), 20.71 (C-11), 17.15 (C-19), 15.76 (C-18).

D16PT4

p.f = 191.2 °C

Rendimiento: 38.19%

IR (cm⁻¹): 2937 (C-H), 2860 (C-H), 1679 (C=O, C-20), 1652 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1586 (C=C), 1372 (=C-H), 1226 (=C-H), 781 (C-C).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 6.65 (1H, dd, H-16), 5.67 (1H, s, H-4), 2.20 (3H, s, CH₃-21), 1.16 (3H, s, CH₃-19), 0.89 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 199.32 (C-3), 196.55 (C-20), 170.81 (C-5), 155.02 (C-17), 144.04 (C-16), 123.88 (C-4), 55.59 (C-14), 54.00 (C-9), 45.98 (C-13), 38.64 (C-10), 35.46 (C-1), 34.38 (C-12), 33.86 (C-8), 33.76 (C-6), 32.62 (C-2), 32.02 (C-7), 31.73 (C-15), 27.03 (C-21), 20.66 (C-11), 17.12 (C-19), 15.72 (C-18).

D16PT5

p.f = 191.3 °C

Rendimiento: 74.48%

IR (cm⁻¹): 2937 (C-H), 2861 (C-H), 1679 (C=O, C-20), 1652 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1586 (C=C), 1372 (=C-H), 1227 (=C-H), 781 (C-C).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 6.66 (1H, dd, H-16), 5.69 (1H, s, H-4), 2.22 (3H, s, CH₃-21), 1.18 (3H, s, CH₃-19), 0.90 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 199.40 (C-3), 196.60 (C-20), 170.83 (C-5), 155.08 (C-17), 144.03 (C-16), 123.92 (C-4), 55.62 (C-14), 54.03 (C-9), 46.02 (C-13), 38.67 (C-10), 35.49 (C-1), 34.42 (C-12), 33.88 (C-8), 33.80 (C-6), 32.65 (C-2), 32.05 (C-7), 31.76 (C-15), 27.05 (C-21), 20.69 (C-11), 17.15 (C-19), 15.75 (C-18).

D16PT6

p.f = 190.6-191.8 °C

Rendimiento: 29.94%

IR (cm⁻¹): 2938 (C-H), 2861 (C-H), 1679 (C=O, C-20), 1652 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1586 (C=C), 1372 (=C-H), 1227 (=C-H), 781 (C-C).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 7.33 (1H, s, I), 6.67 (1H, dd, H-16), 5.71 (1H, s, H-4), 2.24 (3H, s, CH₃-21), 1.19 (3H, s, CH₃-19), 0.92 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 199.42 (C-3), 196.62 (C-20), 170.82 (C-5), 155.13 (C-17), 144.03 (C-16), 123.97 (C-4), 55.66 (C-14), 54.07 (C-9), 46.05 (C-13), 38.70 (C-10), 35.53 (C-1), 34.45 (C-12), 33.84 (C-8), 33.84 (C-6), 32.68 (C-2), 32.08 (C-7), 31.79 (C-15), 27.08 (C-21), 20.72 (C-11), 17.18 (C-19), 15.78 (C-18).

D16PT7

p.f = 191.7 °C

Rendimiento: 55.14%

IR (cm⁻¹): 2938(C-H), 2861 (C-H), 1679 (C=O, C-20), 1652 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1586 (C=C), 1372 (=C-H), 1226 (=C-H), 776 (C-C).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 6.67 (1H, dd, H-16), 5.70 (1H, s, H-4), 2.23 (3H, s, CH₃-21), 1.19 (3H, s, CH₃-19), 0.91 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 199.42 (C-3), 196.63 (C-20), 170.83 (C-5), 155.12 (C-17), 144.03 (C-16), 123.97 (C-4), 55.66 (C-14), 54.06 (C-9), 46.05 (C-13), 38.70 (C-10), 35.53 (C-1),

34.44 (C-12), 33.92 (C-8), 33.84 (C-6), 32.68 (C-2), 32.08 (C-7), 31.79 (C-15), 27.08 (C-21), 20.72 (C-11), 17.18 (C-19), 15.78 (C-18).

D16PT8

p.f = 191.5 °C

Rendimiento: 42.35%

IR (cm⁻¹): 2938 (C-H), 2861 (C-H), 1679 (C=O, C-20), 1659 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1586 (C=C), 1372 (=C-H), 1227 (=C-H), 782 (C-C).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 6.66 (1H, dd, H-16), 5.69 (1H, s, H-4), 2.22 (3H, s, CH₃-21), 1.17 (3H, s, CH₃-19), 0.90 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 199.36 (C-3), 196.58 (C-20), 170.80 (C-5), 155.07 (C-17), 144.02 (C-16), 123.91 (C-4), 55.61 (C-14), 54.02 (C-9), 46.01 (C-13), 38.66 (C-10), 35.49 (C-1), 34.41 (C-12), 33.88 (C-8), 33.79 (C-6), 32.63 (C-2), 32.04 (C-7), 31.75 (C-15), 27.04 (C-21), 20.68 (C-11), 17.14 (C-19), 15.74 (C-18).

D16PT9

p.f = 191.8 °C

Rendimiento: 40.36%

IR (cm⁻¹): 2938 (C-H), 2861 (C-H), 1679 (C=O, C-20), 1659 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1586 (C=C), 1372 (=C-H), 1226 (=C-H), 774 (C-C).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 6.66 (1H, dd, H-16), 5.69 (1H, s, H-4), 2.22 (3H, s, CH₃-21), 1.17 (3H, s, CH₃-19), 0.90 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3)

δ (ppm): 199.36 (C-3), 196.58 (C-20), 170.80 (C-5), 155.07 (C-17), 144.02 (C-16), 123.91 (C-4), 55.61 (C-14), 54.02 (C-9), 46.01 (C-13), 38.66 (C-10), 35.49 (C-1), 34.41 (C-12), 33.88 (C-8), 33.79 (C-6), 32.63 (C-2), 32.04 (C-7), 31.75 (C-15), 27.04 (C-21), 20.68 (C-11), 17.14 (C-19), 15.74 (C-18).

D16PT10

p.f = 191.8-192.2 °C

IR (cm^{-1}): 2937 (C-H), 2861 (C-H), 1679 (C=O, C-20), 1653 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1586 (C=C), 1372 (=C-H), 1227 (=C-H), 781 (C-C).

RMN de ^1H (CDCl_3)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 6.67 (1H, dd, H-16), 5.71 (1H, s, H-4), 5.27 (1H, s, I), 2.24 (3H, s, C-21), 2.14 (3H, s, I), 1.19 (3H, s, CH_3 -19), 0.92 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3)

δ (ppm): 199.42 (C-3), 196.62 (C-20), 170.83 (C-5), 155.13 (C-17), 144.04 (C-16), 123.97 (C-4), 55.66 (C-14), 54.07 (C-9), 46.05 (C-13), 38.70 (C-10), 35.53 (C-1), 34.45 (C-12), 33.84 (C-8), 33.84 (C-6), 32.68 (C-2), 32.08 (C-7), 31.79 (C-15), 27.09 (C-21), 20.73 (C-11), 17.19 (C-19), 15.78 (C-18).

D16PT11

p.f = 191.5 °C

Rendimiento: 61.38%

IR (cm^{-1}): 2938 (C-H), 2861 (C-H), 1678 (C=O, C-20), 1659 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1586 (C=C), 1372 (=C-H), 1227 (=C-H), 781 (C-C).

RMN de ^1H (CDCl_3)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 6.63 (1H, dd, H-16), 5.66 (1H, s, H-4), 2.19 (3H, s, CH_3 -21), 1.15 (3H, s, CH_3 -19), 0.87 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3)

δ (ppm): 199.24 (C-3), 196.49 (C-20), 170.74 (C-5), 154.97 (C-17), 143.98 (C-16), 123.83 (C-4), 55.54 (C-14), 53.96 (C-9), 45.93 (C-13), 38.59 (C-10), 35.42 (C-1), 34.34 (C-12), 33.82 (C-8), 33.71 (C-6), 32.57 (C-2), 31.97 (C-7), 31.68 (C-15), 26.98 (C-21), 20.62 (C-11), 17.07 (C-19), 15.68 (C-18).

D16PT12

p.f = 192 °C

Rendimiento: 57.56%

IR (cm^{-1}): 2937 (C-H), 2861 (C-H), 1679 (C=O, C-20), 1659 (C=O, C-3), 1615 (C=C), 1586 (C=C), 1372 (=C-H), 1227 (=C-H), 781 (C-C).

RMN de ^1H (CDCl_3)

Datos de los protones más relevantes

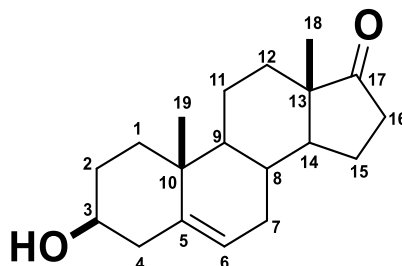
δ (ppm): 6.67 (1H, dd, H-16), 5.70 (1H, s, H-4), 2.23 (3H, s, CH_3 -21), 1.18 (3H, s, CH_3 -19), 0.91 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3)

δ (ppm): 199.43 (C-3), 196.63 (C-20), 170.86 (C-5), 155.08 (C-17), 144.05 (C-16), 123.93 (C-4), 55.62 (C-14), 54.03 (C-9), 46.02 (C-13), 38.68 (C-10), 35.50 (C-1), 34.41 (C-12), 33.89 (C-8), 33.80 (C-6), 32.65 (C-2), 32.06 (C-7), 31.76 (C-15), 27.07 (C-21), 20.69 (C-11), 17.16 (C-19), 15.76 (C-18).

13.5 Anexo E: datos espectroscópicos de la prasterona

Los datos espectroscópicos de la prasterona se muestran a continuación: nombrando con letra I a las impurezas presentes.



PRAS

P.f.= 147.3 °C

IR (cm⁻¹): 3400 (O-H), 2932 (C-H), 2886 (C-H), 1721 (C=O, C-17), 1677 (C=C), 1061 (C-O), 1029 (=C-H).

RMN de ¹H (CDCl₃) de la muestra prasterona

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 5.35 (1H, dd, C-6), 5.27 (1H, s, I), 3.50 (1H, m, H-3), 2.14 (3H, s, I), 1.72 (1H, s, I), 1.00 (3H, s, CH₃-19), 0.85 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃) de la muestra prasterona

δ (ppm): 221.19 (C-17), 141.01 (C-5), 120.88 (C-6), 71.55 (C-3), 51.75 (C-14), 50.22 (C-9), 47.52 (C-13), 42.16 (C-4), 37.16 (C-2), 36.62 (C-10), 35.82 (C-16), 31.53 (C-1), 31.48 (C-8), 31.41 (C-12), 30.75 (C-7), 21.85 (C-15), 20.34 (C-11), 19.39 (C-19), 13.52 (C-18).

PRAST1

p.f = 148.9-150 °C

Rendimiento: 82.5%

IR (cm⁻¹): 3398 (O-H), 2976 (C-H), 2863 (C-H), 1720 (C=O), 1676 (C=C), 1053 (C-O), 1028 (=C-H).

RMN de ^1H (CDCl_3)

Datos de los protones más relevantes.

δ (ppm): 5.35 (1H, dd, H-6), 5.27 (1H, s, I), 2.14 (3H, s, I), 3.50 (1H, m, H-3), 1.01 (3H, s, CH_3 -19), 0.86 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3)

δ (ppm): 221.15 (C-17), 141.01 (C-5), 120.89 (C-6), 71.58 (C-3), 51.76 (C-14), 50.23 (C-9), 47.53 (C-13), 42.19 (C-4), 37.17 (C-2), 36.63 (C-10), 35.82 (C-16), 31.56 (C-1), 31.50 (C-8), 31.43 (C-12), 30.77 (C-7), 21.86 (C-15), 20.35 (C-11), 19.40 (C-19), 13.53 (C-18).

PRAST2

p.f = 145.3 °C

Rendimiento: 27.79%

IR (cm^{-1}): 3399 (O-H), 2976 (C-H), 2863 (C-H), 1719 (C=O), 1676 (C=C), 1053 (C-O), 1028 (=C-H).

RMN de ^1H (CDCl_3)

Datos de los protones más relevantes

δ (ppm): 5.36 (1H, dd, H-6), 5.27 (1H, s, I), 3.50 (1H, m, H-3), 2.14 (3H, s, I), 1.01 (3H, s, CH_3 -19), 0.86 (3H, s, CH_3 -18).

RMN de ^{13}C (CDCl_3)

δ (ppm): 221.15 (C-17), 141.01 (C-5), 120.88 (C-6), 71.57 (C-3), 51.76 (C-14), 50.23 (C-9), 47.53 (C-13), 42.18 (C-4), 37.17 (C-2), 36.62 (C-10), 35.82 (C-16), 31.56 (C-1), 31.49 (C-8), 31.43 (C-12), 30.77 (C-7), 21.86 (C-15), 20.35 (C-11), 19.40 (C-19), 13.53 (C-18).

PRAST3

p.f = 146.3 °C

Rendimiento: 21.10%

IR (cm⁻¹): 3458 (O-H), 2933 (C-H), 2862 (C-H), 1726 (C=O), 1671 (C=C), 1062 (C-O), 1029 (=C-H).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes.

δ (ppm): 5.36 (1H, dd, H-6), 3.51 (1H, m, H-3), 1.01 (3H, s, CH₃-19), 0.86 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 221.07 (C-17), 141.02 (C-5), 120.89 (C-6), 71.58 (C-3), 51.77 (C-14), 50.24 (C-9), 47.53 (C-13), 42.21 (C-4), 37.18 (C-2), 36.63 (C-10), 35.82 (C-16), 31.58 (C-1), 31.51 (C-8), 31.44 (C-12), 30.78 (C-7), 21.87 (C-15), 20.36 (C-11), 19.41 (C-19), 13.54 (C-18).

PRAST4

p.f = 148.6 °C

Rendimiento: 38.29%

IR (cm⁻¹): 3384 (O-H), 29482 (C-H), 2834 (C-H), 1724 (C=O), 1678 (C=C), 1060 (C-O), 1029 (=C-H).

RMN de ¹H (CDCl₃)

Datos de los protones más relevantes.

δ (ppm): 5.35 (1H, dd, H-6), 5.27 (1H, s, I), 3.50 (1H, m, H-3), 2.14 (3H, s, I), 1.01 (3H, s, CH₃-19), 0.86 (3H, s, CH₃-18).

RMN de ¹³C (CDCl₃)

δ (ppm): 221.15 (C-17), 141.01 (C-5), 120.88 (C-6), 71.57 (C-3), 51.76 (C-14), 50.23 (C-9), 47.53 (C-13), 42.18 (C-4), 37.17 (C-2), 36.62 (C-10), 35.82 (C-16), 31.56 (C-1), 31.49 (C-8), 31.43 (C-12), 30.77 (C-7), 21.86 (C-15), 20.35 (C-11), 19.40 (C-19), 13.53 (C-18).